



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES**

CARRERA INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“AISLAMIENTO, SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA DE ALTA
PRODUCCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LA ELABORACIÓN DE CERVEZA
DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”.**

Proyecto de Investigación presentado previo a la obtención del Título de
Ingeniero Agroindustrial

Autor:

Cordonez Suntasig Kleber Trajano

Tutor:

Quím. Jaime Orlando Rojas Molina Mg.

Latacunga - Ecuador

Marzo 2018

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

Yo Cordonez Suntasig Kleber Trajano, declaro ser autor del presente Proyecto de investigación “AISLAMIENTO, SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA DE ALTA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LA ELABORACIÓN DE CERVEZA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”, siendo el Quím. Jaime Orlando Rojas Molina Mg. director 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, es de exclusiva responsabilidad.

Cordonez Suntasig Kleber Trajano

C.I. 050361629-4

CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR

Comparece a la celebración del presente instrumento de cesión no exclusiva de obra, que celebra de una parte **Cordonez Suntasig Kleber Trajano**, identificado con C.C. N° **050361629-4**, de estado civil casado y con domicilio en Pujilí; 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 **EL CESIONARIO** 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: AISLAMIENTO, SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA DE ALTA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LA ELABORACIÓN DE CERVEZA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”, el cual se encuentra elaborado según los requerimientos académicos propios de la Unidad Académica según las características que a continuación se detallan:

Historial académico.- Octubre 2011- Marzo 2012 hasta Octubre 2017-Febrero 2018

Aprobación HCA.- --

Tutor.- Quím. Jaime Orlando Rojas Molina Mg.

Tema: “aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol a partir de la elaboración de cerveza de quinua (*Chenopodium quinoa*)”.

CLÁUSULA SEGUNDA.- EL CESIONARIO 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** autorizan a **EL CESIONARIO** 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**, transfieren definitivamente a **EL CESIONARIO** 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.

f) 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 **EL CESIONARIO** no se halla obligada a reconocer pago alguno en igual sentido **EL CEDENTE** declaran 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 **EL CESIONARIO** 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 a **EL CEDENTE** podrá utilizarla.

CLÁUSULA OCTAVA.- LICENCIA A FAVOR DE TERCEROS.- EL CESIONARIO 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 la cláusula cuarta, constituirá causal de resolución del presente contrato. En consecuencia, la

resolución se producirá de pleno derecho cuando una de las partes comunique, por carta notarial, a la otra que quiere valerse de esta cláusula.

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

CLÁUSULA UNDÉCIMA.- Las controversias que pudieran suscitarse en torno al presente contrato, serán sometidas a mediación, mediante el Centro de Mediación del Consejo de la Judicatura en la ciudad de Latacunga. La resolución adoptada será definitiva e inapelable, así como de obligatorio cumplimiento y ejecución para las partes y, en su caso, para la sociedad.

El costo de tasas judiciales por tal concepto será cubierto por parte del estudiante que lo solicitare.

En señal de conformidad las partes suscriben este documento en dos ejemplares de igual valor y tenor en la ciudad de Latacunga, a los 2, días del mes de Marzo del 2018.

Cordonez Suntasig Kleber Trajano.
EL CEDENTE EL CESIONARIO

Ing. MBA. Cristian Tinajero Jiménez

AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

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

“AISLAMIENTO, SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA DE ALTA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LA ELABORACIÓN DE CERVEZA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”, de Cordonez Suntasig Kleber Trajano, de la carrera 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.

Latacunga, Marzo 2018

Quím. Jaime Orlando Rojas Molina Mg.

C.I: 050264543-5

Tutor

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN

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 postulante Cordonez Suntasig Kleber Trajano con el título de Proyecto de Investigación “AISLAMIENTO, SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA DE ALTA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LA ELABORACIÓN DE CERVEZA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”. Ha 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.

Latacunga, Marzo 2018

Para constancia firman:

Ing. Franklin Antonio Molina Borja Mg.

050182143-3

Lector 1

PhD. Walter Francisco Quezada Moreno.

190017881-3

Lector 2

Ing. Edwin Ramiro Cevallos Carvajal Mg.

050186485-4

Lector 3

AGRADECIMIENTO

Agradezco en primer lugar, a Dios por darme la vida y fortaleza para seguir adelante y no desmayar en los problemas que se presentaban; en segundo lugar a mi madre y a mi abuelita Rosa Calero quienes fueron el pilar fundamental en mi vida ya que con su apoyo incondicional, amor, sacrificio y esfuerzo, gracias por ser mis cimientos y encaminarme por el buen sendero y confiar siempre en mí.

A mi hijo por darme esa energía cuando llegaba cansado con ganas de dejarlo todo, gracias por contagiarme con esa luz ganadora mi enano. A mis amigos por su amistad, consejos, apoyo, ánimo y compañía en los momentos más difíciles de mi vida. Algunas están aquí conmigo y otras en mis recuerdos y en mi corazón, sin importar en donde estén quiero darles las gracias por formar parte de mí, por todo lo que me han brindado y por todas sus bendiciones.

A mi tutor y a los docentes que a lo largo de este camino me brindaron su confianza y sus conocimientos para llegar a culminar mi carrera.

Kleber Trajano Cordonez Suntasig

DEDICATORIA

A Dios por permitirme concluir con éxito mi carrera y llenarme de bendiciones. A mi madre por tantas noches de desvelo y preocupación que pasamos en los momentos más difíciles, a mi abuelita que aunque ya no esté presente yo sé que en algún lugar a donde vaya siempre me va a cuidar, y a mi hijo que es lo más preciado que tengo en mi vida, gracias por su apoyo incondicional y paciencia

Con todo cariño:

Mi madre mi abuelita y a mi hijo.

....Cuanto hubiera querido que esté a mi lado mi madre, pero ya está arriba con el creador, porque cuando una madre se muere, Aumenta en el cielo una estrella....

Kleber Trajano Cordonez Suntasig.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI

FACULTAD ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS
NATURALES.

**TÍTULO: “AISLAMIENTO, SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA DE
ALTA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LA ELABORACIÓN DE
CERVEZA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”**

Autor:

Cordonez Suntasig Kleber Trajano

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo principal aislar, seleccionar e identificar una cepa de alta producción de alcohol a partir de la elaboración de cerveza de quinua (*Chenopodium quinoa*) en un medio de cultivo (Sabouraud dextrosa), en donde se determinó que el sedimento contiene diferente tipo de levadura al término de la fermentación alcohólica de la cerveza. El producto fue envasado en tres diferentes recipientes esterilizados el primero contenía sedimentos de la parte superior, el segundo contenía sedimentos de la parte media y el tercero contenía sedimentos de la parte inferior, donde está la mayor parte de levadura, mediante los ensayos correspondientes al tema se pudo identificar que la cepa alcohólica es de género “*Saccharomyces*” provenientes de la fermentación de la cerveza de quinua. La biomasa aislada, seleccionada e identificada del mejor tratamiento en el análisis de las características organolépticas, variables respuesta que se utilizó (% de alcohol, color, olor, tamaño, y contorno de la cepa). La parte experimental tuvo una duración de 30 días, en el cual se realizó la elaboración de la cerveza, fermentación de la misma y el aislamiento, selección e identificación de la cepa alcohólica. Se utilizó un medio de cultivo general ya que en investigaciones el mejor medio para el desarrollo es el (Sabouraud dextrosa), en el aislamiento primario es donde se seleccionó las 6 mejores colonias, las cuales se volvieron a resembrar para obtener cepas puras, se aplicó a diferentes temperaturas y tiempos de crecimiento, una vez transcurrido el tiempo se seleccionó la de mayor porcentaje de alcohol para la obtención de biomasa de la cepa alcohólica de género *Saccharomyces*. Se determinó que entre la levadura comercial el costo es mayor y la levadura obtenida el costo es menor tanto en la elaboración como en la presentación en el mercado, en cuanto a la fermentación la levadura obtenida es de mayor fermentación y el tiempo de acción se redujo.

Palabras claves: **colonias, cepas, levaduras, fermentación, sedimentos.**

TECHNICAL UNIVERSITY OF COTOPAXI

FACULTY OF AGRICULTURAL SCIENCES AND NATURAL RESOURCES.

THEMEE: ISOLATION, SELECTION AND IDENTIFICATION OF A STRAIN OF HIGH ALCOHOL PRODUCTION FROM THE ELABORATION OF QUINUA BEER

(Chenopodium quinoa).

Author:

Cordonez Suntasig Kleber Trajano

ABSTRACT

This research work had as main objective isolate, select and identify a stump of high alcohol production from the elaboration of quinoa beer (*Chenopodium quinoa*) in a farming medium (sabouraud dextrosa), where it was determined that the sediment contains different type of yeast at the end of the alcoholic fermentation of the beer. The product was packaged in three different sterilized containers, the first contained sediments of the upper part, the second contained sediments of the middle part and the third contained sediments of the lower part, where is the most part of yeast, through the corresponding trials about the topic, it was possible to identify that the alcoholic strain is of genus “Saccharomyces” coming from the fermentation of the quinoa beer. The isolated biomass, selected and identified from the best treatment in the analysis of the organoleptic characteristics, variable responses that were used (% alcohol, color, smell and outline). The experimental part had a duration of 30 days, in which the elaboration of the beer was carried out, fermentation of it and the isolation, selection and identification of the alcoholic strain. A medium of general cultivation was used since in research the best medium for development is the (Sabouraud dextrosa) in the first isolation is where the 6 best colonies were selected, which were reseeded to obtain pure strains, was applied to different temperatures and growth times, once the time elapsed, the one with the highest percentage of alcohol was selected to obtain biomass of the alcoholic strain of the genus Saccharomyces. It was determined that among the commercial yeast the cost is higher and the yeast obtained the cost is lower both in the preparation and in the presentation in the market, as for the fermentation the obtained yeast is of greater fermentation and the time of action was reduced.

Keywords: colonies, strains, yeasts, fermentation and sediments.

ÍNDICE

PORTADA	I
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	I
CONTRATO DE CESIÓN NO EXCLUSIVA DE DERECHOS DE AUTOR.....	II
AVAL DEL TUTOR DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	V
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE TITULACIÓN.....	VI
AGRADECIMIENTO	VII
DEDICATORIA.....	VIII
RESUMEN	IX
ABSTRACT	X
ÍNDICE.....	XI
1. INFORMACIÓN GENERAL	1
2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	2
3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.	3
3.1. Beneficiarios directos	3
3.2. Indirectos.	3
4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN	3
5. OBJETIVOS	4
5.1. Objetivo General:	4
5.2. Objetivos Específicos:	4
6. ACTIVIDADES Y SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS	5
7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA.....	5
7.1. Antecedentes:.....	5
7.2. Fundamentación teórica.....	7
7.2.1. Generalidades de la cerveza	7
7.2.2. Fermentación	8
7.2.3. Sedimentos	9
7.2.4. Aislamiento.....	9
7.2.5. Selección.....	10
7.2.6. Identificación	10
7.3. GENERALIDADES DE LAS LEVADURAS.....	10
7.3.1. Clasificación	11

7.3.2. Temperatura.....	11
7.3.3. Actividad de Agua.....	11
7.3.4. Oxígeno.....	11
7.3.5. pH	12
7.3.6. Nutrición.....	12
7.3.7. Clasificación e Identificación.....	12
8. PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS.....	13
8.1. Hipótesis Nula.....	13
8.2. Hipótesis Alternativa.....	13
9. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL:.....	13
9.1. Metodología.....	13
9.1.1. Métodos utilizados:.....	13
9.1.2. Tipos de investigación:.....	14
9.1.3. Técnicas de investigación:.....	15
9.2. Proceso de obtención de cerveza artesanal de quinua.....	16
9.2.1. Materiales del proceso.....	16
9.2.2. Equipos.....	16
9.2.3. Materia prima, insumos.....	17
9.2.4. Materiales para el proceso de asilamiento selección e identificación.....	17
9.3. Procedimiento para elaborar la cerveza.....	19
9.4. Procedimiento para el aislamiento, selección e identificación de cepas de levaduras.....	28
9.5. TÉCNICA DE VACIADO EN PLACA.....	49
9.6. Diseño experimental.....	50
10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	51
10.1. Análisis estadístico.....	51
10.1.1. Índice en proceso.....	51
11. IMPACTOS.....	76
11.1. Impacto técnico.....	76
11.2. Impactos social.....	76
11.3. Impacto ambiental.....	77
11.4. Impacto económico.....	77
13. PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO.....	77
14. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	83

14.1. CONCLUSIONES.....	83
14.2. RECOMENDACIONES.	84
BIBLIOGRAFÍA.....	85
ANEXOS.....	88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.	5
Tabla 2. Generalidades de la cerveza.	7
Tabla 3. Preparación del medio de cultivo	29
Tabla 4 Técnica de estría cruzada.....	30
Tabla 5 Caracterización de la primera colonia seleccionada.....	31
Tabla 6 Caracterización de la segunda colonia seleccionada	32
Tabla 7 Caracterización de la tercera colonia seleccionada	34
Tabla 8 Caracterización de la cuarta colonia seleccionada	36
Tabla 9 caracterización de la quinta colonia seleccionada.	38
Tabla 10 Caracterización de la sexta colonia seleccionada.	40
Tabla 11. Cepas purificadas.....	43
Tabla 12. Identificación microscópica.....	45
Tabla 13. Preparación del caldo nutritivo (CN)	47
Tabla 14. Factores de estudio	50
Tabla 15. Esquema del ADEVA para la determinación de A * B en el proceso de aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.	50
Tabla 16. Tratamientos en estudio.....	50
Tabla 17. Operacionalización de las variables índice de proceso de aislamiento, selección de identificación de una cepa de alta producción de alcohol.	51
Tabla 18. Análisis de la varianza del color de la cepa.....	52
Tabla 19. Prueba de Tukey al 5% para el análisis de color en el Factor B de las variedades de temperatura.	52
Tabla 20. Comportamiento de los promedios de color de las cepas en la intersección entre el Factor A * B.	53
Tabla 21. Análisis de la varianza del tamaño de la cepa.	54

Tabla 22. Prueba de Tukey al 5% para el análisis del tamaño en el Factor B de las variedades de temperatura.	55
Tabla 23. Comportamiento de los promedios del tamaño de las cepas en la intersección entre el Factor A*b.	56
Tabla 24. Análisis de la varianza de la forma de la cepa.....	58
Tabla 25. Prueba de Tukey al 5% para el análisis de la forma en el Factor A de las variedades de horas.....	59
Tabla 26. Comportamiento de los promedios de la forma de las cepas en la intersección entre el Factor A*B.....	59
Tabla 27. Análisis de la varianza del contorno de la cepa.....	62
Tabla 28. Prueba de Tukey al 5% para el análisis del contorno en el factor A de las variedades de horas.....	62
Tabla 29. Prueba de Tukey al 5% para el análisis del contorno en el Factor B de las variedades de temperaturas.....	63
Tabla 30. Comportamiento de los promedios del contorno de la cepas en la intersección entre el Factor A*B.....	64
Tabla 31. Promedios de los tratamientos en el índice de proceso.	65
Tabla 32. Análisis de la varianza del porcentaje de alcohol de las seis cepas.....	67
Tabla 33. Prueba de Tukey al 5% para el análisis del porcentaje de alcohol en el Factor A de las variedades de horas.	68
Tabla 34. Prueba de Tukey al 5% para el análisis del porcentaje de alcohol en el Factor B de las variedades de temperaturas.	68
Tabla 35. Comportamiento de los promedios del porcentaje de alcohol de las cepas en la intersección entre el Factor A*B.	69
Tabla 36. Análisis de la varianza de crecimiento de UFC/ml. Caldo nutritivo.....	69
Tabla 37. Prueba de Tukey al 5% para el análisis de crecimiento UFC/ml en el Factor B de las variedades de temperaturas.	70
Tabla 38. Comportamiento de los promedios del crecimiento UFC/ml en la intersección entre el Factor A*B.....	71
Tabla 39. Análisis de la varianza de crecimiento de UFC/ml.	73
Tabla 40. Prueba de Tukey al 5% para el análisis del crecimiento UFC/ml en el Factor B de las variedades de temperaturas.	73

Tabla 41. Comportamiento de los promedios del crecimiento UFC/ml en la intersección entre el Factor A*B.....	74
Tabla 42. Depreciación de maquinaria.....	76
Tabla 43. Presupuesto para la elaboración del proyecto.	77
Tabla 44. Análisis económico para el aislamiento, selección e identificación de una cepa alcohólica.....	80
Tabla 45. Otros rubros.....	80
Tabla 46. Costo mano de obra.....	80
Tabla 47. Desgaste de equipo.....	80
Tabla 48. Energía.....	80
Tabla 49. Costo de la cepa.....	81
Tabla 50. Análisis económico para la obtención de biomasa de levadura en caldo sabouraud dextrosa.	81
Tabla 51. Otros rubros.....	81
Tabla 52. Costo mano de obra.....	81
Tabla 53. Desgaste de equipo.....	81
Tabla 54. Energía.....	82
Tabla 55. Costo de biomasa de levadura.....	82
Tabla 56. Comparación de costos.....	82

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de bloques de la elaboración de la cerveza.....	27
--	----

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

Fotografía 1. Caldo nutritivo con las cepas purificadas.	47
Fotografía 2. Fermentación a 27°C.....	48
Fotografía 3. Fermentación a 32°C.....	48
Fotografía 4. Fermentación a 36°C.....	49
Fotografía 5. Germinado del grano a condiciones ambientales.....	92
Fotografía 6. Molido del grano. Fotografía 7. Macerado.	92
Fotografía 8.. Recirculado del grano.....	92
Fotografía 9. Fermentación del mosto.....	93
Fotografía 10. Carbonatación de la cerveza.....	93

Fotografía 11. Embotellado de la cerveza	93
Fotografía 12. Sedimentos de la fermentación alcohólica de la cerveza	93
Fotografía 13. Pesaje del agar sabouraud dextrosa.....	94
Fotografía 14. Celulas Gram, en el microscopio.....	94
Fotografía 15. Aislamiento de cepas no purificadas	94
1 Fotografía 16. Aislamiento de cepas no purificadas 2.....	94
Fotografía 17. Cepas diferentes	95
Fotografía 18. Diferente tipo de cepa.	95
Fotografía 19. Cepa 1.	96
Fotografía 20. Cepa 2.	96
Fotografía 21. Cepa 3.	96
Fotografía 22. Cepa 4.	97
Fotografía 23. Cepa 3.	97
Fotografía 24. Cepa 4.	97
Fotografía 25. Cepas purificadas 1.	98
Fotografía 26. Cepa purificadas 2.....	98
Fotografía 27. Cepas purificadas 4.	98
Fotografía 28. Cepas purificadas 3.	99
Fotografía 29. Cepas purificadas 5.	99
Fotografía 30. Cepas enviada para analisis.	99
Fotografía 31. Cepas 3 enviada para analisis.	100
Fotografía 32. Cepas en caldo nutritivo.....	100
Fotografía 33. Cepas en malta base.	100
Fotografía 34. Cepas en malta base.	100

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Comportamiento de los promedios de color de las cepas en la intersección entre el Factor A * B.	54
Gráfico 2. Comportamiento de los promedios del tamaño de las cepas en la intersección entre el Factor A*B.....	57
Gráfico 3. Comportamiento de los promedios de la forma de las cepas en la intersección entre el Factor A*B.....	61

Gráfico 4. Comportamiento de los promedios del contorno de las cepas en la intersección entre el Factor A*B.....	65
Gráfico 5. Promedios de los tratamientos en el índice de proceso.	66
Gráfico 6. Comportamiento de los promedios del crecimiento de UFC/ml de las cepas de la intersección entre el Factor A*B	71
Gráfico 7. Comportamiento de los promedios del crecimiento de UFC/ml de la cepa en la intersección entre el Factor A*B.	75

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Lugar de ejecución.....	88
Anexo 2. Equipo de trabajo	89
Anexo 3. Ficha técnica del lúpulo utilizado en la elaboración de la cerveza.....	91
Anexo 4. Proceso de elaboración de la cerveza artesanal de quinua.....	92
Anexo 5. Aislamiento de la cepa alcohólica.....	94
Anexo 6. Selección de las cepas alcohólicas.....	96
Anexo 7. Purificación de las cepas aisladas.	98
Anexo 8.. Datos de la varianza respuesta características morfológicas color de la cepa.	101
Anexo 9. Datos de la varianza respuesta características morfológicas tamaño de la cepa....	102
Anexo 10. Datos de la varianza respuesta características morfológicas forma de la cepa....	103
Anexo 11. Datos de la varianza respuesta características morfológicas contorno de la cepa.	104
Anexo 12. Unidades formadoras de colonias en el caldo nutritivo. Cepa 3.....	105
Anexo 13.. Unidades formadoras de colonias de la fermentación de la cerveza. Cepa 3	105
Anexo 14. Porcentaje de alcohol. Cepa 1	106
Anexo 15. Porcentaje de alcohol. Cepa 2.....	106
Anexo 16. Porcentaje de alcohol. Cepa 3.....	107
Anexo 17. Porcentaje de alcohol. Cepa 4.....	107
Anexo 18. Porcentaje de alcohol. Cepa 5.....	108
Anexo 19. Porcentaje de alcohol. Cepa 6.....	108
Anexo 20. Valores designados para la caracterización de las cepas.	109
Anexo 21. Análisis de laboratorio de la cepa	104
Anexo 23. Norma INEN 1673.....	105

1. INFORMACIÓN GENERAL

Título del Proyecto: “AISLAMIENTO, SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA DE ALTA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LA ELABORACIÓN DE CERVEZA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”.

Fecha de inicio: Abril 2017

Fecha de finalización: Marzo 2018

Lugar de ejecución:

Barrio: Salache Bajo

Parroquia: Eloy Alfaro

Cantón: Latacunga

Provincia: Cotopaxi

Institución: Universidad Técnica de Cotopaxi. La parte experimental se realizó en el “CEASA” - Laboratorios de microbiología de la carrera de Ingeniería Agroindustrial. (Anexo 1)

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

Carrera que auspicia: Carrera de Ingeniería Agroindustrial

Proyecto de investigación vinculado: “Industrialización de granos andinos”.

Equipo de Trabajo:

Investigadores:(Anexo 2)

Tutor: Quim. Jaime Orlando Rojas Molina. (Anexo 2.1)

Investigador: Kleber Trajano Cordonez Suntasig (Anexo 2.2)

Área de Conocimiento: Ingeniería, Industria y construcción.

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 y vinagres, yogurt, etc.)

2. JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

En la elaboración de la cerveza artesanal de quinua se realizó en dos etapas fermentativas, la primera se realizó en el transcurso de 15 días los cuales se obtiene una cerveza joven ya que la levadura en el transcurso de este tiempo solo consume el oxígeno contenido en el mosto y es de esta manera que se va multiplicando hasta alcanzar el punto ideal de la primera fermentación, continuando con el proceso ya las levaduras empiezan a digerir los azúcares esto por la falta de oxígeno que no hay en el mosto, y de esta manera la cerveza se empieza a madurar y a obtener las características que se desea, como en la del sabor principalmente, el tiempo que se demoraría son aproximadamente de 15 a 20 días.

El principal microorganismo que realiza este proceso de fermentación es la levadura *Sacharomyces cerevisiae*, siendo la de gran poder fermentativo o alcoholigenas ya que en esta fase se terminan con los azúcares disponibles en el mosto, también en el proceso de fermentación se pueden encontrar especies de pureza fermentativa y de producción media y baja en grados alcohólicos.

Levaduras iniciadoras de la fermentación: son levaduras apiculadas, son de bajo poder fermentativo como lo es la *Kloeckera apiculata*. Levaduras de poder fermentativo medio y alto: son levaduras de más del 5% de alcohol que producen como son *Sacharomyces cerevisiae* var. *Ellipsoideus*, *Saccharomyces pastorianus*. Levaduras con elevado poder fermentativo: que producen más del 5% y pueden llegar hasta 11% de alcohol y son *Saccharomyces bayanus*, *Saccharomyces oviformis*, y *Saccharomyces Ellipsoideus*.

Llegando al final de la fermentación es en donde se puede evidenciar los sedimentos que son levaduras inactivas y que caen junto con sólidos utilizados en la elaboración de la cerveza. De hecho, este sedimento se puede volver a utilizar con las técnicas correctas de almacenamiento, como también se puede volver a cultivar y hacer que crezcan y se multipliquen para ser utilizadas posteriormente en otra cerveza.

Siendo esta la manera de aislar, seleccionar e identificar una cepa con alta capacidad alcohólica para que los procesos de fermentación sean rápidos, de manera que aporten el sabor propio de la materia utilizada en la elaboración de la cerveza artesanal. Y también el de obtener cepas que no se contaminen y la podamos conservar por más tiempo sin que se altere su composición y baje el rendimiento en el momento de fermentar una cerveza.

3. BENEFICIARIOS DEL PROYECTO.

El grupo de beneficiarios de este proyecto, lo conforman las personas que obtendrán algún tipo de beneficio de la investigación realizada. Se puede identificar dos tipos de beneficiarios: Directos e indirectos.

3.1. Beneficiarios directos

Entre los beneficiarios directos podemos mencionar a la UNIVERSIDAD TÉCNICA DE COTOPAXI ya que de esta manera dicha institución facilitara con procesos para la elaboración de proyectos similares en la elaboración de cerveza artesanal. De esta manera podrán utilizar este material como guía de apoyo para sus trabajadores, pasantes como también para otros estudiantes que realicen prácticas en los laboratorios académicos.

Siendo los principales beneficiarios los estudiantes de la carrera de Ingeniería Agroindustrial.

3.2. Beneficiarios indirectos.

Mediante la realización de este asilamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol los beneficiarios indirectos son los productores de cerveza artesanal, que tendrán este material como un respaldo para generar conocimientos e incentivar a una proyección de campo ocupacional.

4. EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Bajo rendimiento en el proceso de fermentación alcohólica, debido a la utilización de levadura comercial S-33, ya que la misma se demora en fermentar de 11 a 15 días, viendo en la investigación es de aislar, seleccionar e identificar cepas de alta producción de alcohol de lavaduras propias de la quinua que mejoren la fermentación y la calidad de la cerveza con levaduras propias, reduciendo el tiempo de fermentación a 6 días en la cual se obtendrá una cerveza joven.

Con el fin que la cerveza artesanal que se realiza en el país tenga características organolépticas propias de la materia prima que se está utilizando, esto para la elaboración de la misma ya que está relacionada con procesos propios de la carrera de ingeniería agroindustrial.

La Universidad Técnica de Cotopaxi cuenta con laboratorios de microbiología, pero en los mismos no se ha realizado este tipo de proyectos que ayuden y mejoren los procesos productivos en la elaboración de productos similares y para que de esta manera cuenten con un protocolo de producción e investigación en los productos que se realizan dentro de la institución.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo General:

Realizar el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol a partir de la elaboración de cerveza de quinua (*Chenopodium quinoa*), en los Laboratorios de microbiología de la Carrera de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Técnica de Cotopaxi.

5.2. Objetivos Específicos:

- Elaborar cerveza artesanal de quinua (*Chenopodium quinoa*), siguiendo los parámetros establecidos en la tesis que se realizó en la Universidad Técnica de Cotopaxi, Industrialización de granos andinos, cerveza artesanal de quinua.
- Aislar una cepa de alta producción de alcohol que realizan el proceso de fermentación de la cerveza artesanal de quinua (*Chenopodium quinoa*).
- Seleccionar la cepa de alta producción de alcohol en función a la fermentación alcohólica de la cerveza artesanal de quinua (*Chenopodium quinoa*).
- Identificar una cepa de alta producción de alcohol que entra en el proceso de fermentación de la cerveza artesanal de quinua (*Chenopodium quinoa*).
- Analizar costos de producción entre la levadura comercial y la levadura obtenida a partir de la elaboración de la cerveza de quinua (*Chenopodium quinoa*).

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

Tabla 1. Sistema de tareas en relación a los objetivos planteados.

SISTEMA DE TAREAS EN RELACIÓN A LOS OBJETIVOS PLANTEADOS			
Objetivo	Actividad	Resultado de la actividad	Métodos de verificación
Elaborar cerveza artesanal de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i>), siguiendo los parámetros establecidos en la tesis que se realizó en la Universidad Técnica de Cotopaxi, Industrialización de granos andinos, cerveza artesanal de quinua "ATY"	Dotación de la materia prima, materiales e insumos necesarios. Elaboración de cerveza artesanal de quinua.	Materias primas, materiales e insumos necesarios listos para ser empleados en el proceso de obtención de la tecnología. Cerveza artesanal de quinua.	Oficios Cotización o proforma Facturas Fotos Muestras del producto
Aislar una cepa de alta producción de alcohol que realizan el proceso de fermentación de la cerveza artesanal de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i>).	Preparación de los agares para cada muestra	Mosto listo para realizar ensayos El material esterilizado.	Fotos Informe de resultados
Seleccionar la cepa de alta producción de alcohol en función a la fermentación alcohólica de la cerveza artesanal de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i>).	De cada muestra se obtendrá cepas de levaduras que fermentan	De cada cepa hay que ir seleccionando las más fuertes	Fotos Informe de resultados
Identificar una cepa de alta producción de alcohol que entra en el proceso de fermentación de la cerveza artesanal de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i>).	La identificación se daría por diferentes métodos.	Se realizara por diferentes pruebas para cada agar puesto en muestra	Informe de resultados Fotos
Analizar costos de producción entre la levadura comercial y la levadura obtenida a partir de la elaboración de la cerveza de quinua (<i>Chenopodium quinoa</i>).	Comparar costos de levadura comercial y la levadura obtenida.	Precio y beneficios de cada levadura para verificar si es factible la elaboración del proyecto	Proformas de la levadura comercial. Precio de producción de la cepa obtenida

Elaborado por: Autor

7. FUNDAMENTACIÓN CIENTÍFICO TÉCNICA

7.1. Antecedentes:

Con respecto al tema de investigación “AISLAMIENTO, SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS (LEVADURAS) UTILIZADOS EN EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE LA CERVEZA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”. Se ha encontrado las siguientes investigaciones.

Sólo 26 % de las levaduras aisladas pertenecieron al género *Saccharomyces* y dentro de éstas se seleccionaron ocho cepas (SR19, SR25, SR26, SR27, OB10, OB11, N42 y N05). La cepa nativa N05 produjo el mayor grado alcohólico, eficiencia de fermentación y conversión azúcar-etanol, comparable con el de la cepa comercial K1. Los valores de pH, ATT, AV y azúcares residuales obtenidos en las microvinificaciones de las ocho cepas evaluadas están dentro de los intervalos normales y dentro de los límites establecidos por los organismos reguladores de la calidad en vinos. La técnica de amplificación mediante PCR del dominio D1/D2 y su secuenciación permitió una identificación confiable de los microorganismos estudiados. Miranda-Castilleja, Dalia E. et al. Con el tema de investigación: Aislamiento, selección e identificación de levaduras *Saccharomyces* spp. nativas de viñedos en Querétaro, México.

De las fermentaciones espontáneas producidas en laboratorio con la uva cosechada, de los tres viñedos se aislaron 198 cepas de levaduras. Las correspondientes al género *Saccharomyces*, de acuerdo con la prueba efectuada en medio lisina (52 equivalente a 26 %) (Mercado et al., 2007). Los porcentajes encontrados en este estudio concuerdan con lo reportado por quienes observaron un mayor porcentaje de cepas no *Saccharomyces* en aislamientos realizados en frutos. Además, *Saccharomyces* predomina principalmente en ambientes de bodega (Jolly et al. 2003).

Los criterios de interés general para seleccionar cepas de levaduras enológicas incluyen buena eficiencia fermentativa, baja producción de SO₂ y H₂S, resistencia al factor killer o bien presencia de éste y tolerancia a niveles altos de etanol y SO₂ (Pretorius, 2000). Durante el proceso de selección deben considerarse las necesidades particulares de la región y, una vez evaluadas las bondades tecnológicas generales, considerar criterios particulares como la adaptación a bajas temperaturas y producción de aromas (Torija et al., 2003), mostos con concentraciones altas de azúcares (Mercado et al., 2007) o requerimientos bajos de nitrógeno asimilables (Manginot et al., 1998).

Para la identificar las levaduras se usó PCR amplificando el dominio D1/D2 del gen que codifica para la subunidad 26S del ARN en las levaduras. Para la extracción de ADN se usó la

técnica con calor y purificación con fenol-cloroformo (Silva et al., 2012). Para la reacción de PCR se usaron los oligonucleótidos universales NL1 (GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG) y NL4 (GGTCCGTGTTTCAAGACGG) con las condiciones: 2 min a 95 °C, 35 ciclos (30 s a 95 °C, 1 min a 56.75° y 1 min a 72 °C) y 10 min a 72 °C (Cano et al., en 2004). Los productos obtenidos fueron enviados a la Unidad Universitaria de Secuenciación Masiva de ADN de la Universidad Nacional Autónoma de México. Los resultados se introdujeron en el banco de datos mediante el programa Blast (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/>), para buscar homología con secuencias de levaduras reportadas". (Guamán y Carbajal, 2009).

7.2. Fundamentación teórica

7.2.1. Generalidades de la cerveza

Tabla 2. Generalidades de la cerveza.

REQUISITO		NTE INEN 2262		LABOLAB	
PARÁMETRO	UNIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	MÉTODO	RESULTADO
		Grado alcohólico	%(v/v)		
Acidez (exp. como ácido láctico)	%(m/m)	-	0.3	INEN 2323	0.43
Carbonatación	Volúmenes de CO2	2,2	3,5	INEN 2324	3.29
Ph (20° C)		3,5	4,8	PEE/LA/10 INEN 2325	4,21
Hierro	(mg/dm ³)	-	0,2	INEN 2326	0.08
Cobre	(mg/dm ³)	-	1,0	INEN 2327	< o= 0.02
Zinc	(mg/dm ³)	-	1,0	INEN 2328	< o= 0.03
Arsénico	(mg/dm ³)	-	0,1	INEN 2329	< o= 0.02
Plomo	(mg/dm ³)	-	0,1	INEN 2330	< o= 0.10
Recuento de mohos	(upm/ml)	-	10	PEEMi/03 INEN 1529-10	< 10
Recuento de levaduras	(upm/ml)	-	10	PEEMi/03 INEN 1529-10	1.2x10 ⁵

Elaborado por: Autor

Los resultados de los análisis físico- químicos de la cerveza artesanal de quinua ATIY, dice que es una bebida alcohólica de 4.33 por lo que cumple la norma, lo que se le ubica dentro del estilo larger (4-5% alcohol). La carbonatación cumple los parámetros permitidos con un 3,29. En cuanto al pH es de 4,21 lo cual está en control a la activación de microorganismos e influye en la acidez de 0.43 la cual es la única que no entra en los parámetros permitidos. El contenido de

metales como hierro, cobre, zinc, arsénico, plomo, son los correctos. Esto se debe a que todo el proceso estuvo con estrictas medidas de higiene, con esto se evitó la contaminación del producto, lo cual indica que está al límite en el recuento de mohos, en cuanto a las levaduras hay un nivel alto por lo que las cervezas artesanales terminan su proceso de fermentación en la botella, ya que esto es la diferencia de una cerveza artesanal de una cerveza que es pasteurizada en la industria que la procesen, son sus sedimentos que quedan aún en la cerveza después de haber realizado el trasiego Según (Hidalgo y Tulcanaza, 2016).

En el análisis organoléptico se tuvo un color amarillo turbio, la razón principal, es que la bebida antes de ser analizada fue agitada, y al tratarse de una cerveza tipo artesanal esta va a tener sedimentos, los cuales se hicieron presentes al momento de evaluar el color. Este tipo de cerveza no se la consume directamente de la botella, se la coloca en un vaso para poder servir y evitar la turbidez de la misma permitiendo de esta manera que los sedimentos se queden al fondo de la botella. Esta es una práctica muy común. De acuerdo con la INEN 2262 vigente las cervezas claras (rubias o rojas) presentar un color < 20 unidades EBC, de acuerdo a los análisis que se realizó en el color del producto obtenido, la cerveza artesanal de quinua es una cerveza clara con un EBC de 8. El olor, el sabor y el aspecto de la bebida son característicos, lo cual permitió deducir que al momento de salir al mercado el consumidor no va a tener rechazo, o una respuesta negativa, ya que está familiarizado con las características y las sensaciones que se experimenta al consumir una cerveza Según (Hidalgo y Tulcanaza, 2016).

7.2.2. Fermentación

La fermentación se lleva a cabo en dos pasos fermentación primaria y fermentación secundaria o maduración. El mosto se somete a temperaturas que van desde los 15 a 22° C, para cervezas ale y para cervezas lager, desde 7 a 15°C, en esta etapa las levaduras se metabolizan los carbohidratos del mosto para la generación de etanol y CO₂ (Linko, 1998).

En el caso de la cerveza artesanal se producen dos fermentaciones la primera en el fermentador Sparkling donde se genera cierta cantidad de alcohol, aproximadamente unos 3 ° GL y la segunda fermentación ocurre dentro de la botella ya que gracias a la adición extra de azúcar se genera más alcohol y gas (Aparicio, 2000).

El proceso de maduración consiste en someter al mosto fermentado a bajas temperaturas que van desde los 4 a 10° C, por un tiempo de 5 a 10 días. La maduración proporciona a la cerveza las características finales de olor, color, sabor y brillantez. Se entiende por poder de fermentación o poder alcoholígeno la capacidad que tienen las levaduras para producir el máximo porcentaje de etanol al fermentar un mosto estéril con contenido de azúcares, igual o superior a 212 g/L de azúcar (12° Bè). La fermentación del mosto conduce a la producción de 8 a 15% (v/v) de etanol, obteniéndose un rendimiento alcohólico de un 1% v/v de alcohol por cada 17 gramos de azúcar fermentado(Hidalgo y Tulcanaza, 2016).

7.2.3. Sedimentos

Las células de levadura, suspendidas en la cerveza fermentada tienden agruparse o flocular y formas masas sólidas, las cuales podrán ir a la superficie de la cerveza o sedimentarse en el recipiente, según sean de floculación de fondo o de superficie. (Santillán et García Garibay, 1998).

7.2.4. Aislamiento

El aislamiento de las especies bacterianas, es decir la separación de unas especies de otras, se logra mediante diferentes técnicas. Por ejemplo, por el método de “siembra por estría cruzada en placa”, las células quedan separadas individualmente, al inocular (al sembrar) un medio sólido con agar, contenido en cajas de Petri; en esta técnica, durante la incubación, las células microbianas individuales al reproducirse rápidamente, en 18 a 24 horas producen masas visibles a simple vista, denominadas colonias.

Cada colonia que se observe diferente, presumiblemente es un cultivo puro de una sola especie de bacterias. Si dos células microbianas procedentes del inóculo original quedan muy cerca una de la otra sobre el medio de agar, las colonias que resultan quedan mezcladas o muy juntas. Posteriormente, transfiriendo una sola colonia aislada a un medio nuevo, se obtiene el desarrollo de un cultivo puro bacteriano. El aislamiento y la obtención de cultivos puros, facilitando de este modo, el estudio, caracterización, aplicación y control de los mismos (Villegas L, 2013)

Para el aislamiento y selección de levaduras se recomienda el uso de medio de cultivo Sabouraud dextrosa es el que presenta mejores características. (Álvarez y Cola, 2014)

7.2.5. Selección

La selección de levaduras se basa en conocer el comportamiento de las mismas, evaluar si se ajustan a las necesidades tecnológicas, y brindar un proceso predecible y seguro. La selección de una cepa de levadura asegura el mantenimiento de las propiedades sensoriales típicas. Una característica importante de la selección de levaduras es que luego de fermentar las células se depositen en el fondo del recipiente de manera de facilitar las posteriores tareas de separación. En este trabajo se observó que el 100 % de las levaduras en estudio presentaron sedimento a partir de las 24 hs de activación. (Villegas L., 2013).

7.2.6. Identificación

Las cepas seleccionadas deberían ser sometidas a pruebas moleculares para confirmar los ensayos de identificación. También sería adecuado conocer su comportamiento en fermentaciones a mayor escala y evaluar las características tecnológicas y cualitativas durante este proceso y una vez finalizado el mismo. Para fines comerciales, además de lo citado anteriormente, es importante que se estudiaran en procesos de multiplicación masiva y desecación, ya que este proceso es un punto crítico para la selección de levaduras. El uso de métodos de la biología molecular basados en análisis genéticos y de la taxonomía molecular permite la rápida y precisa identificación a nivel de especies o cepas, pero requiere instrumental específico, costoso y personal altamente especializado. Como se ha explicado anteriormente, aunque la especie principal y responsable de la fermentación alcohólica es *Saccharomyces cerevisiae*, en las fermentaciones espontáneas, también se encuentran otras especies, sobre todo en las primeras fases del proceso. Para la identificación de cepas de *Saccharomyces* se utilizan técnicas de Biología Molecular, concretamente, el análisis de los perfiles de restricción del ADN mitocondrial (RFLPs), (Villegas L., 2013).

7.3. Generalidades de las levaduras

Las levaduras son organismos unicelulares importantes en el sector biotecnológico e industrial. Son esenciales en la producción de algunos alimentos y bebidas, tales como pan, cerveza, vino

y sidra. También pueden estar involucradas en la degradación de algunos alimentos, por procesos de fermentación o contaminación durante la poscosecha de frutas (Senses-Ergul, 2005).

7.3.1. Clasificación

Las levaduras son microorganismos que se encuentran clasificados dentro de los Ascomicetos y Basidiomicetos, no obstante las levaduras no forman un grupo muy definido, ya que no son una entidad taxonómica natural que guarde uniformidad morfológica (Kreger, 1984, citado por Sarmiento 2003).

7.3.2. Temperatura

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 (Buck, 1991, citado por Villamil 1999).

De modo general las levaduras no son microorganismos termofílicos, sin embargo la termodestrucción comienza desde los 52°C, siendo las células en la fase exponencial más sensibles que las células en la fase estacionaria (Parry, 1986, citado por Sarmiento 2003).

7.3.3. Actividad de Agua

La mayor parte de las levaduras comúnmente encontradas crece mejor en medios que disponen de gran cantidad de agua. Algunas levaduras son osmotolerantes y soportan una actividad de agua (A_w) del orden de 0.65 (*Zygosacharomyces rouxii*), valor al que ningún otro microorganismo puede desarrollarse (Villamil, 1999).

Muchas levaduras crecen en presencia de concentraciones de solutos, como azúcares o sal, superiores a aquellas en que crecen la mayoría de las bacterias. Los valores de A_w pueden variar cuando cambian las propiedades nutritivas del sustrato, pH, temperatura, disponibilidad de oxígeno y presencia de sustancias inhibitoras (Villamil, 2003).

7.3.4. 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 éste disminuye, las levaduras cambian a metabolismo anaerobio o fermentativo, que se traduce en la formación de menor cantidad de biomasa y producción de alcohol (Brock, 1997, citado por Sarmiento 2003).

7.3.5. 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, los valores del pH intracelular varía entre 5.8 a 6.8 (Jagnow, 1991, citado por Villamil 1999).

7.3.6. Nutrición

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, 1999).

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, 1999).

7.3.7. Clasificación e Identificación

Varias levaduras tienen la habilidad de fermentar azúcares y producir dióxido de carbono tales como *Kluyveromyces*, *Saccharomyces* y *Zygosaccharomyces*, que fermentan la glucosa principalmente, mientras que otras levaduras como *Rhodosporifium* y *Sterigmatomyces* no fermentan ningún azúcar perceptiblemente (Kurtzman, 1999).

8. PREGUNTAS CIENTÍFICAS O HIPÓTESIS

8.1. Hipótesis Nula

HO: El tiempo y la temperatura en el crecimiento de la levadura NO influyen significativamente en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol para la elaboración de cerveza artesanal y el aislamiento de la levadura.

8.2. Hipótesis Alternativa

H1: El tiempo y la temperatura en el crecimiento de la levadura SI influyen significativamente en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol para la elaboración de cerveza artesanal y el aislamiento de la levadura.

9. METODOLOGÍAS Y DISEÑO EXPERIMENTAL:

9.1. Metodología

Ubicación de la investigación

La investigación se llevó a cabo en la provincia de Cotopaxi, Cantón Latacunga, Parroquia Eloy Alfaro, en la Universidad Técnica de Cotopaxi en la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales en el Laboratorio académico de Investigación de Industria de Frutas y Hortalizas y en el Laboratorio de Microbiología de la carrera de Ingeniería agroindustrial.

9.1.1. Métodos utilizados:

a) Método deductivo:

El método deductivo se empleó en la recopilación de toda información necesaria para el marco teórico, antecedentes, etc. La cual nos ayudó a despejar dudas y saber que la investigación planteada si llegaría a tener frutos.

b) Método estadístico:

Se utilizó en el desarrollo del diseño experimental y de esta manera obtener resultados confiables para saber cuál fue el mejor tratamiento.

9.1.2. Tipos de investigación:**a) Investigación exploratoria.**

La investigación exploratoria es aquella que se realiza sobre un tema no muy conocido, el cual no ha sido muy investigado por lo que sus resultados constituyen una visión aproximada de dicho tema. Este tipo de investigación se utilizó desde el momento en el que se planteó el tema, el problema y variables, buscando, e investigando conceptos, criterios en manuales, y alternativas que permitan el desarrollo del tema a investigar.

b) Investigación analítica.

Se realizó al momento de realizar los diferentes análisis microbiológicos, al igual que la selección del mejor tratamiento por el porcentaje de alcohol.

c) Investigación descriptiva.

La investigación descriptiva se basa en la descripción exacta de todas las actividades, objetos, procesos, y personas involucradas en el proyecto. Este tipo de proyecto describe de manera minuciosa y concreta el proceso que se realizó para el aislamiento, selección e identificación de cepas de producción de alcohol.

d) Investigación experimental.

La investigación experimental consiste en la manipulación de una variable experimental no comprobada, en condiciones rigurosamente controladas, con el fin de describir de qué modo o por que causa se produce una situación o acontecimiento en particular. Este tipo de investigación se utilizó para determinar las características

morfológicas de las cepas alcohólicas aisladas, seleccionadas e identificadas. También se aplicara un chi cuadrado.

e) **Investigación de laboratorio.**

Dado que el objetivo es tener una cepa alcohólica, se realizó la primera fase en un ambiente controlado que es el laboratorio académico de la carrera de ingeniera agroindustrial, con relación a este se creó un ambiente esterilizado para la elaboración de la cerveza artesanal de quinua esto nos ayuda a obtener mayores y mejores resultados en la reproducción de la cerveza, es de tipo experimental y emplea metodología cuantitativa, en cuanto a la segunda fase se trabajara en los laboratorios de microbiología de la carrera mencionada con el mismo afán de tener un ambiente estéril para que no se contamine el aislamiento selección e identificación de las cepas alcohólicas y de esta forma tener buenos resultados.

f) **Investigación bibliográfica.**

Esta investigación fue de mucha importancia porque constituyó el fundamento teórico y los antecedentes de investigaciones referentes al aislamiento, selección e identificación de la cepa alcohólica.

9.1.3. Técnicas de investigación:

a) **Observación:**

La técnica de la observación es una técnica de investigación que consiste en observar personas, fenómeno, hechos, casos, objetivos, acciones, situaciones, etc. con el fin de obtener información que requiere el proyecto. Es por lo cual se relaciona el investigador y el hecho del proyecto a investigar.

Esta técnica se utilizara con la finalidad de identificar las bacterias Gram + Y Gram- mediante la tinción del Gram, además de observar el gran número de colonias en el

aislamiento y posteriormente en el comportamiento de ensayos de fermentación de cerveza en el laboratorio en mínimas cantidades.

9.2. Proceso de obtención de cerveza artesanal de quinua.

9.2.1. Materiales del proceso

Para elaborar el producto:

- Termómetro
- Botellas para cerveza 330 ml
- Tapas de botella
- Mesa de trabajo
- Tela lienzo

Materiales de investigación:

- Lápices
- Libreta de apuntes
- Memoria flash

9.2.2. Equipos

- Balanza
- Cocina industrial
- Molino
- Enfriador de placas
- Refrigerador
- Ollas de acero inoxidable
- Chapadora
- Refractómetro doble lectura

9.2.3. Materia prima, insumos.

- Quinoa INIAP TUNKAHUAN
- Lúpulo cascada
- Clarificante
- Azúcar

9.2.4. Materiales para el proceso de asilamiento selección e identificación.**Materiales de laboratorio**

- Tubos de ensayo de 10 ml.
- Gradillas.
- Pipetas de 1, y 10 ml.
- Cajas Petri de vidrio
- Mechero de bunsen
- Asas
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Goteros

Materiales de oficina

- Computadora
- Hojas de papel
- Anillados
- Impresora
- Marcadores

Equipos

- Autoclave
- Balanza

- Centrifuga
- Cuenta colonias
- Destilador de agua
- Incubadora
- Microscopio óptico
- Plancha de calentamiento

Reactivos.

- Agar Sabouraud dextrosa
- Agua destilada
- Agua de peptona
- Azul de metileno
- Cristal de violeta
- Dextrosa
- Peptona micológica
- Lugol
- Safranina
- Fenolftaleína

Implementos

- Cofia
- Mascarilla
- Mandil

9.3. Procedimiento para elaborar la cerveza

- **Recepción de la materia prima.**

Se trabajó con una variedad mejorada de quinua, INIAP TUNKAHUAN, por su bajo contenido de saponina, proveniente del proyecto Sistemas de Producción de Granos Andinos de las Comunidades de la Provincia de Cotopaxi, la misma que debió cumplir con los requerimientos de la norma INEN 1673.

Se inició con el pesado de la materia prima, en este caso se va a trabajar con 5000 g de grano. Se separó las impurezas tales como palos, restos de hojas y otros.

Se realizó un ligero lavado del grano para remover la saponina que posee el grano. A través de este lavado también se logró remover las bolsas en las que se encuentran algunos de los granos, palos y hojas de la planta de quinua y otras impurezas (insectos muertos, restos de plumas de aves).

El nivel de espuma que se alcanzó en el lavado fue de 0,7 mm, esta actividad duro un periodo de tiempo de 20 minutos. En este caso se obtuvo un total de 8,8%. La humedad se la midió antes y después del lavado, cuando el grano estaba seco. Se encontraba en un rango de 11,5%.

Las características organolépticas del grano: color, sabor y olor fueron propias, lo cual nos indica que el grano está libre de pesticidas y otros químicos que puedan afectar al proceso de elaboración del producto.

- **Recepción de insumos**

El lúpulo empleado corresponde a una variedad cascada con un contenido de 6-8% de Alfa-Ácidos, beta ácidos 5-5,5%, este producto se conserva en congelación. El clarificante que se adquirió fue una variedad disponible en el mercado.

Se adquirió las unidades mininas de venta: lúpulo 18 g y de clarificante 10 g. El proceso de obtención de cerveza Artesanal de quinua, estuvo basado en mantener las PCH (Practicas Correctas de Higiene), para garantizar la calidad del producto obtenido”.

- **Malteado.**

Un grano malteado es aquel que ha cumplido las 4 fases de este proceso como son: remojo, germinado, secado- tostado y desgerminado.

El objetivo de maltear un grano, es que las reservas nutritivas que posee dentro de él, se transformen en sustratos idóneos necesarios para la maceración, y de esta manera aprovecharemos los azúcares que contiene el grano andino.

- **Remojo.**

En la primera fase el grano se adecuó con el fin de desprender la saponina que posee ya que esta es la principal causa de amargor en el grano. Para el remojo se tomó como parámetro un tiempo de 8 horas, por el tamaño del grano de acuerdo con los resultados de los análisis de, gana una humedad ideal para la germinación (35-40%) (Valenzuela, 2007).

Se estableció una relación de 1:1 para el remojo de la quinua es decir por cada kilogramo se empleara 1 litro de agua en condiciones normales por un tiempo de 8 horas y de esta manera conseguiremos una humedad adecuada, el remojo fue realizado en baldes agregando 5 kilos de quinua, con 5 litros de agua.

- **Germinación**

Cumplidas las 8 horas de remojo del grano, se retiró de los recipientes y se colocó en unas bandejas para el germinado, las mismas que previamente fueron forradas con fundas plásticas para controlar un poco las condiciones de germinado pues se limitó la cantidad de aire para el número de semillas.

Las semillas se las dejó por un tiempo de dos días, y fueron mecidas al finalizar el primer día, esto permite eliminar el CO₂ que se produjo como resultado de la respiración de la quinua, la temperatura se manejó en un invernadero apto para el germinado de semillas, se puede germinar en máquinas de germinación, y evitar un excesivo crecimiento de raicillas.

Para la germinación también se utilizó agua destilada con el fin de humedecer el grano y no permitir que se seque o se pueda dañar el grano de esta manera pueda ir desarrollando la germinación, un exceso exagerado en el hidratado del grano empezar a pudrir el grano, este proceso se realizó tres veces al día. Es importante realizar este proceso con agua destilada ya que si utilizamos agua del grifo, esta puede contaminar el grano.

En este tiempo de germinación la cantidad de azúcares simples que son importantes para la maceración llegan al porcentaje adecuado. Se controló el porcentaje de germinación y el porcentaje de crecimiento para establecer una relación directamente proporcional.

- **Secado y tostado del grano**

Se considera un punto de gran importancia en el malteado ya que las enzimas que posee el grano son vulnerables al calor, por lo cual las temperaturas se controlaron de manera cuidadosa.

Primero se inicia con una fase de 50°C, el grano alcanza una humedad de 17% en este punto las enzimas se estabilizan pues llegan a su “Punto de ruptura” de acuerdo a (Hornsey, 1999). Luego se eleva la temperatura a 80°C, hasta alcanzar una humedad de 5-8%. El grano en este punto disminuye su peso en este caso.

Se realizó a la primera temperatura para tener una malta base la cual nos permite tener un grano con enzimas que nos ayuden en el proceso de fermentación, en cuanto a la segunda temperatura que se sometió el grano es para tener una malta especial la cual ya nos da el color característico de una cerveza. Aquí se disminuye su peso y también los enzimas en cuanto a la primera temperatura de secado.

Una vez terminado el secado se deja enfriar el grano para facilitar el rompimiento de la raíz. El grano tostado se somete a fricción, con lo que se logra romper la raíz que se encuentra quebradiza.

- **Molienda**

La molienda del grano se la realiza para conseguir la presencia de la mayor cantidad de azúcares presentes en el mosto.

Si se desea trabajar con grano triturado, se debe emplear cascara de arroz que nos ayude como filtro natural que vaya atrapando las partículas que quedan suspensas que puede ser del mismo grano, esto por el tamaño del grano.

- **Macerado**

Se trabajó con agua clorada: para este caso se deja un día antes de trabajar con ella en un lugar abierto, de esta manera el cloro se evapora.

La malta dispone de diferentes enzimas como las proteasas, las alfa amilasas y las betas amilasas las mismas que cumplen una función dentro de la maceración pues dependen directamente de la temperatura del agua. Las proteasas convierten las proteínas macro moleculares en amino ácidos micro moleculares.

Los aminoácidos (50-55°C) son el alimento de la levadura para hacer rápida y eficiente la fermentación. Además, no se requiere muchas proteínas macro moleculares ya que estas causan una elevada turbidez en la bebida. La beta amilasa (62-64°C) es la enzima más importante porque convierte el almidón de la malta en maltosa o azúcar fermentable este se convertirá en alcohol que es el alma de la cerveza. La alfa amilasa (70-72°C) también convierte el almidón en azúcares no fermentables, las dextrinas. (Villegas, 2003).

Se mezcló la malta molturada con agua a 64°C grados permitiendo un buen desarrollo de las enzimas primordiales, la cantidad de azúcar que se formó fue excelente el resultante tenía un sabor muy dulce, se dejó reposar durante una hora, evitando cualquier pérdida de temperatura, ya que es ahí en donde existe un buen desarrollo de las betas amilasas. Con la malta de quinua se trabaja en una relación 1:3 con agua para el macerado.

- **Recirculado y lavado del grano.**

Es la separación del líquido resultante de la maceración, llamado mosto que contiene los azúcares de la malta disueltos en él, y los restos como las cáscaras y fibras. Una vez que el 85% del mosto haya salido, se añade agua a 75°C aproximadamente el otro 50%. Este paso se realiza para lavar hasta el último vestigio de azúcar sobrante en los granos y cáscaras.

Se emplea agua a 75°C, para desactivar la beta amilasa, por las estructuras moleculares de los azúcares, nos podría reconvertir dextrinas en alcoholes, lo que queremos evitar, este aumento de temperatura nos da como resultado una buena viscosidad que sirve para que fluya mejor el mosto en la filtración (Villegas, 2003),.

- **Lupulado**

Una vez macerado el mosto se sometió a temperaturas de hervor, para añadir el lúpulo en una relación de 18g en 20 litros de mosto, este proceso se distribuye en tres fases.

El mosto ha de cocerse aproximadamente una hora, la cocción se realiza por diversos motivos. Los principales son: para su esterilización, para coagular las proteínas y poder eliminarlas posteriormente y para obtener el amargor del lúpulo. En el hervor se produce una pérdida del volumen del mosto en un 9%.

El lúpulo enriquece al mosto al proporcionarle características notables de amargor y aroma a la cerveza. Si se añade al principio de la cocción dará sólo amargor porque los aromas se volatilizarán con el transcurso de la cocción. Si se añade al final sólo dará aroma y no amargor porque para obtener este se necesita que se isomericen los ácidos alfa del lúpulo mediante cocción prolongada.

El amargor es una característica que posee la cerveza la cual se forma en gran medida a un grupo de compuestos llamados iso- alfa-ácidos provenientes del lúpulo (Baxter y Hughes, 2001).

El amargor tiene una medida internacional los IBU (International Bitterness Units) en Estados Unidos o EBU (European Bitterness Units) en Europa, permite calcular la cantidad de alfa-

ácidos extraídos del lúpulo y convertidos en sustancias amargas solubles durante la ebullición del mosto dentro del estanque de mejor cocción (Swistowicz, 1977). Un EBU es igual a un miligramo de alfa-ácido por cada litro de cerveza y un IBU se expresa en onzas por galón.

Se empleó lúpulo Cascada, que da excelentes en el amargor y aroma a la cerveza. Se realizó una primera adición de lúpulo de 6 g, al inicio de la cocción para obtener el amargor fue añadido de 15 minutos y 1 minuto del final de la cocción. Se obtuvo una cerveza con 10 IBU con una buena densidad 1.015.

- **Clarificado**

Luego de hervir se debe bajar la temperatura. Mientras más rápido se lo hace el sabor de la cerveza es más agradable, se baja a una temperatura dependiendo el tipo de levadura que se va a usar. Para enfriar se puede emplear intercambiadores de calor. Se dejó precipitar las proteínas coaguladas y los restos de lúpulo.

Se empleó un intercambio de temperatura para bajar a 27°C y al mismo tiempo se realizó un filtrado, en donde se separó los restos de lúpulo y proteína. Se colocó el clarificante dependiendo de la ficha técnica en este caso se utilizó 2g por cada 20 litros de mosto, el cual ayuda a la coagulación de proteínas, esta operación se la llevo a cabo en los recipientes en donde se coloca el mosto para que se realice la inoculación.

- **Inoculado**

La levadura fermenta el mosto consumiendo el azúcar y produciendo alcohol y dióxido de carbono. El control de temperaturas es esencial para conseguir cervezas de calidad.

Se realizó un fermentado natural, sin levaduras adicionadas.

- **Fermentado**

La fermentación se divide en dos fases principales, en la primera la levadura consume únicamente el oxígeno contenido en el mosto para multiplicarse, y en la segunda a falta de

oxígeno, empieza a consumir los azúcares. La situación ideal es disponer de un mosto muy oxigenado para que se reproduzca y multiplique la levadura lo máximo posible.

La fermentación se lleva a cabo en dos etapas:

- ✓ La primera fermentación se lleva a cabo en el transcurso de 15 días en donde se obtiene una cerveza joven.
- ✓ La fermentación secundaria, es la encargada de madurar la cerveza y asentar su sabor, esta se realiza en un periodo de 15 días al interior de la botella.

- **Trasvase**

Consiste en separar el líquido de los sedimentos formados por la fermentación. Una vez fermentado el mosto. Contiene todavía una serie de subproductos que provienen de la fermentación.

La cerveza se filtra para eliminar la levadura que queda en suspensión y las proteínas que se han coagulado. Cuanto más largo haya sido el período de almacenamiento menos materia habrá suspendida y más fácil será la filtración.

- **Embotellado**

Se realiza en botellas de vidrio oscuras de 330 ml. Las botellas deben ser oscuras, porque hay compuestos de la cerveza que son fotosensibles. En la cerveza artesanal la fermentación termina en la botella por lo cual antes de realizar el embotellado se colocó azúcar en los envases.

La glucosa ayuda a producir moléculas de CO₂. Es importante conocer que cantidad de CO₂ se produce en relación a la cantidad de glucosa, pero se debe tener en cuenta que no toda la glucosa se transforma en etanol y CO₂ hay un porcentaje que se convierte en biomasa (Valenzuela, 2007). En sus análisis empíricos llegó a la conclusión que por cada 2,16g de glucosa se va a producir 1g de CO₂ (Mesones, 2000). Una vez terminado se tapan las botellas para su venta. Se lo deja reposar por 15 días, con el fin de que cumpla el ciclo de maduración.

Se colocó 6 gr por litro una cantidad de azúcar que nos van ayudar a llegar a una correcta carbonatación la cual debió encontrarse disuelta, por dos motivos para que puedan ser

consumidas por las levaduras, y para garantizar que esté libre de microorganismos, facilitando la dosificación equitativa en todas las botellas.

- **Etiquetado**

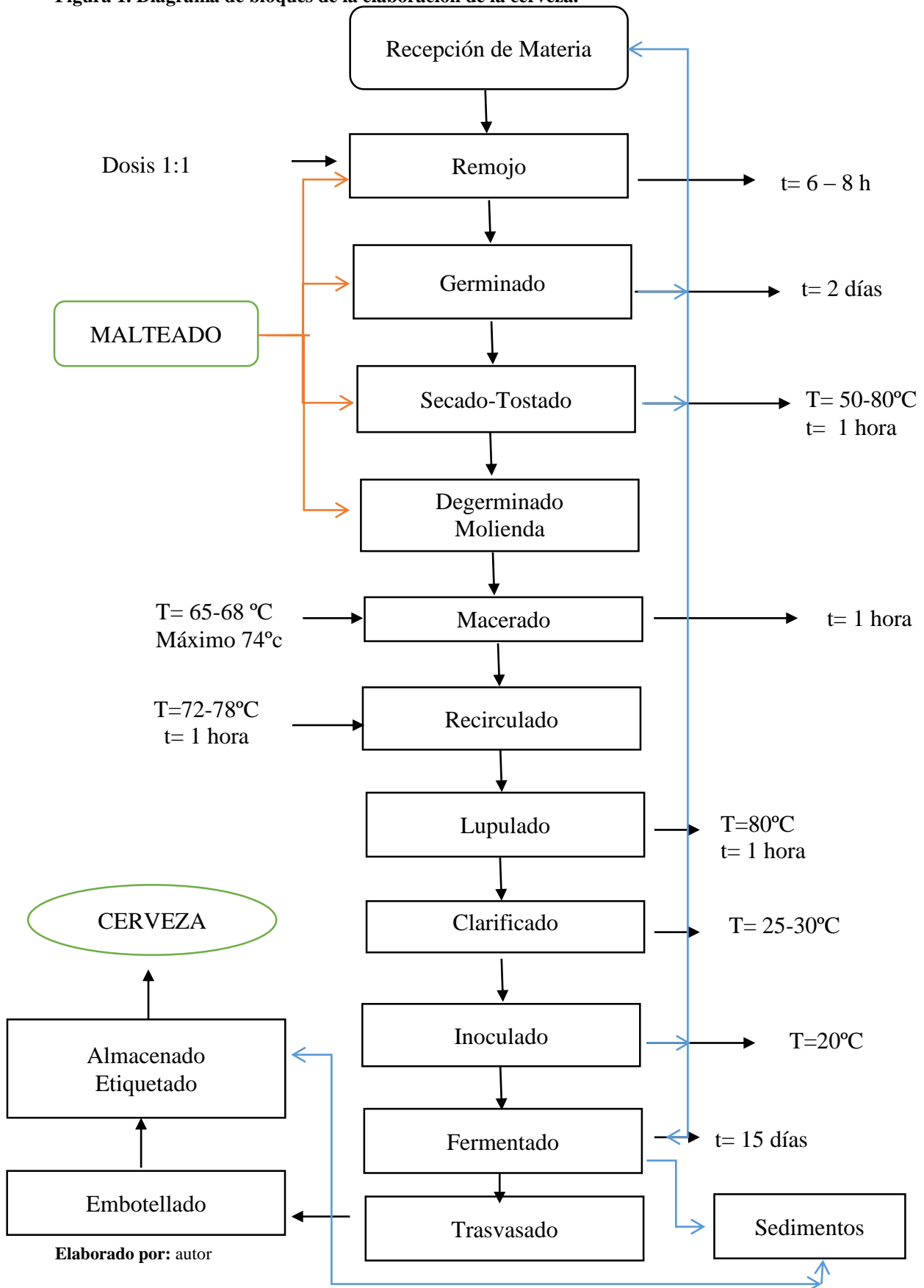
Se colocó las etiquetas luego del envasado.

- **Almacenado**

Las botellas se las almacena a una temperatura de 4°C para que las levaduras solo consuman el azúcar y se forme CO₂, al final de este proceso los sedimentos caen al fondo de la botella y las levaduras están inactivas.

DIAGRAMA DE BLOQUES DE LA ELABORACIÓN DE LA CERVEZA

Figura 1. Diagrama de bloques de la elaboración de la cerveza.



9.4. Procedimiento para el aislamiento, selección e identificación de cepas de levaduras.

Recolección y transporte de la muestra

Las muestras son colocadas en botellas esterilizadas y desinfectadas para que los sedimentos no se contaminen, usando agua clorada y alcohol antiséptico en todo momento del trasiego de la cerveza, se rotulo con la fecha y hora del envasado. Las muestras de sedimentos, se obtuvo de la fermentación alcohólica, se bajó a temperatura de refrigeración para detener la fermentación, también hay que tomar en cuenta que los sedimentos no se deben pasteurizar y peor congelar porque con estos pasos estamos eliminando levaduras que entraran en acción en el aislamiento.

Homogenización de los sedimentos:

Los sedimentos se homogenizaran en la centrifugadora por el lapso de 5 minutos, al terminar el tiempo seguir manteniendo la cadena de refrigeración a una temperatura de 4 °C.

Propagación de células de levadura:

Un banco de diluciones permitió un doble objetivo, el aislamiento de colonias y el recuento de los microorganismos que tienen el cultivo inicial. Se trabajó con cinco tubos de ensayo con suero fisiológico estéril, se colocó en los tubos de ensayo 9 ml cada uno, sobre una gradilla. Mediante una pipeta estéril se tomó 1 ml de cultivo mixto y se lo depositó en el primer tubo de ensayo. Agitar hasta conseguir una suspensión homogénea. Luego se tomó otra pipeta estéril y de este primer tubo transferir 1 ml al segundo tubo, agitar y repetir la operación transfiriendo 1 ml del segundo al tercer tubo, hasta el quinto tubo de ensayo.

Para realizar el aislamiento se tomó de los tubos de ensayo con una dilución 10^{-3} ya que con esta se obtuvo mejores resultados para el recuento de las cepas de levadura.

Aislamiento de levaduras

El aislamiento consiste en la extracción de los microorganismos obtenidos a partir de los sedimentos de la fermentación de cerveza artesanal, utilizando un medio de cultivo (Sabouraud Dextrosa) mediante la técnica de estría cruzada en cajas Petri e incubando a una temperatura de 36°C y un tiempo de 48 horas.

Preparación del medio de cultivo.

Tabla 3. Preparación del medio de cultivo

Medio de cultivo Sabouraud	
Dextrosa	
Agua destilada	1L
Agar	62 g
Peptona micológica	10 g
Dextrosa	40 g

Elaborado por: Autor

El agar SDA (glucosado de Sabouraud), es un medio de cultivo para todo tipo de microorganismos entre los cuales esta los hongos y las levaduras, este medio contiene peptonas y una elevada concentración de glucosa para favorecer el crecimiento y desarrollo de levaduras.

Medio SDA (Sabouroad Dextrose Agar)

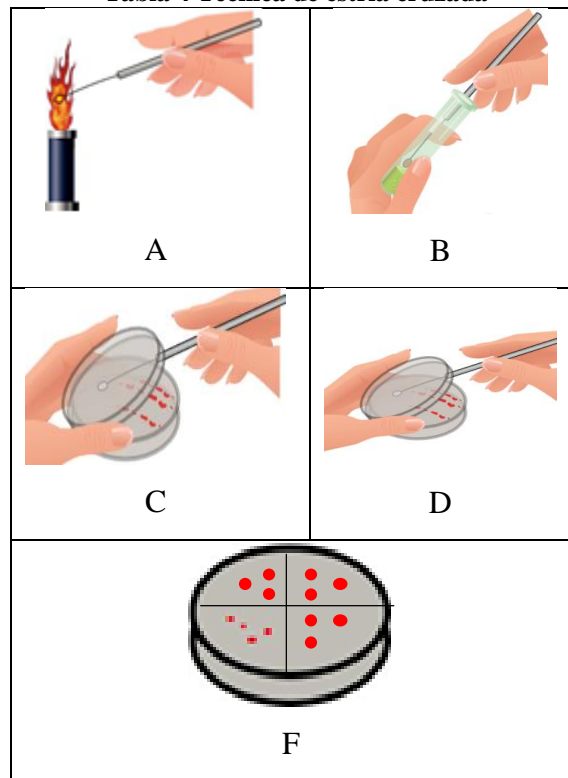
- Añadir 62g del medio SDA (Sabouroad Dextrose Agar) peptona micológica 10g, dextrosa 40g en 1 litro de agua destilada, calentar y agitar hasta que haya una disolución total y autoclavar a 121°C, durante 15 minutos.
- Limpiar y desinfectar la cámara de flujo laminar con alcohol, para proceder a dispensar el medio en las cajas Petri.
- Encender los mecheros de alcohol o Bunsen para obtener esterilidad.
- Colocar 15 ml del medio SDA (Sabouroad Dextrose Agar) en cada caja Petri, previo a la siembra.

Técnica de estría cruzada

- Dividir cada una de las cajas Petri por la parte de atrás en cuatro cuadrantes. Esterilizar el asa con calor en el mechero.
- Dejar enfriar el asa y tomar la muestra del banco de diluciones a 10^{-3} .

- Inocular la muestra haciendo 4 o 5 estrías simples muy juntas de lado a lado sobre el primer cuadrante de la caja, cerrar la caja. Flamear el asa de inoculación y hacer girar la caja Petri un cuarto de vuelta.
- Abrir nuevamente la caja y con el asa de siembra esterilizada y fría, tocar la superficie del de estrías recién hechas en un punto alejado del inicio.
- Hacer un segundo grupo de estrías como en el caso anterior.
- Realizar el mismo procedimiento en el tercer cuadrante y en el último cuadrante, sin flamear el asa de siembra hará una estría más abierta (simple).
- Las cajas se incuban a 36°C durante 48 horas.

Tabla 4 Técnica de estría cruzada



Elaborado por: Autor

Selección de levaduras

- Para la selección de levaduras resistentes al alcohol, se sembraron las levaduras en medio SDA con concentraciones de etanol al 6%, 8% y 10%. El procedimiento que se realizó fue el siguiente:
- Esterilizar el asa y tomar una pequeña colonia de cada cultivo y realizar un rayado en las cajas Petri que contienen SDA con concentraciones de etanol al 6%, 8% y 10%.
- Colocar las cajas selladas a una temperatura de 27°C, 32°C y 36°C.
- Controlar el crecimiento de las colonias durante 48 y 72 horas.

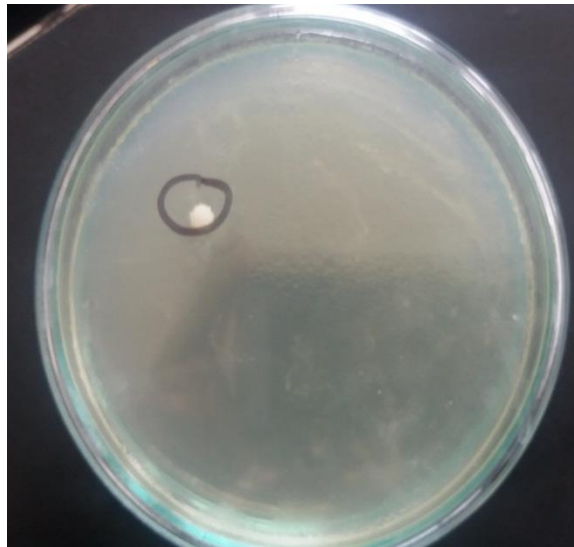
Caracterización de las levaduras aisladas

El aislamiento se realizó en 24 cajas Petri, de las cuales se seleccionaron 6 colonias aisladas de cada cepa.

CARACTERIZACIÓN DE LA PRIMERA COLONIA SELECCIONADA

Tabla 5 Caracterización de la primera colonia seleccionada

CARACTERIZACIÓN DE LA PRIMERA COLONIA SELECCIONADA			
Forma	Redondeada		
Color	Blanco cremoso		
Tamaño (mm)	4 mm		
Borde	Plana		
Elevación	Circular		
Aspecto	Opaco _____	Brillante __X__	
Consistencia	Dura _____	Suave __X__	Elástica _____
FOTOGRAFÍA			



DESCRIPCIÓN

Su forma es redondeada, en cuanto a su apariencia es de color blanco cremoso con un tamaño de 4 mm, en el cual varía de 2 a 10 mm en cuanto a levaduras, su aspecto brillante con una consistencia suave, de borde plana, de elación circular. Son características del genero *Sacharomyces*.

Elaborado por: Autor

CARACTERIZACIÓN DE LA SEGUNDA COLONIA SELECCIONADA

Tabla 6 Caracterización de la segunda colonia seleccionada

CARACTERIZACIÓN DE LA SEGUNDA COLONIA SELECCIONADA	
Forma	Redondeada

Color	Blanco brillante		
Tamaño (mm)	2,5 mm		
Borde	Plana		
Elevación	Circular		
Aspecto	Opaco <input checked="" type="checkbox"/>	Brillante <input type="checkbox"/>	
Consistencia	Dura <input type="checkbox"/>	Suave <input checked="" type="checkbox"/>	Elástica <input type="checkbox"/>

FOTOGRAFÍA



DESCRIPCIÓN

Su forma es redondeada, en cuanto a su apariencia es de color blanco brillante con un tamaño de 2,5 mm, en el cual varia de 2 a 10 mm en cuanto a levaduras, su aspecto opaco con una

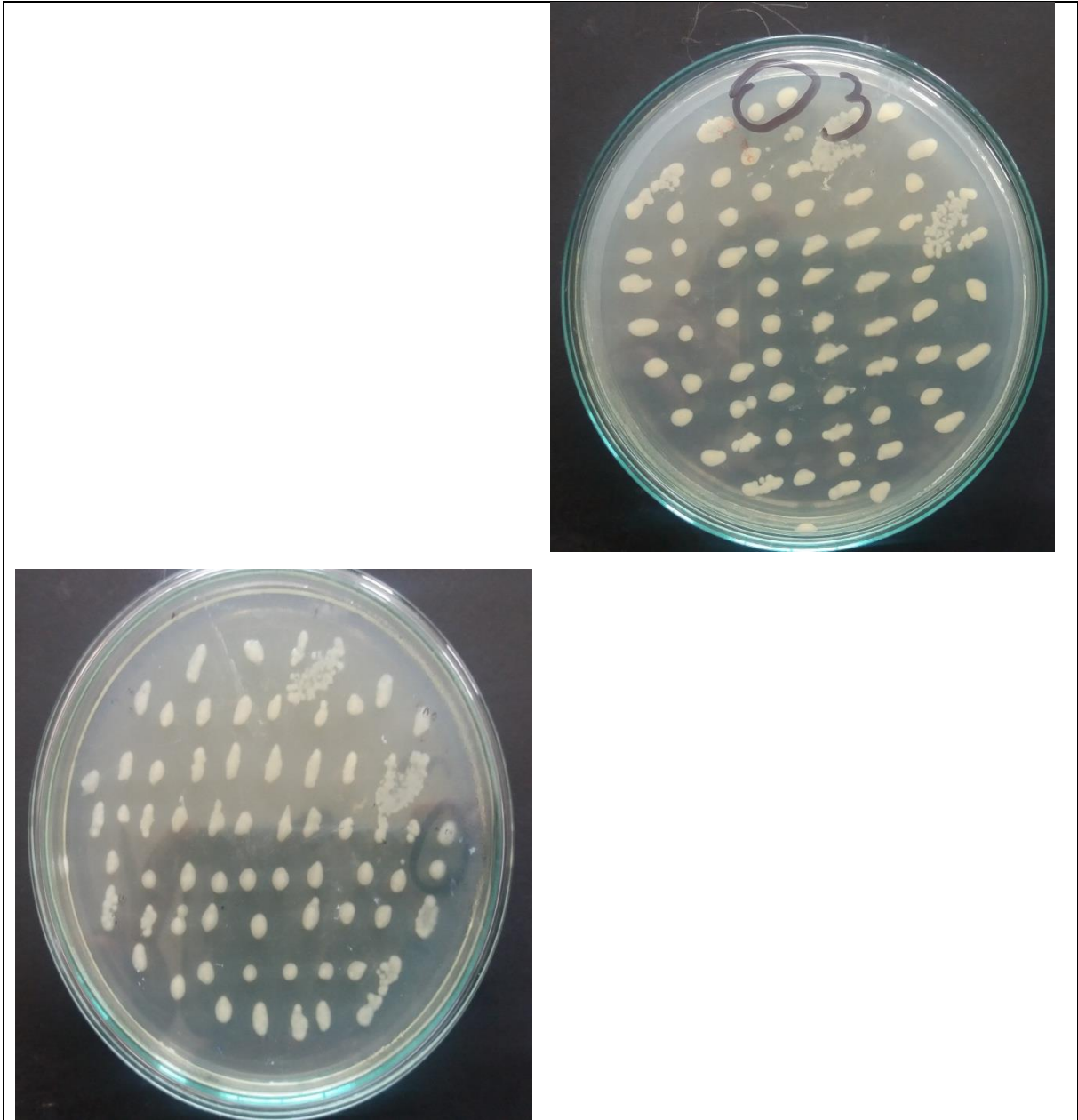
consistencia suave, de borde plana de elevación circular. Son características del genero *Sacharomyces*.

Elaborado por: Autor

CARACTERIZACIÓN DE LA TERCERA COLONIA SELECCIONADA

Tabla 7 Caracterización de la tercera colonia seleccionada

CARACTERIZACIÓN DE LA TERCERA COLONIA SELECCIONADA			
Forma	Ondulada		
Color	Blanco opaco		
Tamaño (mm)	3 mm		
Borde	Plana convexa		
Elevación	Irregular		
Aspecto	Opaco _____	Brillante ___X___	
Consistencia	Dura _____	Suave ___X___	Elástica _____
FOTOGRAFÍA			



DESCRIPCIÓN

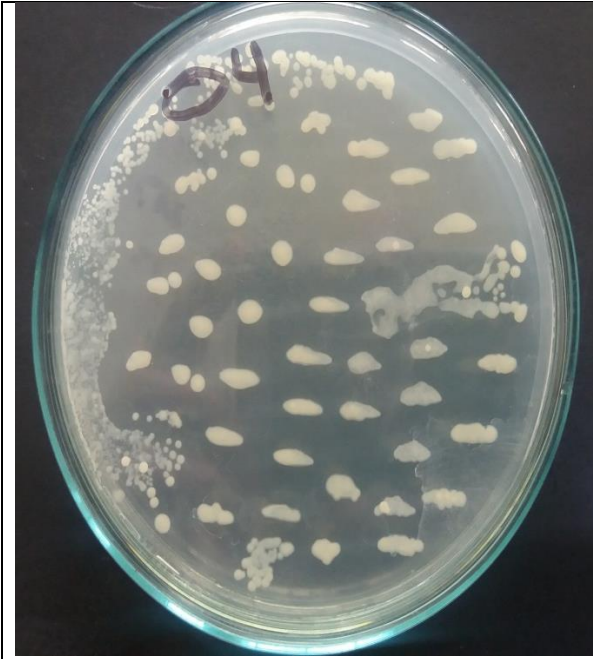
Su forma es ondulada, en cuanto a su apariencia es de color blanco opaco con un tamaño de 3 mm, en el cual varia de 2 a 10 mm en cuanto a levaduras, su aspecto brillante con una consistencia suave, de borde plana, de elevación irregular. Son características del genero *Sacharomyces*.

Elaborado por: Autor

CARACTERIZACIÓN DE LA CUARTA COLONIA SELECCIONADA

Tabla 8 Caracterización de la cuarta colonia seleccionada

CARACTERIZACIÓN DE LA CUARTA COLONIA SELECCIONADA			
Forma	Redondeada		
Color	Blanco opaco		
Tamaño (mm)	2 mm		
Borde	Plana		
Elevación	Circular		
Aspecto	Opaco _____	Brillante __X__	
Consistencia	Dura _____	Suave __X__	Elástica _____
FOTOGRAFÍA			



DESCRIPCIÓN

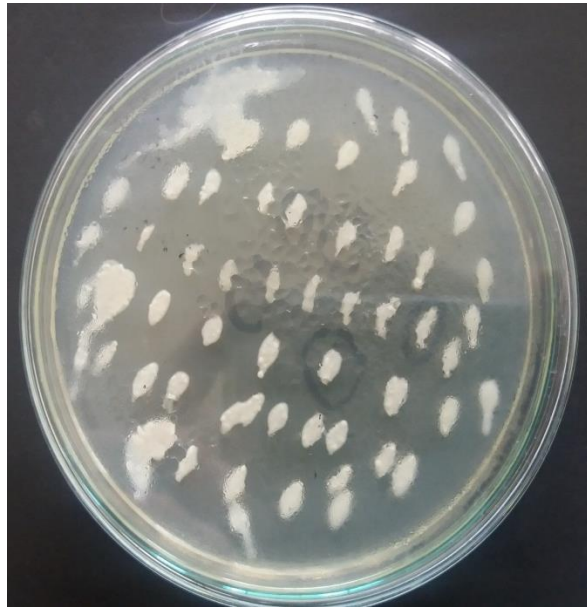
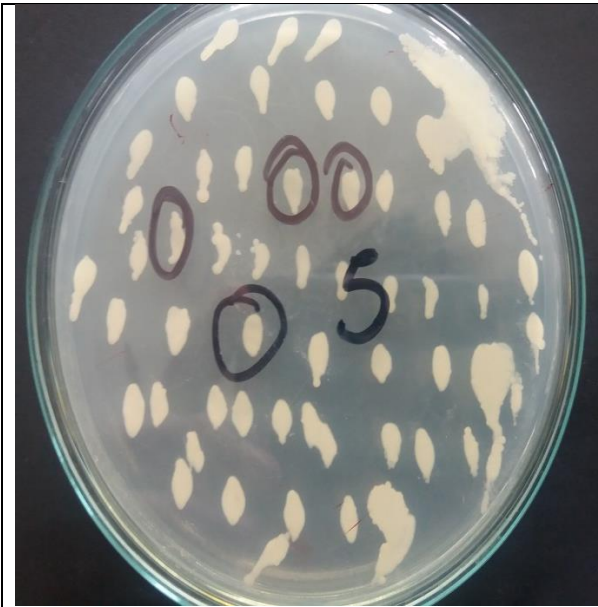
Su forma es redondeada, en cuanto a su apariencia es de color blanco opaco con un tamaño de 2 mm, en el cual varia de 2 a 10 mm en cuanto a levaduras, su aspecto brillante con una consistencia suave, de borde plana, de elevación circular. Son características del genero *Sacharomyces*.

Elaborado por: Autor

CARACTERIZACIÓN DE LA QUINTA COLONIA SELECCIONADA

Tabla 9 caracterización de la quinta colonia seleccionada.

CARACTERIZACIÓN DE LA QUINTA COLONIA SELECCIONADA			
Forma	Lobulada		
Color	Blanco brillante		
Tamaño (mm)	3,5 mm		
Borde	Convexa		
Elevación	Puntiforme		
Aspecto	Opaco _____	Brillante __X__	
Consistencia	Dura _____	Suave __X__	Elástica _____
FOTOGRAFÍA			



DESCRIPCIÓN

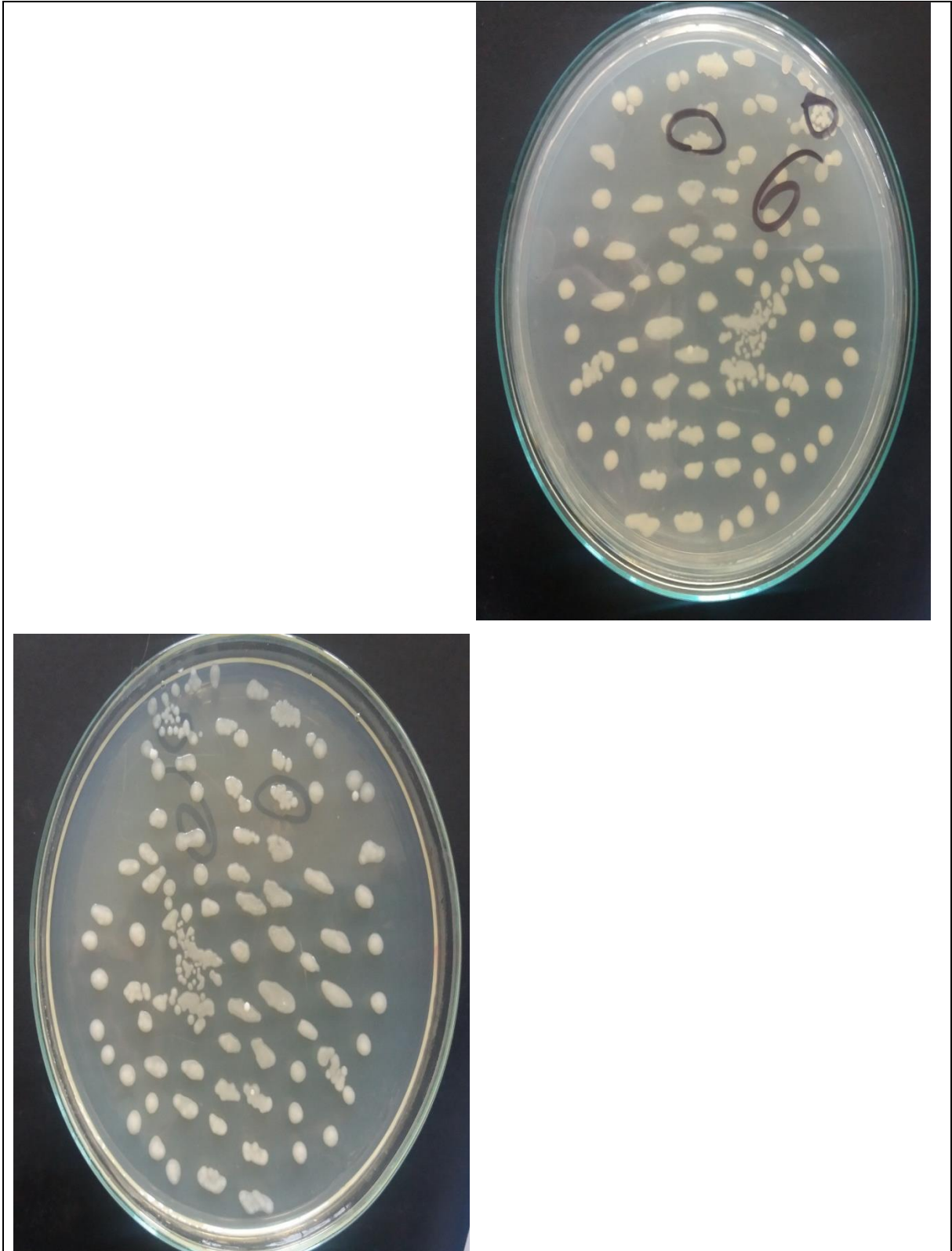
Su forma es lobulada, en cuanto a su apariencia es de color blanco brillante con un tamaño de 3,5 mm, en el cual varia de 2 a 10 mm en cuanto a levaduras, su aspecto brillante con una consistencia suave, de borde convexa, de elevación puntiforme. Son características del genero *Sacharomyces*.

Elaborado por: Autor

CARACTERIZACIÓN DE LA SEXTA COLONIA SELECCIONADA

Tabla 10 Caracterización de la sexta colonia seleccionada.

CARACTERIZACIÓN DE LA SEXTA COLONIA SELECCIONADA			
Forma	Redondeada		
Color	Blanco opaco		
Tamaño (mm)	2 mm		
Borde	Plana		
Elevación	Puntiforme		
Aspecto	Opaco ___X___	Brillante _____	
Consistencia	Dura _____	Suave ___X___	Elástica _____
FOTOGRAFÍA			



DESCRIPCIÓN

Su forma es redondeada, en cuanto a su apariencia es de color blanco opaco con un tamaño de 2 mm, en el cual varia de 2 a 10 mm en cuanto a levaduras, su aspecto opaco con una

consistencia suave, de borde plana, de elevación puntiforme. Son características del género *Sacharomyces*.

Elaborado por: Autor

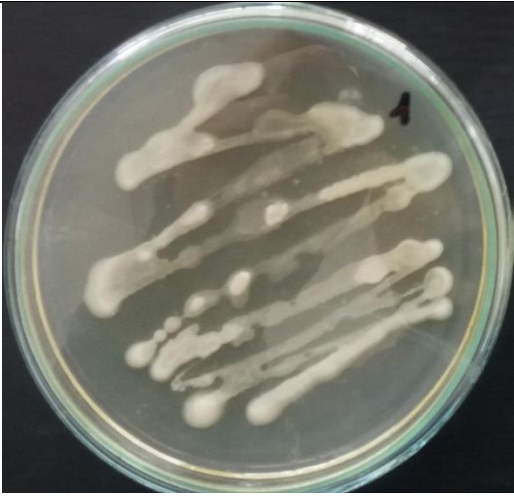



CEPAS PURIFICADAS

Una vez aislada las cepas de levadura se procedió a seleccionar 6 cepas con características morfológicas similares para proceder a purificar las cepas.

Técnica de estría

- Dividir cada una de las cajas Petri por la parte de atrás en cuatro cuadrantes.
- Colocar el medio de cultivo sabouraud dextros, y dejar que se enfríe para que se compacte.
- Esterilizar el asa con calor en el mechero.
- Dejar enfriar el asa y únicamente tocar la cepa número 1.
- Inocular la muestra haciendo estrías simples muy juntas de lado a lado sobre el primer cuadrante de la caja, cerrar la caja.
- Flamear el asa de inoculación y hacer girar la caja Petri un cuarto de vuelta.
- Abrir nuevamente la caja y con el asa de siembra esterilizada y fría, tocar la superficie del de estrías recién hechas en un punto alejado del inicio.
- Hacer un segundo grupo de estrías como en el caso anterior.
- Realizar el mismo procedimiento en el tercer cuadrante y en el último cuadrante, sin flamear el asa de siembra hará una estría más abierta (simple).
- Realizar el mismo procedimiento para las cepas número 2, 3, 4, 5 y 6
- Las cajas se incuban a 36°C durante 48 horas.
- Pasado el tiempo de incubación se procede a realizar los distintos análisis para sacar la mejor muestra.
- Se procede a llevar la muestra a un laboratorio acreditado en este caso, los Laboratorios de la OSP de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad central del Ecuador, el cual vendrá con el respectivo análisis técnico que nos verifique que es la cepa que hemos hablado en toda la investigación realizada.

CEPAS PURIFICADAS**Tabla 11. Cepas purificadas**

CEPA PURA N° 1	CEPA PURA N° 2
 A petri dish containing a bacterial culture. The agar surface is light-colored. Several white, elongated streaks are visible, starting from the top and spreading downwards. A small black marker is present in the upper right quadrant.	 A petri dish containing a bacterial culture. The agar surface is light-colored. Several white, elongated streaks are visible, starting from the top and spreading downwards. A small black marker is present in the upper right quadrant.
CEPA PURA N° 3	CEPA PURA N° 4
 A petri dish containing a bacterial culture. The agar surface is light-colored. Several white, elongated streaks are visible, starting from the top and spreading downwards. A small black marker is present in the upper right quadrant.	 A petri dish containing a bacterial culture. The agar surface is light-colored. Several white, elongated streaks are visible, starting from the top and spreading downwards. A small black marker is present in the upper right quadrant.
CEPA PURA N° 5	CEPA PURA N° 6



Elaborado por: Autor

Identificación macroscópica

Las tablas 5, 6, 7, 8, 9 y 10, presentaron resistencia alcohólica y capacidad fermentativa, lo que se presume que las cepas pertenecen al género *Saccharomyces*. Una vez comparado tanto bibliográficamente como las obtenidas en el laboratorio describen a esta levadura como *Saccharomyces cerevisiae*.

En las gráficas se puede observar que las cepas obtenidas en laboratorio presentan, forma circular, borde plano en su mayoría, textura suave, elevación plana y puntiforme que se distingue por el apareamiento de un pequeño punto protuberante en el centro de la colonia, son pastosas y su color crema.

Son levaduras *cerevisiae* ya que presentan características morfológicas similares a las descritas por los autores quienes describen a las colonias de dicho género como: esférica, elipsoidal, cilíndrica o suavemente alargada de apariencia muy diversa, entre lisas a rugosas y de color crema a ligeramente café, en ocasiones brillantes u opacas (García, Quintero, & López, 2004).

Para diferenciar las características morfológicas de las colonias aisladas es necesario purificar las colonias y obtener cepas puras para la identificación macroscópica.

Por esta razón, es importante tener en cuenta los factores que influyen en el crecimiento de las levaduras. El crecimiento de levaduras está influenciado por varios factores, tales como; el medio de cultivo, la temperatura de incubación, entre otros. (Cáceres & Reyna, 2002).

El medio más apropiado para la identificación macroscópica es el medio SDA, ya que su bajo pH (5.6 ± 0.2), favorece el crecimiento de levaduras e inhibe el crecimiento de algunas bacterias.

En caso de requerirse un incremento en la inhibición del crecimiento de bacterias, se recomienda añadir agentes antimicrobianos. Así se corroboran los resultados de la presente investigación, ya que al usar el medio SDA, se observó de mejor manera las características macroscópicas de las cepas obtenidas. (Linares & Solís 2011).

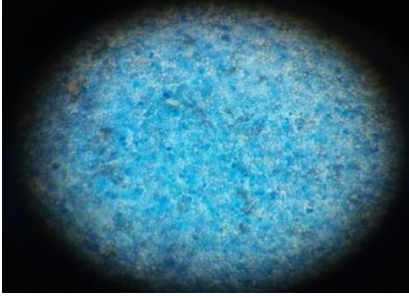

Cada levadura tiene su característica de crecimiento específico de acuerdo al medio de cultivo a la que sea expuesta, la forma tradicional de las cepas del genero *Saccharomyces* sembradas en medio de cultivo SDA tras 36 horas de incubación son colonias de color blanco grisáceo, de textura pastosa y con bordes enteros. (Win et al., 2008).

Identificación microscópica

- Esterilizar el asa de siembra mediante una llama o con alcohol.
- Colocar en el portaobjeto una gota de agua destilada. Tomar una muestra con el asa esterilizada, colocarlo sobre el portaobjetos y frotar junto con el agua destilada.
- Una vez seca la preparación anterior, colocar una gota de cristal de violeta la cual teñirá de color violeta todas las bacterias Gram+ y Gram-, dejar reposar durante 2 minutos, una vez seca, lavar con agua destilada inclinando el portaobjetos, para eliminar el exceso de colorante.
- Colocar una gota de lugol, con el fin que el cristal de violeta se fije con más rigidez a la pared bacteriana, dejar actuar por 2 minutos y volver a lavar con una mezcla de alcohol y acetona, para realizar el lavado procurar que el portaobjeto este inclinada para que de esta manera se resbale y elimine el exceso de coloración, pro último lavar con agua destilada.
- De inmediato colocar una gota de safranina, este reactivo va a colorear las bacterias Gram, dejar actuar por 2 minutos.
- En el microscopio observar la coloración de la bacteria Gram+ que estarán de color azul, violeta, y las bacterias Gram- de color rojo, rosáceo.

Tabla 12. Identificación microscópica

Fotografía del microscopio de laboratorio	Fotografía bibliographical

	 Vista microscópica de <i>Saccharomyces sp.</i> Fuente: (Cyril J, 2009, p.10)
Description Microscópica	Description Microscópica
Célula redonda Tamaño 80 μm .	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> es un organismo unicelular, de forma más o menos redondeada, su célula presenta un núcleo diferenciado y su tamaño oscila entre 2 a más de 200 μm , siendo por lo tanto un organismo eucariota. Carrascosa, (s.a.)

Elaborado por: Autor

En las tablas 11 se observa los resultados obtenidos en la identificación microscópica de las levaduras que presentaron características macroscópicas similares a *Saccharomyces*. Estas cepas presentaron características tales como; célula redonda, núcleo diferenciado en el centro y tamaño 80 μm . Estos resultados son corroborados por Carrascosa (s.a), quien describe que la característica principal de la *Saccharomyces* es un núcleo diferenciado así como su tamaño, el cual oscila de 2 a más de 200 μm .

Para identificar levaduras, existen varios métodos como la tinción, ya que las levaduras suelen comportarse con Gram positivas, sin embargo este método solo señala si es levadura o no. Por está razón, el método más eficiente es teñir a las levaduras con lactofenol, ya que actúa como líquido de soporte, agente fijador, tiñe el micelo y las esporas de color azul; para una mejor observación. (Linares & Solis, 2011).

Propone la existencia de una considerable variedad de formas celulares para levaduras del género *Saccharomyces*, pudiendo presentarse desde la forma alargada, pasando por una forma oval más específicamente similar a un huevo, y pudiendo llegar incluso a formas celulares completamente circulares. (Petrenko, 2005)

Por lo tanto se confirma que las cepa aisladas y purificadas pertenece microscópicamente a la especie de las *Saccharomyces cerevisiae*, ya que son redondas y con nucleos definidos tal y cual describen en las bibliografías consultadas y comparadas con las del laboratorio que se realizo en este proyecto.

Pre enriquecimiento de las cepa puras

Favorece el crecimiento de determinado microorganismo que queremos aislar y que se encuentra en pequeñas cantidades.

Preparación del caldo nutritivo (CN)

Tabla 13. Preparación del caldo nutritivo (CN)

Caldo Nutritivo (CN)	
Agua destilada	1L
Nutrient Borth	8 g

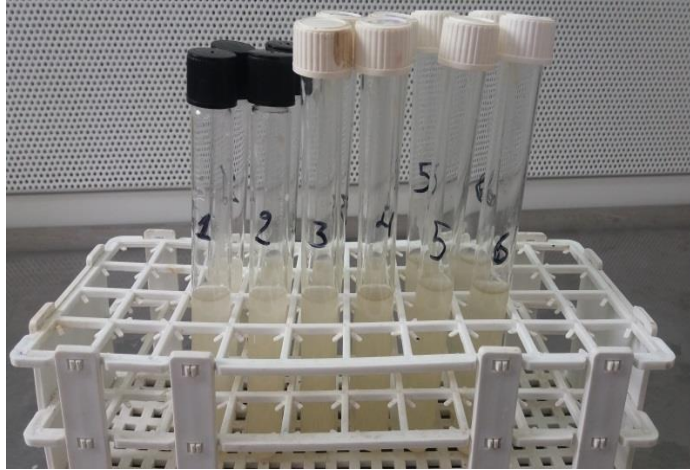
Elaborado por: Autor

El agar nutritivo. Es un medio de cultivo usado normalmente para que el microorganismo aislado no muera. En un caldo de nutrientes, la bacteria crece en el líquido, y aparece como una sustancia espesa, con colonias difícilmente observables.

Caldo nutritivo (CN)

- Añadir 8g del agar CN (caldo nutritivo) en 1 litro de agua destilada, calentar y agitar hasta que haya una disolución total y autoclavar a 121°C, durante 15 minutos.
- Limpiar y desinfectar la cámara de flujo laminar con alcohol, para proceder a dispensar el medio en los tubos de ensayo.
- Encender los mecheros de alcohol o Bunsen para obtener esterilidad.
- Realizar un raspado de las cepas purificadas y colocar en el caldo nutritivo.
- Realizar los pasos para cada cepa purificada para la cepa 2, 3, 4, 5 y 6.
- Incubar para que se nutran a una temperatura de 36°C por 24 horas.
- Se realizó por duplicado para continuar con el siguiente paso.

Fotografía 1. Caldo nutritivo con las cepas purificadas.

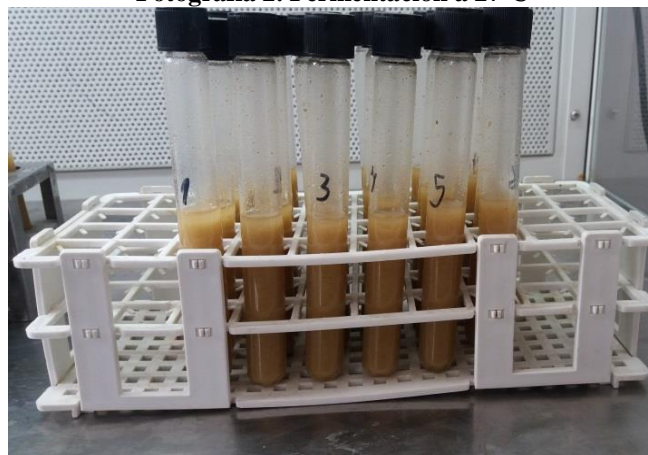


Elaborado por: Autor

Aplicación de las cepas purificadas enriquecidas con caldo nutritivo (CN), en una malta base.

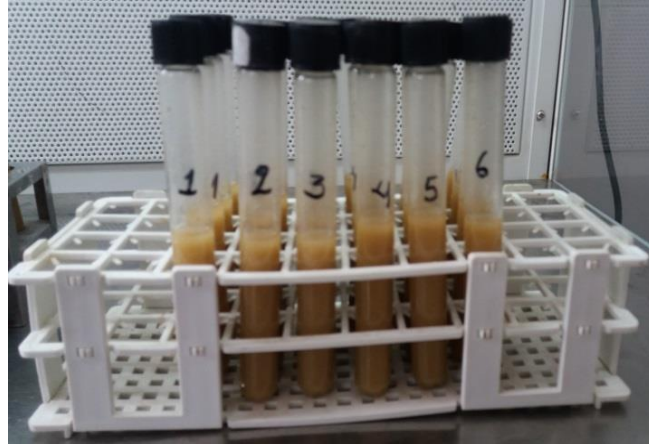
- Utilizando los mismos procesos de la cerveza artesanal de quinua, se realizó una cerveza con malta base.
- Se colocó en tubos de ensayo 10 ml de malta base y un ml del caldo nutritivo que contiene la levadura purificada de cada cepa.
- Se realizó 24 tubos de ensayo para cada temperatura que entró en acción con los diferentes tiempos de incubación.
- Al término del tiempo de incubación con un alcoholímetro se va a ver el porcentaje de alcohol con los que cuenta y se aplica un diseño.

Fotografía 2. Fermentación a 27°C



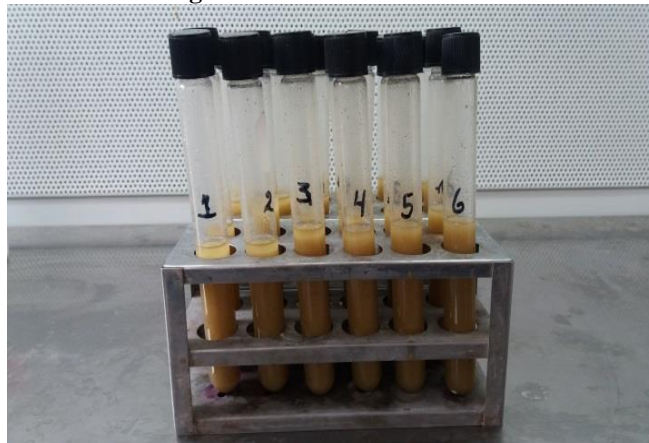
Elaborado por: Autor

Fotografía 3. Fermentación a 32°C



Elaborado por: Autor

Fotografía 4. Fermentación a 36°C



Elaborado por: Autor

9.5. Técnica de vaciado en placa

- Una vez que el medio sale de la autoclave, dejar enfriar a temperatura ambiente o en un baño María a una temperatura de $45 \pm 2^\circ\text{C}$
- Preparar la placa en la mesa previamente etiquetada y ya con 1 ml de las cepas enriquecidas.
- Agregar de 12 a 15 ml del medio preparado (sabouraud dextrosa),
- Mezclarlo mediante 6 movimientos de derecha a izquierda, 6 en el sentido de las manecillas del reloj, 6 en el sentido contrario y 6 de atrás a adelante.
- Dejar reposar y enfriar la placa con la tapa entre abierta para que el agua se evapore y no se condense, una vez desplazada el agua tapar de inmediato.
- Colocar en la incubadora durante 48 y 72 horas con una temperatura de 27, 32 y 36°C .
- El mismo proceso realizar con la fermentación de la cerveza colocada en los tubos de ensayo.

9.6. Diseño experimental

Se aplicó un diseño de arreglo factorial A x B. El factor A con dos niveles y el factor B con tres niveles, dando un total 6 tratamientos con dos repeticiones.

Factores de estudio

Tabla 14. Factores de estudio

FACTOR A	Tiempo	a1= 48 horas
		a2 = 72 horas
FACTOR B	Temperatura	b1= 27°C
		b2= 32°C
		b3= 36°C

Elaborado por: Autor

Esquema de ADEVA.

Tabla 15. Esquema del ADEVA para la determinación de A * B en el proceso de aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

Fuente de variación	Grados de libertad	Formula
Repeticiones	1	$r - 1$
Factor A	1	$A - 1$
Factor B	2	$B - 1$
A * B	2	$(A - 1)(B - 1)$
Error Experimental	5	Diferencia
Total	11	

Elaborado por: Autor

Tratamientos

Tabla 16. Tratamientos en estudio.

Nº	Tratamientos	Descripción	Repetición
t1	a1b1	48 horas y 27°C	I y II
t2	a1b2	48 horas y 32°C	
t3	a1b3	48 horas y 36°C	
t4	a2b1	72 horas y 27°C	

t5	a2b2	72 horas y 32°C	
t6	a2b3	72 horas y 36°C	

Elaborado por: Autor

Variables e indicadores

Tabla 17. Operacionalización de las variables índice de proceso de aislamiento, selección de identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

Variable Dependiente	Variable Independiente	Indicadores	Dimensiones
CEPAS ALCOHÓLICAS	FACTOR A: Tiempo de crecimiento	Características organolépticas del mejor tratamiento	Color de la cepa. Tamaño de la cepa. Forma de la cepa. Características del contorno de la cepa.
	FACTOR B: Temperatura en la que crecen.	Características del mejor tratamiento	Porcentaje de alcohol. Crecimiento de UFC/ml.

Elaborado por: Autor

10. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

10.1. Análisis estadístico

10.1.1. Índice en proceso

Las tablas que se presentan a continuación son de análisis de varianza y prueba de significación de Tukey al 5%, para las variables color de la cepa, tamaño de la cepa, forma de la cepa, características de la cepa.

- **Variable color de la cepa**

Análisis de la varianza en las características morfológicas macro y microscópicas en el color de la cepa con dos variedades de tiempos y en tres temperaturas diferentes.

Tabla 18. Análisis de la varianza del color de la cepa

FV	SC	GL	CM	F	F.C	P
Factor A	0,0833	1	0,0833	1,0000	6.608	0,3632 n.s.
Factor B	1,1667	2	0,5833	7,0000	5.786	0,0355 *
Repeticiones	0,0833	1	0,0833	1,0000	6.608	0,3632 n.s.
A * B	1,1667	2	0,5833	7,0000	5.786	0,0355 *
Error	0,4167	5	0,0833			
Total	2,9167	11				
C.V.%	9.90					

****Altamente significativo**

***Significativo**

n.s. No significativo

Factor A (variación de horas)

Factor B (variación de temperatura)

Elaborado por: Autor

- Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 18, se observó que en la variable color de la cepa se estableció diferencia estadística significativa para el factor B (variación de temperatura) en el estudio, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, lo cual indico que las dos variaciones de tiempo y las tres variaciones de temperatura si influyen sobre el color de las cepas aisladas, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo en el color de la cepa, en el nivel de confianza del 95% según la regla de decisiones por tal razón fue necesario aplicar prueba de significación de Tukey al 5% a factores B, pero no sucedió para el factor A en este caso no existe diferencia estadística, por lo cual no se realizó la prueba de significación de Tukey al 5%.

El coeficiente de variación, es confiable lo que significa que de 100 observaciones, el 9.90% van a salir diferentes y el 90.10% de observaciones serán confiables es decir serán valores iguales para todos los tratamientos elaborados, de acuerdo al color de la cepa el cual manifestó un buen rango de incubación, es decir que las temperaturas utilizadas tuvieron una correcta aplicación.

En conclusión se menciona que las variaciones de tiempos y las temperaturas influyen en el color de las cepas en el aislamiento, selección e identificación de cepas alcohólicas.

Tabla 19. Prueba de Tukey al 5% para el análisis de color en el Factor B de las variedades de temperatura.

FACTOR B	MEDIAS	RANGO	
b3	3,25	A	
b2	3,00	A	B
b1	2,50	B	

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

b1 27°C
b2 32°C
b3 36°C

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 19, en la prueba de Tukey al 5% para el análisis del color de la cepa para el factor B, referente a la variación de temperatura existe una diferencia significativa de la variable b3 que es la temperatura que presenta mejores características de color requerido, mientras que el b2 tiene iguales características y b1 no existe diferencia significativa.

En conclusión, se menciona que la mejor temperatura para el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol es b3 (36°C) con un promedio de 3,25 permitiendo el crecimiento de los microorganismos en esta temperatura donde se presentan características requeridas en el color de las cepas alcohólicas.

Tabla 20. Comportamiento de los promedios de color de las cepas en la intersección entre el Factor A * B.

TRATAMIENTOS	MEDIAS	RANGO	
t3 (a1b3)	3,50	A	
t6 (a2b3)	3,00	A	B
t5 (a2b2)	3,00	A	B
t4 (a2b1)	3,00	A	B
t2 (a1b2)	3,00	A	B
t1 (a1b1)	2,00	B	

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

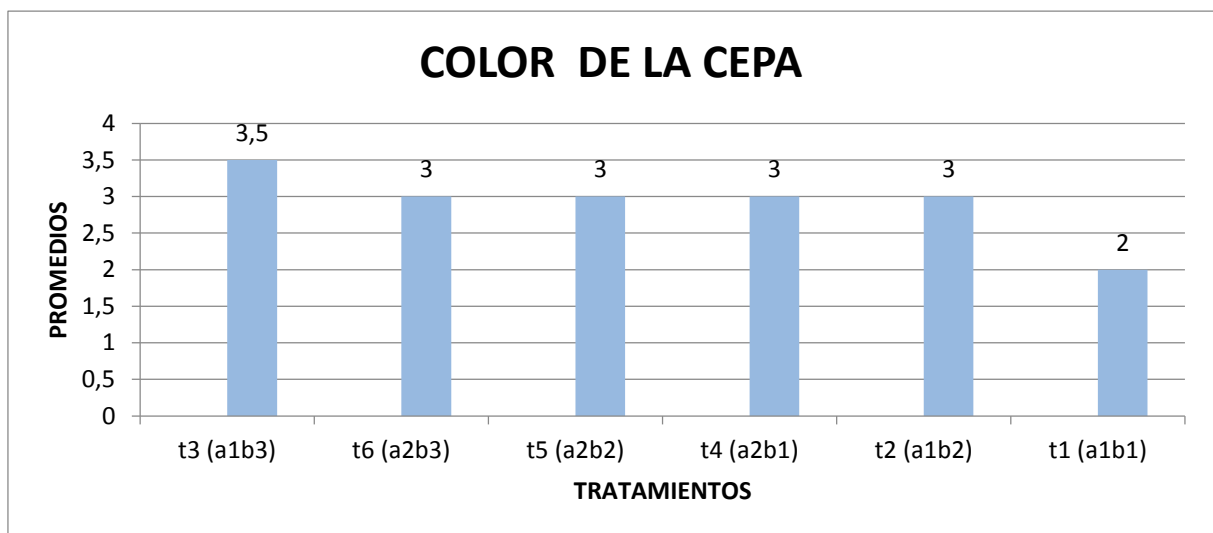
Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a lo resultados obtenidos en la tabla 20, en la interacción entre los factores A * B indican que el mejor tratamiento es el **t3 (a1b3)** que influye en el color de la cepa aislada, selecciona e identificada a 36°C por 48 horas.

En conclusión, se menciona que el **t3 (a1b3)** que corresponde al 48 horas por 36°C, en el medio de cultivo sabouraud dextrosa influyen en el color de microorganismos en la intersección entre los factores A * B, determinando el color característico de las cepas en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

Gráfico 1. Comportamiento de los promedios de color de las cepas en la intersección entre el Factor A*B.



Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación del gráfico**

En el gráfico 1, el color de la cepa, nos indica que el mejor tratamiento es el t3 (a1b3) que corresponde a (48 horas y 36°C en el medio de sabouraud dextrosa) en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol ubicado en el rango homogéneo A presentando un color característico con un promedio de 3,5 siendo un color blanco cremoso referente a las cepas alcohólicas.

- **Variable tamaño de la cepa (mm)**

Análisis de varianza en las características morfológicas macro y microscópicas en el tamaño de la cepa con dos variedades de tiempos y en tres temperaturas diferentes.

Tabla 21. Análisis de la varianza del tamaño de la cepa.

FV	SC	GL	CM	F	F.C	P
Factor A	0,0208	1	0,0208	1,4045	6.608	0,2892 n.s.

Factor B	0,6817	2	0,3408	22,9775	5.786	0,0030 *
Repeticiones	0,0008	1	0,0008	0,0562	6.608	0,8220 n.s.
A * B	0,0517	2	0,0258	1,7416	5.786	0,2667 n.s.
Error	0,0742	5	0,0148			
Total	0,8292	11				
C.V.%	3,12					

**Altamente significativo
*Significativo
n.s. No significativo
Factor A (variación de horas)
Factor B (variación de temperatura)

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 21, se observó que en la variable tamaño de la cepa se estableció diferencia estadística significativa para el factor B (variación de temperatura) en el estudio, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, lo cual indico que las dos variaciones de tiempo y las tres variaciones de temperatura si influyen sobre el tamaño de las cepas aisladas, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo en el tamaño de la cepa, en el nivel de confianza del 95% según la regla de decisiones por tal razón fue necesario aplicar prueba de significación de Tukey al 5% a factores B, pero no sucedió para el factor A en este caso no existe diferencia estadística, por lo cual no se realizó la prueba de significación de Tukey al 5%.

El coeficiente de variación, es confiable lo que significa que de 100 observaciones, el 3.12% van a salir diferentes y el 96.88% de observaciones serán confiables es decir serán valores iguales para todos los tratamientos elaborados, de acuerdo al tamaño de la cepa el cual manifestó un buen rango de incubación, es decir que las temperaturas utilizadas tuvieron una correcta aplicación.

En conclusión se menciona que las variaciones de tiempos y las temperaturas influyen en el color de las cepas en el aislamiento, selección e identificación de cepas alcohólicas

Tabla 22. Prueba de Tukey al 5% para el análisis del tamaño en el Factor B de las variedades de temperatura.

FACTOR B	MEDIAS	RANGO
b3	4,2250	A
b2	3,8500	B

b1

3,6500

B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

b1 27°C

b2 32°C

b3 36°C

Elaborado por: Autor

- Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 22, en la prueba de Tukey al 5% para el análisis del tamaño de la cepa para el factor B, referente a la variación de temperatura existe una diferencia significativa de la variable b3 que es la temperatura que presenta mejores características del tamaño requerido, mientras que el b2 y b1 no existe diferencia significativa.

En conclusión, se menciona que la mejor temperatura para el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol es b3 (36°C) con un promedio de 4,225 mm permitiendo el crecimiento de los microorganismos en esta temperatura donde se presentan características requeridas en el tamaño de las cepas de alta producción de alcohol.

Tabla 23. Comportamiento de los promedios del tamaño de las cepas en la intersección entre el Factor A*B.

TRATAMIENTOS	MEDIAS	RANGO		
t3 (a1b3)	4,3000	A		
t6 (a2b3)	4,1500	A	B	
t5 (a2b2)	3,9000	A	B	C
t2 (a1b2)	3,8000	A	B	C
t1 (a1b1)	3,7500		B	C
t4 (a2b1)	3,5500			C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

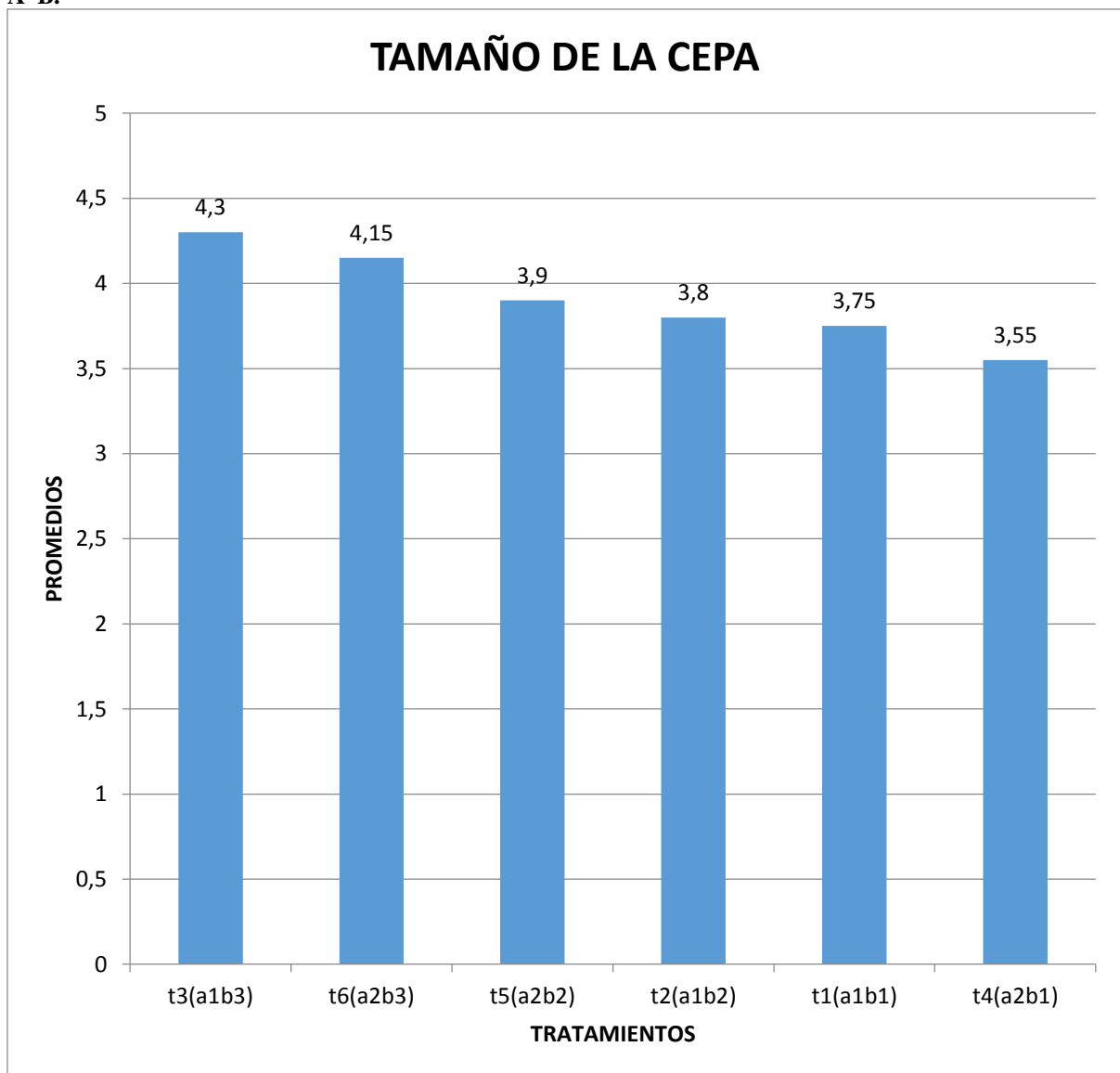
Elaborado por: Autor

- Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 23, en la interacción entre los factores A * B indican que el mejor tratamiento es el **t3 (a1b3)** que influye en el tamaño de la cepa aislada, seleccionada e identificada a 36°C por 48 horas.

En conclusión, se menciona que el **t3 (a1b3)** que corresponde al 48 horas por 36°C, en el medio de cultivo sabouraud dextrosa influyen en el tamaño de microorganismos en la intersección entre los factores A * B, determinando el tamaño característico de las cepas en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

Gráfico 2. Comportamiento de los promedios del tamaño de las cepas en la intersección entre el Factor A*B.



Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación del gráfico**

En el gráfico 2, el tamaño de la cepa, nos indica que el mejor tratamiento en el t3 (a1b3) que corresponde a (48 horas y 36°C en el medio de sabouraud dextrosa) en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol ubicado en el rango homogéneo A presentando un tamaño característico con un promedio de 4,3.

- **Variable forma de la cepa**

Análisis de varianza en las características morfológicas macro y microscópicas en la forma de la cepa con dos variedades de tiempos y en tres temperaturas diferentes.

Tabla 24. Análisis de la varianza de la forma de la cepa.

FV	SC	GL	CM	F	F.C	P
Factor A	0,7500	1	0,7500	9,0000	6.608	0,0301 *
Factor B	0,1667	2	0,0833	1,0000	5.786	0,4312 n.s.
Repeticiones	0,0833	1	0,0833	1,0000	6.608	0,3632 n.s.
A * B	1,5000	2	0,7500	9,0000	5.786	0,0220 *
Error	0,4167	5	0,0833			
Total	2,9167	11				
C.V.%	9,36					

**Altamente significativo

*Significativo

n.s. No significativo

Factor A (variación de horas)

Factor B (variación de temperatura)

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 24, se observó que en la variable forma de la cepa se estableció diferencia estadística significativa para el factor A (variación de horas) en el estudio, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, lo cual indica que las dos variaciones de tiempo y las tres variaciones de temperatura si influyen sobre la forma de las cepas aisladas, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo en la forma de la cepa, en el nivel de confianza del 95% según la regla de decisiones por tal razón fue necesario aplicar prueba de significación de Tukey al 5% a factores A, pero no sucedió para el factor B en este caso no existe diferencia estadística, por lo cual no se realizó la prueba de significación de Tukey al 5%.

El coeficiente de variación, es confiable lo que significa que de 100 observaciones, el 9.36% van a salir diferentes y el 90.64% de observaciones serán confiables es decir serán valores iguales para todos los tratamientos elaborados, de acuerdo a la forma de la cepa el cual manifestó un buen rango de incubación, es decir que las temperaturas utilizadas tuvieron una correcta aplicación.

En conclusión se menciona que las variaciones de tiempos y las temperaturas influyen en el color de las cepas en el aislamiento, selección e identificación de cepas alcohólicas

Tabla 25. Prueba de Tukey al 5% para el análisis de la forma en el Factor A de las variedades de horas.

FACTOR A	MEDIAS	RANGO
a1	3,33	A
a2	2,83	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)
a1 48 horas
a2 72 horas

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 25, en la prueba de Tukey al 5% para el análisis de la forma de la cepa para el factor A, en 48 horas, tuvo una forma redonda sin irregularidades con un valor de 3,33, este incide al momento del aislamiento, selección e identificación de alta producción de alcohol, ubicándolo en el rango A. También nos indica que hay diferencia significativa con la variación de tiempo a 72 horas, dando una forma ovalada sin irregularidades con un valor de 2,83 ubicándolo en el rango B.

En conclusión se menciona que la variación de tiempo de 48 horas, presenta las mejores características morfológicas en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

Tabla 26. Comportamiento de los promedios de la forma de las cepas en la intersección entre el Factor A*B

TRATAMIENTOS	MEDIAS	RANGO
t3 (a1b3)	4,0000	A
t5 (a2b2)	3,0000	A B
t4 (a2b1)	3,0000	A B
t2 (a1b2)	3,0000	A B
t1 (a1b1)	3,0000	A B

t6 (a2b3)	2,5000	B
-----------	--------	---

Letras distintas indican diferencias significativas (p<=0,05)

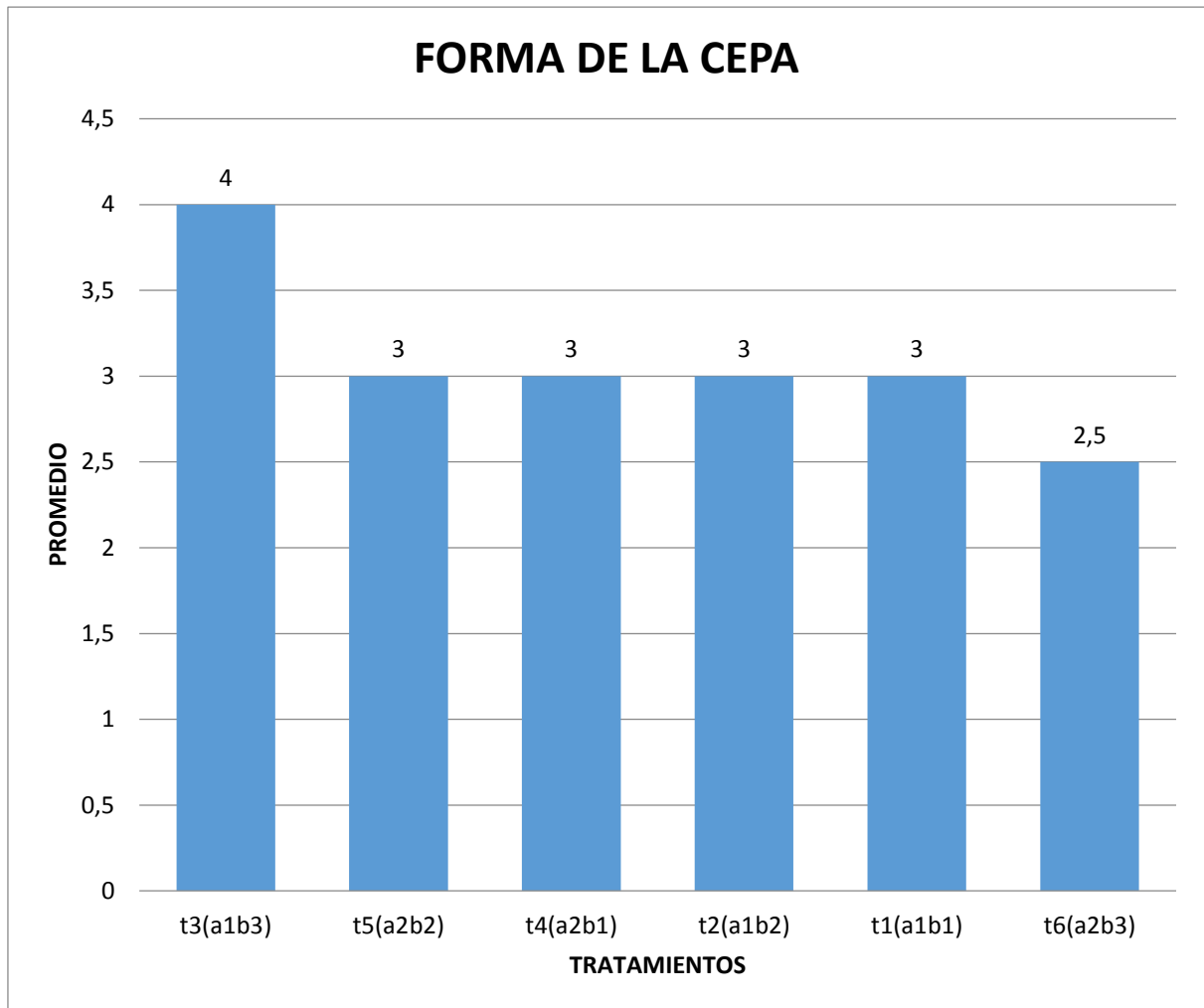
Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla.**

De acuerdo a lo resultados obtenidos en la tabla 26, en la interacción entre los factores A * B indican que el mejor tratamiento es el **t3 (a1b3)** que influye en la forma de la cepa aislada, seleccionada e identificada a 36°C por 48 horas.

En conclusión, se menciona que el **t3 (a1b3)** que corresponde al 48 horas por 36°C, en el medio de cultivo sabouraud dextrosa influyen en la forma de microorganismos en la intersección entre los factores A * B, determinando la forma característica de las cepas en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

Gráfico 3. Comportamiento de los promedios de la forma de las cepas en la intersección entre el Factor A*B.



Elaborado por: **Autor**

- **Análisis e interpretación del gráfico**

En el gráfico 3, la forma de la cepa, nos indica que el mejor tratamiento es el t3 (a1b3) que corresponde a (48 horas y 36°C en el medio de sabouraud dextrosa) en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol ubicada en el rango homogéneo A presentando una forma característica con un promedio de 4. Siendo de una forma redonda sin irregularidades.

- **Variable contorno de la cepa**

Análisis de varianza en las características morfológicas macro y microscópicas en el contorno de la cepa con dos variedades de tiempos y en tres temperaturas diferentes.

Tabla 27. Análisis de la varianza del contorno de la cepa.

FV	SC	GL	CM	F	F.C	P	
Factor A	0,7500	1	0,7500	9,0000	6.608	0,0301	*
Factor B	2,1667	2	1,0833	13,0000	5.786	0,0104	*
Repeticiones	0,0833	1	0,0833	1,0000	6.608	0,3632	n.s.
A * B	1,5000	2	0,7500	9,0000	5.786	0,0220	*
Error	0,4167	5	0,0833				
Total	4,9167	11					
C.V.%	9,90						

**Altamente significativo
*Significativo
n.s. No significativo
Factor A (variación de horas)
Factor B (variación de temperatura)

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 27, se observó que en la variable contorno de la cepa se estableció diferencia estadística significativa para el factor A (variación de horas) y el factor B (variación de temperaturas) en el estudio, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, lo cual indico que las dos variaciones de tiempo y las tres variaciones de temperatura si influyen sobre el contorno de las cepas aisladas, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo en el contorno de la cepa, en el nivel de confianza del 95% según la regla de decisiones por tal razón fue necesario aplicar prueba de significación de Tukey al 5%.

El coeficiente de variación, es confiable lo que significa que de 100 observaciones, el 9.90% van a salir diferentes y el 90.10% de observaciones serán confiables es decir serán valores iguales para todos los tratamientos elaborados, de acuerdo al contorno de la cepa el cual manifestó un buen rango de incubación, es decir que las temperaturas utilizadas tuvieron una correcta aplicación.

En conclusión se menciona que las variaciones de tiempos y las temperaturas influyen en el contorno de las cepas en el aislamiento, selección e identificación de cepas alcohólicas.

Tabla 28. Prueba de Tukey al 5% para el análisis del contorno en el factor A de las variedades de horas.

FACTOR A	MEDIAS	RANGO
a1	3,1667	A

a2	2,6667	B
a1 48 horas		
a2 72 horas		

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 28, en la prueba de Tukey al 5% para el análisis del contorno de la cepa para el factor A, en 48 horas, tuvo un contorno regular y plano con un valor de 3,1667, este incide al momento del aislamiento, selección e identificación de alta producción de alcohol, ubicándolo en el rango A. También nos indica que hay diferencia significativa con la variación de tiempo a 72 horas, dando un contorno regular con volumen con un valor de 2,6667 ubicándolo en el rango B.

En conclusión se menciona que la variación de tiempo de 48 horas, presenta las mejores características morfológicas en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

Tabla 29. Prueba de Tukey al 5% para el análisis del contorno en el Factor B de las variedades de temperaturas.

FACTOR B	MEDIAS	RANGO
b3	3,5000	A
b1	2,7500	B
b2	2,5000	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)
b1 27°C
b2 32°C
b3 36°C

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 29, en la prueba de Tukey al 5% para el análisis del contorno de la cepa para el factor B, referente a la variación de temperatura existe una diferencia significativa de la variable b3 que es la temperatura que presenta mejores características del contorno requerido, mientras que el b1 y b2 son los que presentan menores características y condiciones en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

En conclusión, se menciona que la mejor temperatura para el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol es b3 (36°C) con un promedio de 3,5000 permitiendo el crecimiento de los microorganismos en esta temperatura donde se presentan características requeridas en el tamaño de las cepas de alta producción de alcohol.

Tabla 30. Comportamiento de los promedios del contorno de la cepas en la intersección entre el Factor A*B.

TRATAMIENTOS	MEDIAS	RANGO	
t3 (a1b3)	4,0000	A	
t6 (a2b3)	3,0000	A	B
t4 (a2b1)	3,0000	A	B
t2 (a1b2)	3,0000	A	B
t1 (a1b1)	2,5000	B	
t5 (a2b2)	2,0000	B	

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

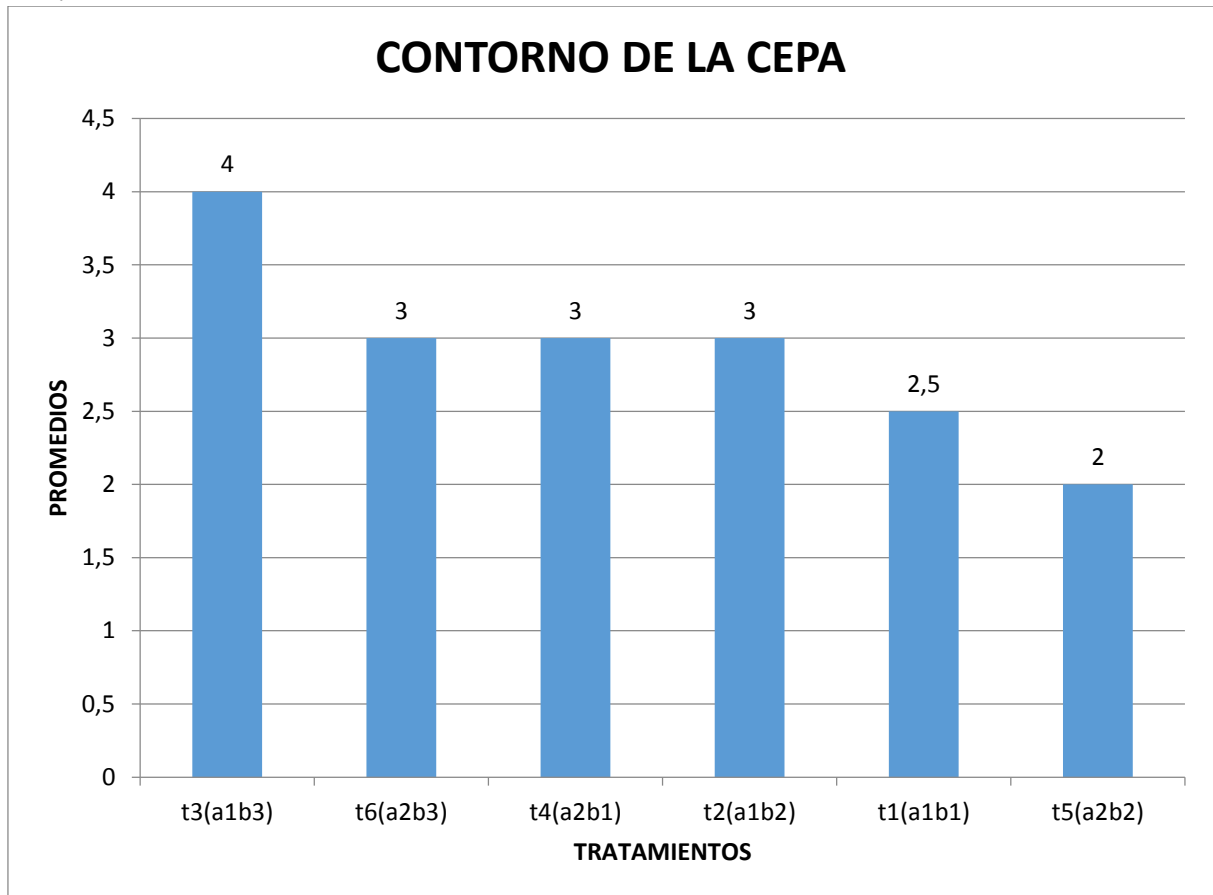
Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 30, en la interacción entre los factores A * B indican que el mejor tratamiento es el **t3 (a1b3)** que influye en el contorno de la cepa aislada, seleccionada e identificada a 36°C por 48 horas.

En conclusión, se menciona que el **t3 (a1b3)** que corresponde al 48 horas por 36°C, en el medio de cultivo sabouraud dextrosa influyen en el contorno de microorganismos en la intersección entre los factores A * B, determinando el contorno característico de las cepas en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

Gráfico 4. Comportamiento de los promedios del contorno de las cepas en la intersección entre el Factor A*B.



Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación del gráfico.**

En el gráfico 4, el contorno de la cepa, nos indica que el mejor tratamiento es el t3 (a1b3) que corresponde a (48 horas y 36°C en el medio de sabouraud dextrosa) en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol ubicada en el rango homogéneo A presentando un contorno característico con un promedio de 4. Siendo su contorno irregular y plano.

Tabla 31. Promedios de los tratamientos en el índice de proceso.

INDICADORES	t1 (a1b1)	t2 (a1b2)	t3 (a1b3)	t4 (a2b1)	t5 (a2b2)	t6 (a2b3)
Color de la cepa	2,0000	3,0000	3,5000	3,0000	3,0000	3,0000
Tamaño de la cepa	3,7500	3,8000	4,3000	3,5500	3,9000	4,1500
Forma de la cepa	3,0000	3,0000	4,0000	3,0000	3,0000	2,5000
Contorno de la cepa	2,5000	3,0000	4,0000	3,0000	3,0000	3,0000

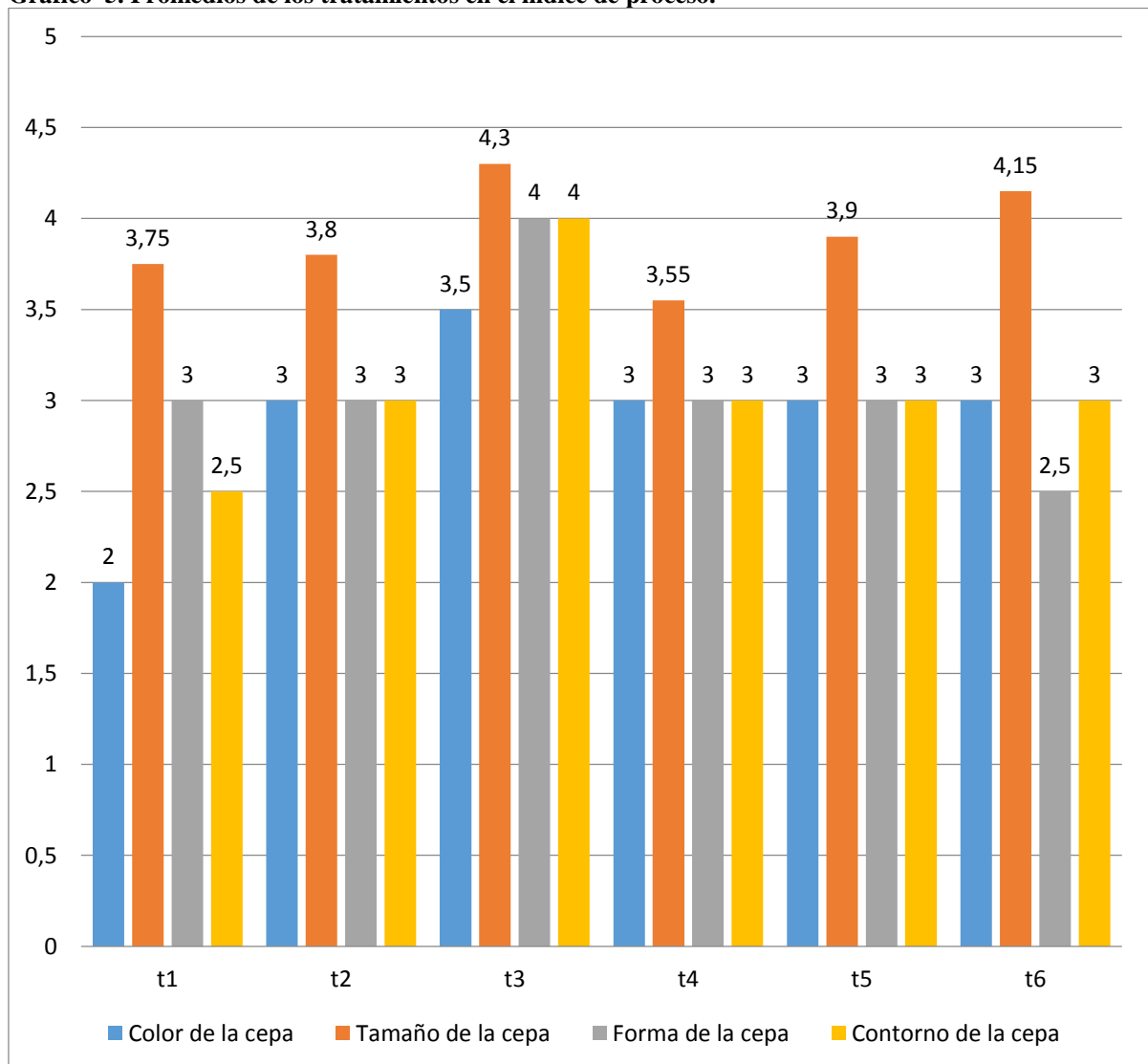
Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla.**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 31, se analizó el mejor promedio entre tratamientos, donde se determinó que el mejor tratamiento es el t3 (a1b3) que corresponde a (48 horas) y (36°C) en el medio de sabouraud dextrosa, dando mejores condiciones en el color de la cepa, tamaño de la cepa, forma de la cepa y el contorno de la cepa en el índice de proceso de aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

En conclusión, se determinó que el tratamiento t3 (a1b3) que corresponde a (48 horas) y (36°C) en el medio de sabouraud dextrosa, es el más idóneo en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol a una temperatura de 36°C durante 48 horas.

Gráfico 5. Promedios de los tratamientos en el índice de proceso.



Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación del gráfico**

En el gráfico 5, se observa que el mejor promedio entre tratamientos, es el tratamiento t3 (a1b3) que corresponde a (48 horas) y (36°C) en el medio de sabouraud dextrosa, dando mejores condiciones en el color de la cepa, tamaño de la cepa, forma de la cepa y el contorno de la cepa en el índice de proceso de aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

- **Variable porcentaje de alcohol.**

Tabla 32. Análisis de la varianza del porcentaje de alcohol de las seis cepas.

F de V	G.L	C.M					
		CEPA 1	CEPA 2	CEPA 3	CEPA 4	CEPA 5	CEPA 6
Repeticiones	1	0,0085 n.s	0,0075 n.s	0,0133 n.s	0,0065 n.s	0,0133 n.s	0,0352 n.s
Factor A	1	0,0147 n.s	0,3008 n.s	0,8008 *	0,0120 n.s	0,0075 n.s	0,1752 n.s
Factor B	2	0,0709 n.s	0,1758 n.s	0,5106 *	0,1699 n.s	0,1327 n.s	0,3752 n.s
Intersección AB	2	0,1171 n.s	0,2608 n.s	0,3127 *	0,3534 n.s	0,0075 n.s	0,0377 n.s
Error	5	0,0420	0,0695	0,0083	0,0441	0,1327	0,0492
Total	11						
Promedio (% A)		0.0506	0.1629	0.3291	0.1172	0.0587	0.1345
C.V (%)		13.50	14.99	6.64	16.46	14.97	15.89

* significativo

n.s. no

significativo

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 32, el análisis de varianza para en porcentaje de alcohol se encontró diferencia significativa en la cepa 3 para el Factor A (Horas), Factor B (Temperatura) y en la Intersección A * B, en las cepas 1, 2, 4, 5 y 6 no se encontró diferencia significativa en ninguno de los factores de estudio.

El promedio general del porcentaje de alcohol en la cepa 1 fue de 0,0506 % y un Coeficiente de Variación de 13,50 %, de la cepa 2 fue 0,1629 % y un Coeficiente de Variación de 14,99 %, de la cepa 3 fue 0,3291% y un Coeficiente de Variación es de 6.64%, el promedio de la cepa 4 fue 0,1172 % y un Coeficiente de Variación es de 16.46%, el promedio de la cepa 5 fue 0,0587

% y un Coeficiente de Variación es de 14.97% y de la cepa 6 fue 0,1345% y un Coeficiente de Variación es de 15.89%. Por lo tanto se realizara la prueba de Tukey para la cepa 3.

Tabla 33. Prueba de Tukey al 5% para el análisis del porcentaje de alcohol en el Factor A de las variedades de horas.

HORAS	Promedio	Rangos
a2	1,6333	A
a1	1,1167	B

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 33, al realizar la prueba de Tukey al 5%, para el Factor A de la variable porcentaje de alcohol para la cepa 3. Se encontró 2 rangos de significación, en el primer rango se ubicaron las 72 horas de incubación con un promedio general de 1,6333 de porcentaje, en el segundo rango se ubicaron las 48 horas de incubación con un promedio de 1,1167 de porcentaje de alcohol.

Tabla 34. Prueba de Tukey al 5% para el análisis del porcentaje de alcohol en el Factor B de las variedades de temperaturas.

TEMPERATURA	Promedio	Rangos
b3	1,7875	A
b1	1,1750	B
b2	1,1625	B

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 34, al realizar la prueba de Tukey al 5%, para el Factor B de la variable de porcentaje de alcohol para la cepa 3, se encontraron 3 rangos, en el primer rango se ubicó la temperatura de 36°C con un promedio general de 1.7875 de porcentaje, en el segundo rango se ubicó la temperatura de 27°C con un promedio de 1.1750 de porcentaje, en el tercer rango se colocó la temperatura de 32°C con un promedio de 1.1625 de porcentaje de alcohol.

Tabla 35. Comportamiento de los promedios del porcentaje de alcohol de las cepas en la intersección entre el Factor A*B.

TRATAMIENTOS	Promedio	Rangos
t3 (a1b3)	1,8500	A
t6 (a2b3)	1,7250	A
t4 (a2b1)	1,6250	A
t5 (a2b2)	1,5500	A
t2 (a1b2)	0,7750	B
t1 (a1b1)	0,7250	B

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 35, en la prueba de Tukey al 5%, para la interacción A*B de la Variable porcentaje de alcohol de la cepa 3 se encontraron 2 rangos, en el primer rango se ubicaron las intersecciones t3 (a1b3) con un promedio de 1,8500, t6 (a2b3) con un promedio de 1,7250, t4 (a2b1) con un promedio de 1,6250 y t5 (a2b2) con el promedio de 1,5500, en el segundo rango se ubicaron las Interacciones t2 (a1b2) con un promedio de 0,7750 y t1 (a1b1) con un promedio de 0,7250.

De la cepa tres que es la de alta producción de alcohol en la investigación se vio conveniente realizar el crecimiento de UFC/ml tanto en el caldo nutritivo como en la malta base de cerveza

- **Variable crecimiento de UFC/ml. Caldo nutritivo.**

Tabla 36. Análisis de la varianza de crecimiento de UFC/ml. Caldo nutritivo

FV	SC	GL	CM	F	F.C	P
Factor A	16,3333	1	16,3333	0,1651	6.608	0,7013 n.s.
Factor B	1741,1667	2	870,5833	8,7997	5.786	0,0230 *
Repeticiones	408,3333	1	408,3333	4,1274	6.608	0,0979 n.s.
A * B	3516,1667	2	1758,0833	17,7704	5.786	0,0053 *
Error	494,6667	5	98,9333			
Total	6176,6667	11				
C.V.%	6,97					

**Altamente significativo

*Significativo

n.s. No significativo

Factor A (variación de horas)

Factor B (variación de temperatura)

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 36, se observó que en la variable crecimiento de UFC/ml de la cepa se estableció diferencia estadística significativa para el factor B (variación de temperaturas) en el estudio, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, lo cual indico que las dos variaciones de tiempo y las tres variaciones de temperatura si influyen sobre el crecimiento de UFC/ml de las cepas aisladas, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo en el crecimiento de la cepa, en el nivel de confianza del 95% según la regla de decisiones por tal razón fue necesario aplicar prueba de significación de Tukey al 5%.

El coeficiente de variación, es confiable lo que significa que de 100 observaciones, el 6.97% van a salir diferentes y el 93.03% de observaciones serán confiables es decir serán valores iguales para todos los tratamientos elaborados, de acuerdo al crecimiento de UFC/ml de la cepa el cual manifestó un buen rango de incubación, es decir que las temperaturas utilizadas tuvieron una correcta aplicación.

En conclusión se menciona que las variaciones de tiempos y las temperaturas influyen en el contorno de las cepas en el aislamiento, selección e identificación de cepas alcohólicas.

Tabla 37. Prueba de Tukey al 5% para el análisis de crecimiento UFC/ml en el Factor B de las variedades de temperaturas.

FACTOR B	MEDIAS	RANGO	
b3	157,2500	A	
b2	143,0000	A	B
b1	127,7500	B	

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

b1 27°C

b2 32°C

b3 36°C

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 37, en la prueba de Tukey al 5% para el análisis del contorno de la cepa para el factor B, referente a la variación de temperatura existe una diferencia significativa de la variable b3 que es la temperatura que presenta mejores características del contorno requerido, mientras que el b2 y b1 son los que presentan menores características y condiciones en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

En conclusión, se menciona que la mejor temperatura para el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol es b3 (36°C) con un promedio de 157,2500 permitiendo el crecimiento de los microorganismos en esta temperatura donde se presentan características requeridas en el tamaño de las cepas de alta producción de alcohol.

Tabla 38. Comportamiento de los promedios del crecimiento UFC/ml en la intersección entre el Factor A*B

TRATAMIENTOS	MEDIAS	RANGO	
t3 (a1b3)	183,00	A	
t5 (a2b2)	156,00	A	B
t4 (a2b1)	137,00	B	
t6 (a2b3)	132,00	B	
t2 (a1b2)	130,00	B	
t1 (a1b1)	119,00	B	

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

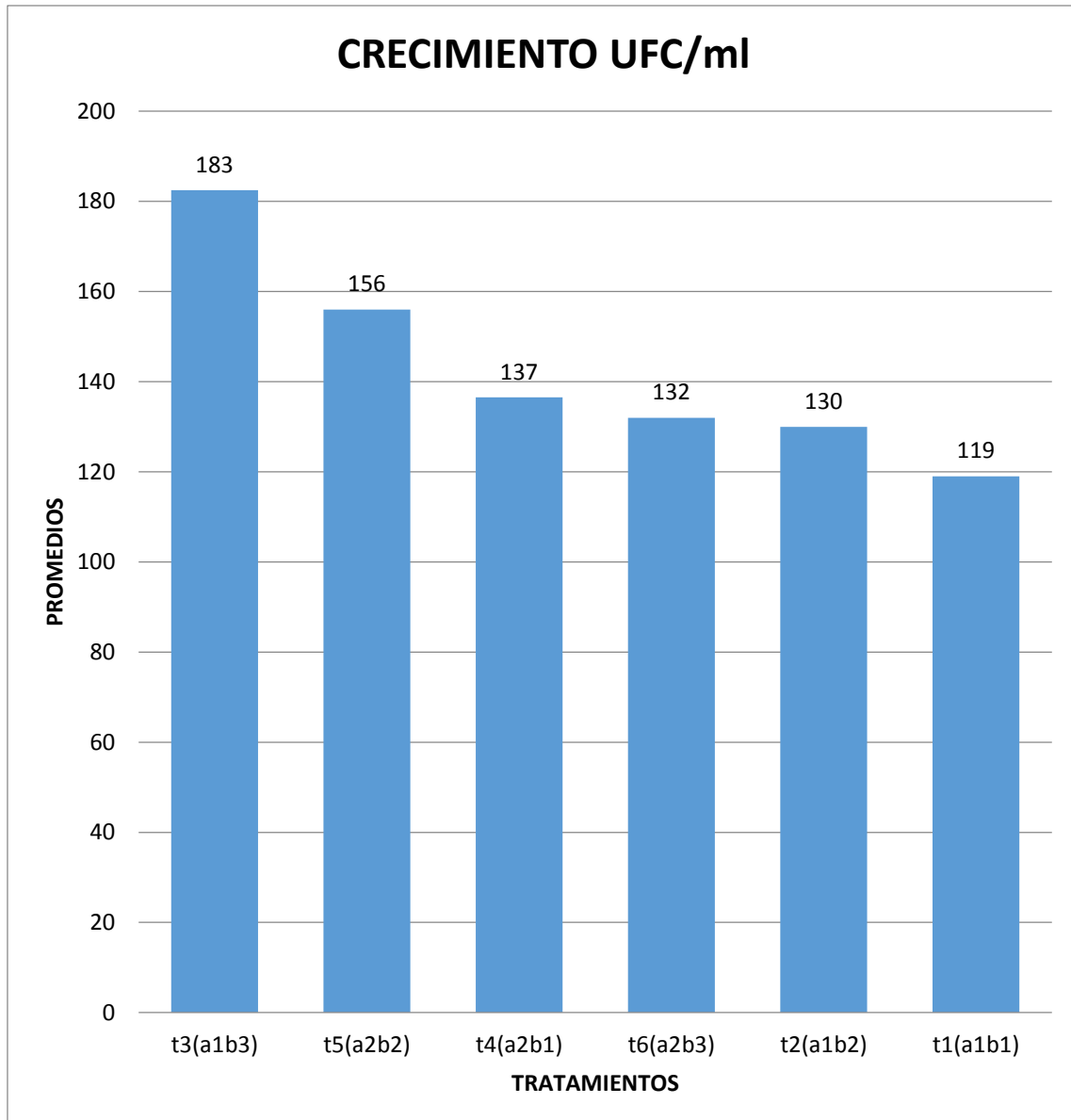
Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 38, en la interacción entre los factores A * B indican que el mejor tratamiento es el **t3 (a1b3)** que influye en el crecimiento de UFC/ml de la cepa aislada, seleccionada e identificada a 36°C por 48 horas.

En conclusión, se menciona que el **t3 (a1b3)** que corresponde al 48 horas por 36°C, en el medio de cultivo sabouraud dextrosa influyen en el crecimiento de UFC/ml de microorganismos en la intersección entre los factores A * B, determinando el crecimiento de UFC/ml característico de las cepas en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

Gráfico 6. Comportamiento de los promedios del crecimiento de UFC/ml de las cepas de la intersección entre el Factor A*B



Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación del gráfico.**

En el gráfico 6, el crecimiento de la UFC/ml de la cepa, nos indica que el mejor tratamiento es el t3 (a1b3) que corresponde a (48 horas y 36°C en el medio de sabouraud dextrosa) en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol ubicado en el rango homogéneo A presentando un mejor crecimiento de UFC/ml con un promedio de 183.

- **Variable crecimiento de UFC/ml. Mosto base de cerveza.**

Análisis de varianza en las características morfológicas macro y microscópicas en el crecimiento de UFC/ml de la cepa en el mosto base de cerveza con dos variedades de tiempos y en tres temperaturas diferentes.

Tabla 39. Análisis de la varianza de crecimiento de UFC/ml.

FV	SC	GL	CM	F	F.C	P
Factor A	1200,0000	1	1200,0000	5,1948	6.608	0,0716 n.s.
Factor B	13601,1667	2	6800,5833	29,4398	5.786	0,0017 *
Repeticiones	243,0000	1	243,0000	1,0519	6.608	0,3521 n.s.
A * B	12016,5000	2	6008,2500	26,0097	5.786	0,0023 *
Error	1155,0000	5	231,0000			
Total	28215,6667	11				
C.V.%	6,75					

**Altamente significativo
*Significativo
n.s. No significativo
Factor A (variación de horas)
Factor B (variación de temperatura)

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 39, se observó que en la variable crecimiento de UFC/ml de la cepa se estableció diferencia estadística significativa para el factor B (variación de temperaturas) en el estudio, por lo tanto se rechaza la hipótesis nula y se acepta la hipótesis alternativa, lo cual indico que las dos variaciones de tiempo y las tres variaciones de temperatura si influyen sobre el crecimiento de UFC/ml de las cepas aisladas, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo en el crecimiento de la cepa, en el nivel de confianza del 95% según la regla de decisiones por tal razón fue necesario aplicar prueba de significación de Tukey al 5%.

El coeficiente de variación, es confiable lo que significa que de 100 observaciones, el 6.75% van a salir diferentes y el 93.25% de observaciones serán confiables es decir serán valores iguales para todos los tratamientos elaborados, de acuerdo al crecimiento de UFC/ml de la cepa el cual manifestó un buen rango de incubación, es decir que las temperaturas utilizadas tuvieron una correcta aplicación.

En conclusión se menciona que las variaciones de tiempos y las temperaturas influyen en el contorno de las cepas en el aislamiento, selección e identificación de cepas alcohólicas.

Tabla 40. Prueba de Tukey al 5% para el análisis del crecimiento UFC/ml en el Factor B de las variedades de temperaturas.

FACTOR B	MEDIAS	RANGO
-----------------	---------------	--------------

b3	260,25	A
b2	235,50	A
b1	179,75	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

b1 27°C

b2 32°C

b3 36°C

Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 40, en la prueba de Tukey al 5% para el análisis del contorno de la cepa para el factor B, referente a la variación de temperatura existe una diferencia significativa de la variable b3 que es la temperatura que presenta mejores características del contorno requerido, mientras que el b2 y b1 son los que presentan menores características y condiciones en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

En conclusión, se menciona que la mejor temperatura para el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol es b3 (36°C) con un promedio de 260,2500 permitiendo el crecimiento de los microorganismos en esta temperatura donde se presentan características requeridas en el tamaño de las cepas de alta producción de alcohol.

Tabla 41. Comportamiento de los promedios del crecimiento UFC/ml en la intersección entre el Factor A*B.

TRATAMIENTOS	MEDIAS	RANGO	
t3 (a1b3)	295,00	A	
t5 (a2b2)	268,00	A	B
t6 (a2b3)	226,00		B
t4 (a2b1)	213,00		B
t2 (a1b2)	204,00	B	C
t1 (a1b1)	147,00		C

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

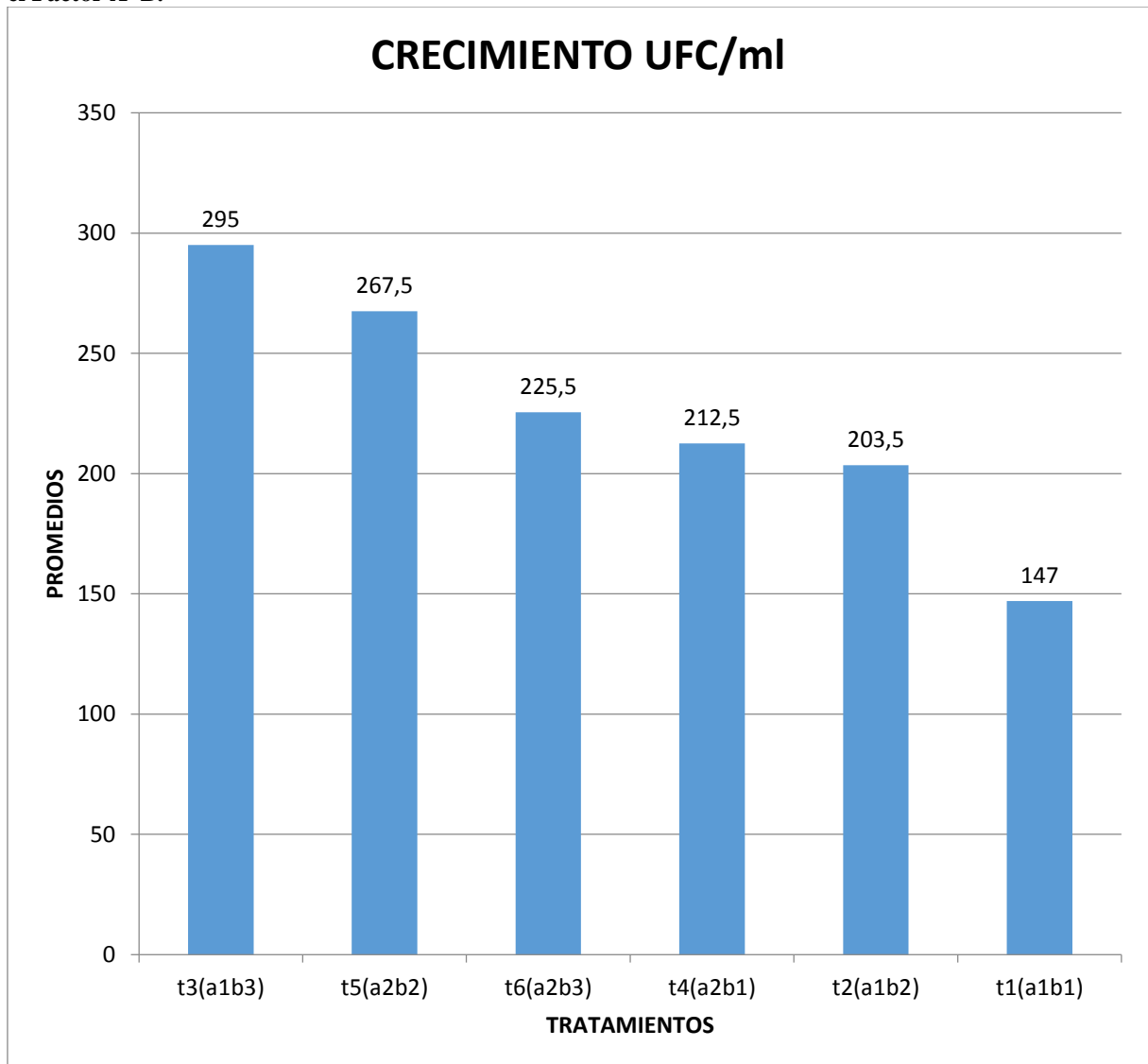
Elaborado por: Autor

- **Análisis e interpretación de la tabla**

De acuerdo a los resultados obtenidos en la tabla 41, en la interacción entre los factores A * B indican que el mejor tratamiento es el **t3 (a1b3)** que influye en el crecimiento de UFC/ml de la cepa aislada, seleccionada e identificada a 36°C por 48 horas.

En conclusión, se menciona que el **t3 (a1b3)** que corresponde al 48 horas por 36°C, en el medio de cultivo sabouraud dextrosa influyen en el crecimiento de UFC/ml de microorganismos en la intersección entre los factores A * B, determinando el crecimiento de UFC/ml característico de las cepas en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol.

Gráfico 7. Comportamiento de los promedios del crecimiento de UFC/ml de la cepa en la intersección entre el Factor A*B.



Elaborado por: Autor

Análisis e interpretación del gráfico.

En el gráfico 7, el crecimiento de la UFC/ml de la cepa, nos indica que el mejor tratamiento en el t3 (a1b3) que corresponde a (48 horas y 36°C en el medio de sabouraud dextrosa) en el aislamiento, selección e identificación de una cepa de alta producción de alcohol ubicado en el rango homogéneo A presentando un mejor crecimiento de UFC/ml con un promedio de 295.

a) Depreciación de maquinaria

Tabla 42. Depreciación de maquinaria

Activo fijo	Costo	Depreciación %	Anual	Mensual	Diario
Molino	\$ 80	10%	\$ 8	\$ 0,67	\$ 0,022
Ollas	\$ 50	10%	\$ 5,00	\$ 0,41	\$ 0,013
Mesa de trabajo	\$ 1350	10%	\$ 135	\$ 11,10	\$ 0,37
Balanza	\$ 200	10%	\$ 20	\$ 1,64	\$ 0,05
Tanque de enfriamiento	\$ 1080	10%	\$ 108	\$ 8,88	\$ 0,30
Cocina Industrial	\$ 75	10%	\$ 7,5	\$ 0,62	\$ 0,021
Refrigerador	\$ 250	10%	\$ 25,00	\$ 2,05	\$ 0,07
Incubadora	\$ 1500	10%	\$ 150	\$ 12,33	\$ 0,41
Autoclave	\$ 1500	10%	\$ 150	\$ 12,33	\$ 0,41
Cocina de placa	\$ 200	10%	\$ 20	\$ 1,64	\$ 0,05
Termómetro	\$ 25	10%	\$ 2,5	\$ 0,21	\$ 0,007
Total					\$ 1,723

Elaborado por: Autor

11. IMPACTOS

11.1. Impacto técnico

El proyecto proporciona una tecnología basada en los resultados de los procedimientos, y guías establecidas como también el adecuado manejo de documentación dentro de los procesos de aislamiento, selección e identificación de los microorganismos (levaduras)

El resultado será un impacto positivo ya que se está inclinándose a iniciar una innovación en este campo para la aplicación de la misma y poder reducir costos.

11.2. Impactos social

La realización de este proyecto representará un impacto social positivo que brindará a los productores una nueva alternativa en el proceso de fermentación propia de la cerveza, desarrollando sus capacidades productoras, generando un desarrollo social en el sector productivo de este producto dando la alternativa de mejorar sus procesos y obtener un producto de calidad con el mismo producto.

11.3. Impacto ambiental

La cerveza artesanal es un producto 100% natural, pues se elabora con ingredientes de calidad, para poder garantizar la obtención de un producto seguro. Debido a que no contiene ni conservantes, ni aditivos, ni estabilizantes de espuma, la carbonatación que posee es la que se produce íntegramente durante la fermentación de modo natural, por lo que mantiene todas sus propiedades organolépticas. La cerveza artesanal es una cerveza viva, consentida una a una por las manos del maestro cervecero, es decir no es una producción en masa en donde lo principal es la calidad del producto y no la cantidad, es controlada, por lo cual los impactos ambientales son mínimos. El proyecto beneficiaría al ambiente ya que se aprovecharía todo para la obtención de la levadura y no tendría ningún impacto ambiental.

11.4. Impacto económico

La aplicación de la nueva levadura propia de la cerveza y la materia prima que se utiliza beneficiaría económicamente, ya que se reduciría costos ya que se contaría con una levadura propia y sin costo como es la levadura comercial que se ha utilizado anteriormente, de la misma manera a las personas que lo consuman, otorgándoles un producto de calidad.

12. PRESUPUESTO PARA LA ELABORACIÓN DEL PROYECTO

Tabla 43. Presupuesto para la elaboración del proyecto.

Equipo				
Recursos	Cantidad	Unidad	Valor Unitario \$	Valor Total \$
Molino	1	-	50	50
Ollas	2	-	5,00	10,00

Mesa de trabajo	1	-	135	135
Balanza	1	-	20	20
Tanque de enfriamiento	1	-	108	108
Cocina Industrial	1	-	7,5	7,5
Refrigerador	1	-	25,00	25,00
Termómetro	1	-	2,5	2,5
Incubadora	1	-	\$ 150	150
Autoclave	1	-	\$ 150	150
Cocina de placas	1		\$ 20	20
Sub Total				678
Materiales E Insumos				
Recursos	Cantidad	Unidad	Valor Unitario \$	Valor Total \$
Grano de quinua	100,000	g	50,00	50,0
Malta de quinua	9072	g	1,17	10,61
Lúpulo	500	g	0,043	21,50
Clarificante	500	g	0,039	19,50
Agua	3	-	2	6
Hielo	10,000	g	2	2
Cascara de arroz	100,000	g	4	4
Biomasa dela cerveza artesanal	2000	ml	0,01	20
Agua destilada	2000	ml	0,00125	2,5
Agar Sabouraud dextrosa	1000	g	40	80
Medio de cultivo lisina	1000	g	40	80
Cajas Petri	20	-	2,50	50
Mechero de bunsen	1	-	20	20
Alcohol potable	1000	ml	0,001	1,00
Asas de microbiología	2	-	1,25	2,5
Porta y cubreobjetos	5	-	0.30	1,50
Azul de metileno	1	-	3	3
Pipetas	10	-	2.5	25
Papel aluminio	5	-	2	10
Cerveza de quinua	2	Lote	21,34	42,68
Materiales de la cerveza	3	-	5	15
Tela lienzo	2	-	4	8
Sub Total				474,79
Movilización y Alimentación				
Recursos	Cantidad	Unidad	Valor Unitario \$	Valor Total \$
Movilización a los Laboratorios y a la revisión del proyecto.	50	Días	4,00	200,00

Alimentación	50	Días	5,00	250,00
Sub Total				450,00
Material Bibliográfico e Impresiones				
Recursos	Cantidad	Unidad	Valor Unitario \$	Valor Total \$
Hojas de papel bond	2	Resma	3,50	7,00
Otras impresiones y copias	250	Hojas	0,10	25,00
Anillados	10	-	6,50	65,00
Empastados	2	-	22,00	44,00
Libreta de apuntes	1		1,25	1,25
Grapadora	1		3,50	3,5
Computadora	1		600,00	600,00
Memoria USB	1		8,00	8,00
CD	2		1,50	3,00
Lápices y esferos	4		0,30	1,20
Carpeta	1		0,75	0,75
Sub Total				758,7
Análisis del Mejor Tratamiento				
Recursos	Cantidad	Unidad	Valor Unitario \$	Valor Total \$
Análisis microbiológico	1	-	30,24	30,24
Transporte	2	-	15,00	30,00
Alimentación	2	-	15,00	30,00
Sub Total				90,24
Imprevistos	10%			245,173
Total				2696,903

Elaborado por: Autor

- **Balance de costo del mejor tratamiento.**

Balance económico para el aislamiento, selección e identificación de una cepa alcohólica

Tabla 44. Análisis económico para el aislamiento, selección e identificación de una cepa alcohólica.

SUSTANCIAS Y REACTIVOS	CANTIDAD	VALOR UNITARIO	VALOR TOTAL
Sedimentos de cerveza	2 ml	0,01	0,020
Suero fisiológico	50 ml	0,002	0,100
Medio de cultivo Sabouraud Dextrosa	10 g	0,25	2,500
Agua destilada	100 ml	0,0125	1,250
TOTAL			\$ 3,870

Elaborado por: Autor

Tabla 45. Otros rubros.

OTROS RUBROS	%	TOTAL
Mano de obra	10	0,3870
Desgaste del equipo	5	0,1935
Energía	5	0,1935
TOTAL		\$ 0,774

Elaborado por: Autor

- **Costos de producción**

Tabla 46. Costo mano de obra.

Costos totales	\$ 3,870 100 %
	10 % X = 0,3870
Costo mano de obra	X = 0,3870

Elaborado por: Autor

Tabla 47. Desgaste de equipo

Costos totales	\$ 3,870 100 %
	5 % X = 0,1935
Desgaste de equipo	X = 0,1935

Elaborado por: Autor

Tabla 48. Energía.

Costos totales	\$ 3,870 100 %
	5 % X = 0,1935
Energía	X = 0,1935

Elaborado por: Autor

Tabla 49. Costo de la cepa.

Costos totales	Valor total= gasto total + otros rubros
Valor total= 3,870 + 0,774	
Valor total= \$ 4,644	
1 g de la cepa aislada, seleccionada e identificada tiene un costo de \$ 4,644	

Elaborado por: Autor

- Balance económico para la obtención de biomasa de levadura en caldo de Sabouraud dextrosa.

Tabla 50. Análisis económico para la obtención de biomasa de levadura en caldo sabouraud dextrosa.

SUSTANCIAS Y REACTIVOS	CANTIDAD	VALOR UNITARIO	VALOR TOTAL
Levadura aislada seleccionada e identificada	1 g	4,6440	4,6440
Caldo de cultivo de Sabouraud dextrosa	50 g	0,1000	5,0000
Agua destilada	1000 ml	0,00125	1,2500
Agua peptonada	1000 ml	0,001	1,0000
TOTAL			\$ 11,894

Elaborado por: Autor

Tabla 51. Otros rubros.

OTROS RUBROS	%	TOTAL
Mano de obra	10	1,1894
Desgaste del equipo	5	0,5947
Energía	5	0,5947
TOTAL		\$ 2,3788

Elaborado por: Autor

- Costos de producción

Tabla 52. Costo mano de obra.

Costos totales	\$ 11,894 100 % 10 % X = 1,1894
Costo mano de obra	X = 1,1894

Elaborado por: Autor

Tabla 53. Desgaste de equipo.

Costos totales	\$ 11,894 100 % 5 % X = 0,5947
Desgaste de equipo	X = 0,5947

Elaborado por: Autor

Tabla 54. Energía.

Costos totales	\$ 11,894 100 % 5 % X = 0,5947
Energía	X = 0,5947

Elaborado por: Autor

Tabla 55. Costo de biomasa de levadura.

Costos totales	Valor total= gasto total + otros rubros
Valor total= 11,894 + 2,3788	
Valor total= \$ 14,2728	
500 g de biomasa de levadura tiene un costo de: \$ 14,2728	
11,5 g de biomasa de levadura tiene un costo de: \$ 0,3282744	

Elaborado por: Autor

- **Comparación del valor de las levaduras comerciales con la levadura obtenida**

Tabla 56. Comparación de costos.

LEVADURA	PRECIO	PESO
SAFALE US-05	\$ 4,50	11,5 g
SAFALES-04	\$ 4,50	11,5 g
SAFBREW S-33	\$ 4,50	11,5 g
SAFBREW T-58	\$ 4,50	11,5 g
SAFLAGER S-189	\$ 4,50	11,5 g
SAFLARGER S-23	\$ 4,50	11,5 g
BIOMASA DE QUINUA	\$ 0,33	11,5 g

Elaborado por: Autor

Analisis y discusion de la tabla.

De acuerdo a la tabla 56, el costo de las levaduras comerciales utilizadas en la fermentacion alcoholica de la cerveza es superior con un valor de \$ 4,50 por cada 11,5 gramos, en cuanto al costo de la levadura de quinua que se investigo es de menor costo con un precio de \$ 0,33 por cada 11,5 gramos, lo que le hace diferente es el tiempo que se demora en fermentar ya que la levadura de quinua se redujo a ocho días en finalizar la fermentación alcohólica, con respecto a las levaduras comerciales que su ciclo de fermentación esta entre los 11 a 15 días.

13. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

13.1. CONCLUSIONES

- Se logró aislar, seleccionar e identificar una cepa de alta producción de alcohol del género “*Sacharomyces cerevisiae*”, de los sedimentos que quedan de la fermentación alcohólica de la cerveza artesanal con dos variaciones de tiempo y tres variaciones de temperatura, resultando que el tiempo es de 48 horas con una temperatura de 36°C en el medio de cultivo sabouraud dextrosa, mediante los resultados de análisis de laboratorio realizados en la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Central del Ecuador, donde se confirmó el género *Sacharomyces* y posteriormente se confirmó mediante la aplicación de esta biomasa en mediciones de alcohol que esta posee 1,85% de alcohol en tres días de fermentación y para terminar el ciclo de fermentación de esta sería en unos 6 ya que una cerveza esta entre 4 a 6% de alcohol, lo que reduce el tiempo de fermentación con respecto a las levaduras comerciales.
- Se logró evaluar las características morfológicas macro y microscópicas de las UFC/ml en los diferentes tratamientos en el aislamiento primario, donde se determinó que en mejor tratamiento es el a1b3 (en el factor A, tiempo de 48 horas, en el factor B, temperatura de 36°C) en el medio de cultivo sabouraud dextrosa, ya que las levaduras manifestaron un buen rango de incubación, es decir que este tratamiento fue el que presento mejores características en el proceso de aislamiento, selección e identificación de las mismas.
- Se realizó un balance económico del costo de producción de biomasa de levaduras donde se concluye que 500 g. de biomasa de levadura tiene un costo de 14,2728, en relación con 11,5 g. de biomasa de levadura tiene un costo de 0,33 centavos, en comparación a levaduras existentes en el mercado, es de un menor costo, por la producción del producto y el grano utilizado. En cuanto a la fermentación de la cepa el tiempo es reducido ya que en tres días alcanzo un promedio de 1,85% de alcohol a temperatura controlada de 36°C, esto quiere decir que si lo dejamos por más tiempo de fermentación y a la temperatura indicada la fermentación terminara antes que una levadura comercial que esta termina en 15 días.

13.2. RECOMENDACIONES.

- Para el aislamiento, selección e identificación de cepas de alta producción de alcohol se recomienda el manejo adecuado del laboratorio, cumpliendo con normas de asepsia y seguridad dentro del mismo.
- Se recomienda el uso y manejo adecuado de los equipos, materiales de laboratorio ya que de esta depende el correcto aislamiento, selección e identificación de la cepa de alta producción de alcohol.
- Se recomienda la adecuada esterilización de instrumentos, equipos y materiales utilizados en el aislamiento, selección e identificación de la cepa de alta producción de alcohol.
- Para el aislamiento, selección e identificación de la cepa de alta producción de alcohol se recomienda el uso del tratamiento t3, a1b3 (en el factor A, tiempo de 48 horas, en el factor B, temperatura de 36°C), en el medio de cultivo Sabouraud Dextrosa son los que presentan mejores características.

14. BIBLIOGRAFÍA

- Álvarez y Cola. 2014 “Aislamiento y selección de levaduras fermentativas de aguamiel de dos variedades de agave cabuya negra (*agave americana L.*) y agave sisal (*agave sisalana P.*) en tres medios de cultivo y su aplicación en procesos biotecnológicos en los laboratorios académicos de la carrera de ingeniería agroindustrial de la Universidad Técnica de Cotopaxi en el periodo 2014 - 2015”.
- Aparicio, S. (2000) "Cinética del proceso de fermentación alcohólica del mosto de cerveza".
- Cáceres García , J. C., & Reyna López, A. (2002). Modelamiento microbiológico para la levaduras *Saccharomyces cerevisiae*. Universidad de la Sabana, Facultad de ingeniería. Ingeniería en Agroindustria.
- Código Alimentario Español (2006), Decreto N° 2126, Capítulo XII, Artículo 1082. Disponible en red: http://www.anmat.gov.ar/alimentos/codigoa/Capitulo_XIII.pdf
- García Garibay, M., Quintero Ramírez , R., & López Munguía Canales, A. (2004). Biotecnología Alimentaria. México : Limusa.
- Guamán, C., y J. Carbajal 2009. Caracterización e identificación de aislados de levaduras carotenogénicas de varias zonas naturales del Ecuador. *Universitas Scientiarum* 14: 187-197.
- Hidalgo Ortiz Jessica Leonor. Tulcanaza Pala Fernanda Vanessa 2016. “INDUSTRIALIZACIÓN DE GRANOS ANDINOS” CERVEZA ARTESANAL DE QUINUA “ATIY”.
- Jolly, N. P., O. P. H. Augustyn, and I. S. Pretorius 2003. The occurrence of Non-*Saccharomyces cerevisiae* yeast species over three vintages in four vineyards and grape must from four production regions of the Western Cape, South Africa. *S. Afr. J. Enol. Vitic.* 24: 35-42.
- Kurtzman C., Fell, J., 1999. *The Yeast, A taxonomic study*. 4a edición. Elsevier. 16-1055p.
- Linares, M. y Solis, F. (2007). Identificación de Levaduras. *Revista Iberoamericana de Micología*, volumen 1.

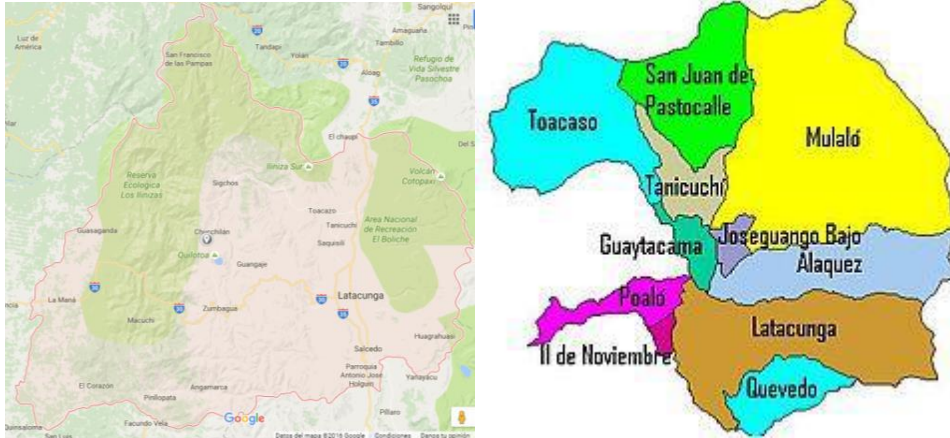
- Linares, S., & Solis, C. (2011). Identificación de las levaduras. Iberoamericana de Microbiología.
- López, A., García, G.M., Quintero, R.R., Lopez - Munguia A., Canales, I. 2002. Biotecnología alimentaria. Editorial Limusa. México. Pp. 263-312.
- López, A., García, G.M., Quintero, R.R., Lopez-Munguia A., Canales, I. 2002. Biotecnología alimentaria. Editorial Limusa. México. Pp. 263-312
- Manginot, C., J. Roustan, and J. Sablayrolles 1998. Nitrogen demand of different yeast strains during alcoholic fermentation. Importance of stationary phase. *Enzyme Microbiol. Tech.* 23: 511-517.
- Mercado, L., A. Dalcero, R. Masuelli, and M. Combina 2007. Diversity of *Saccharomyces* strains on grapes and winery surfaces: analysis of their contribution to fermentative flora of Malbec wine from Mendoza (Argentina) during two consecutive years. *Food Microbiol.* 24: 403-412.
- Miranda-Castilleja, Dalia E., Ortiz-Barrera, Eunice, Arvizu-Medrano, Sofía M., Ramiro-Pacheco, Juan, Aldrete-Tápia, Jesús A., & Martínez-Peniche, Ramón Á. (2015). Aislamiento, selección e identificación de levaduras *Saccharomyces* spp. nativas de viñedos en Querétaro, México. *Agrociencia*, 49(7), 759-773. Recuperado en 15 de marzo de 2018.
- Petrenko, O. (2005). Estudio de algunas características de las cepas de levaduras y de su rendimiento celular utilizando un medio de cultivo a base de suero lácteo. Universidad de Belgrano, Facultad de Exactas y Naturales, Buenos Aires- Argentina
- Pretorius, I. S. 2000. Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. *Yeast* 16: 675-729.
- Santillán, M., García Garibay, M., (1998). Biosíntesis de congenéricos durante las fermentaciones alcohólicas. *Revista Latinoamericana de Microbiología*.
- Sarmiento A., Herrera J. 2003. Obtención y caracterización de un banco de levaduras con potencial aplicación probiótica. Trabajo de grado (Microbiología Industrial). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. P 103.
- Senses-Ergul S., Ägoston R., Belák Ä., Deák T. 2005. Characterization of some yeast isolated from foods by traditional and molecular tests. *International Journal Of Food Microbiology*. Article in Press.

- Swistowicz, W. (1977). “El Cervecerero en la práctica”. Segunda Edición. Asociación de Maestros cerveceros de las Américas, Madison, Wisconsin. 413p.
- Torija, M. J., G. Beltran, M. Novo, M. Poblet, J. Guillamón, A. Más, and N. Rozés 2003. Effects of fermentation temperature and *Saccharomyces* species on the cell fatty acid composition and presence of volatile compounds in wine. *Int. J. Food Microbiol.* 85: 127-136.
- Valenzuela, V.R., (2007). Elaboración de cerveza artesanal de quínoa. Memoria para optar al título de ingeniero en la Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Químicas Farmacéuticas Departamento de Ciencias de los Alimentos y Tecnología Química.
- Vicent, V.M.C., Álvarez, B.S., Zaragoza, C.J.L. 2006. Química industrial orgánica. Editorial Universidad Politécnica de Valencia. España. pp. 67-93.
- Vicent, V.M.C., Álvarez, B.S., Zaragoza, C.J.L. 2006. Química industrial orgánica. Editorial Universidad Politécnica de Valencia. España. pp. 67-93.
- Villamil Y., Zapata Y. 1999. Caracterización de levaduras fermentadoras aisladas de frutas en descomposición con potencial aplicación productora de etanol. Trabajo de Grado (Microbiología Industrial). Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá.
- Villegas L. (2013) “Reingeniería de la planta de cerveza Artesanal cherusker”, Primera Edición, Quito – Ecuador.
- Win, A., Janda, Koneman., Procop, Schreckenberger. y Woods. (2008). *Diagnostico microbiológico, Texto y atlas en color.* 6 ed. Buenos Aires.

15. ANEXOS

Anexo 1. Lugar de ejecución.

Comunidades que Conforman el Proyecto de Granos Andinos



Ubicación: Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

Vista satelital.



Se observa las instalaciones de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales

- Área administrativa de la facultad CAREN
- Aulas de la facultad CAREN
- Laboratorio Académico de agroindustria facultad CAREN

**Anexo 2. Equipo de trabajo
2.1 (Tutor de Titulación)**

HOJA DE VIDA

ROJAS MOLINA JAIME ORLANDO

Dirección: Latacunga, La Merced

Tel: 0999084592

E-mail: jaime.rojas@utc.edu.ec



DATOS PERSONALES:

Número de cédula:	0502645435
Nacionalidad:	Ecuatoriana
País de residencia:	Ecuador
Provincia de Nacimiento:	Cotopaxi
Fecha de Nacimiento:	15/10/1984
Lugar de Nacimiento:	La matriz
Estado Civil:	Casado

GRADO ACADÉMICO:

- 2007, Químico en Alimentos
- INSTITUCIÓN: Universidad Central del Ecuador
- MAESTRÍA EN SISTEMAS DE GESTIÓN DE CALIDAD

EXPERIENCIA PROFESIONAL

- 2014-Actual
Fuentes San Felipe S.A.
Responsable Técnico
 - Mayo 2013 – Septiembre 2013
EQF el Queso Francés CIA. LTDA.
Responsable de Calidad
 - Mayo 2013 – Septiembre 2013
Deli Mundo CIA. LTDA.
Responsable de Calidad
 - 2010 – 2012
Colegio Nacional Primero de Abril. (Bachillerato Internacional)
Docente
 - 2009 – 2010
Athletic Spotting
-

2.2 (Estudiante)

HOJA DE VIDA

CORDONEZ SUNTASIG KLEBER TRAJANO**Dirección:** Pujilí, Barrio Monseñor Ruiz Navaz**Tel:** 0999957683**E-mail:** kleber.cordonez4@utc.edu.ec**DATOS PERSONALES:**

Número de cédula:	0503616294
Nacionalidad:	Ecuatoriana
País de residencia:	Ecuador
Provincia de Nacimiento:	Cotopaxi
Fecha de Nacimiento:	28/07/1993
Lugar de Nacimiento:	Pujilí
Estado Civil:	Casado

ESTUDIOS REALIZADOS

Estudios Primarios:	Escuela “Pedro Vicente Maldonado”
Estudios Secundarios:	Colegio Nacional “Provincia de Cotopaxi” Bachiller en Químico Biólogo
Estudio Superior:	Universidad Técnica de Cotopaxi

Anexo 3. Ficha técnica del lúpulo utilizado en la elaboración de la cerveza



Belgian Malts that Make Your Beer So Special

CASCADE

BREWING QUALITY

This hop displays quite exceptional levels of citrus moving more toward grapefruit characteristics. Works very well when matched up with some of the New Zealand aroma heavy weights such as Motueka or Riwaka. Typically employed in "new world" style pale ales creative brewers are also adding late into summer ales where its hallmark refreshing citrus aroma and oils profile give a refreshing summery finish.



ORIGIN / HISTORY

UK/New Zealand origins. This hop's origin stems from an early US breeding program circa 1956. It was the first commercially bred hop to emerge from the USDA-ARS program when released in 1972. It was bred from crossing an English Fuggle with a male selection believed to have been a crossing of Fuggle with the Russian variety Serebrianka.

ACID COMPONENTS

Alpha Acids	6.0-8.0% w/w
Beta Acids	5.0-5.5% w/w
Cohumulone	37.0% of alpha acids

Type T90 Hop Pellets



OIL COMPONENTS

Total Oil	1.1 ml/100 g
Caryophyllene	5.4% of whole oil
Farnesene	6.0% of whole oil
Humulene	14.5% of whole oil
Myrcene	53.6% of whole oil

Type Leaf Hops



Possible Substitutions:

Centennial, New Zealand B Saaz



Castle Malting - True Brewers know why!

Headquarters: Chemin du Couloury 1, 4800 Lambermont, Belgium
Malting Plant: Rue de Mons 94, 7970 Beloeil, Belgium

Tel.: + 32 (0) 87 662095; Fax: +32 (0) 87 352234; info@castlemalting.com; www.castlemalting.com
Registered Tourmai 79754; VAT: BE.455013430; IBAN: BE11 3700 9054 5648; BIC: BBRUBEBB

Anexo 4. Proceso de elaboración de la cerveza artesanal de quinua.

Fotografía 5. Germinado del grano a condiciones ambientales



Fuente: Autor.

Fotografía 6. Molido del grano.



Fotografía 7. Macerado.



Fotografía 8. Recirculado del grano



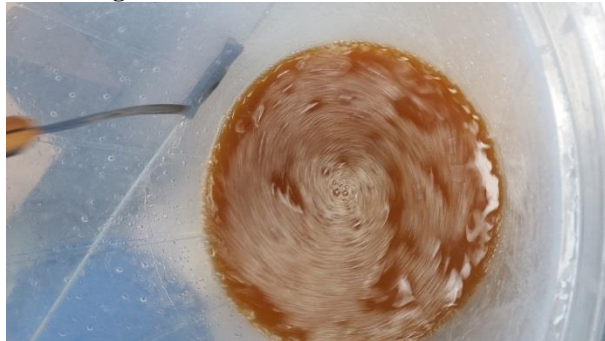
Fuente: Autor.

Fotografía 9. Fermentación del mosto.



Fuente: Autor.

Fotografía 10. Carbonatación de la cerveza



Fuente: Autor.

Fotografía 11. Embotellado de la cerveza



Fuente: Autor.

Fotografía 12. Sedimentos de la fermentación alcohólica de la cerveza.



Fuente: Autor.

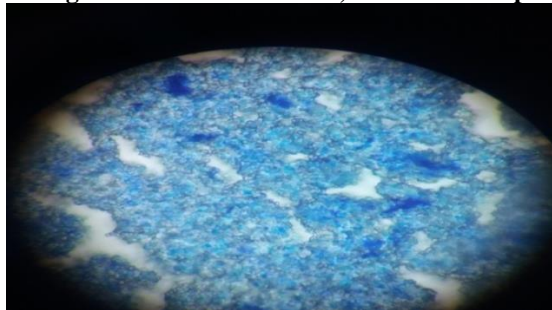
Anexo 5. Aislamiento de la cepa alcohólica.

Fotografía 13. Pesaje del agar sabouraud dextrosa.



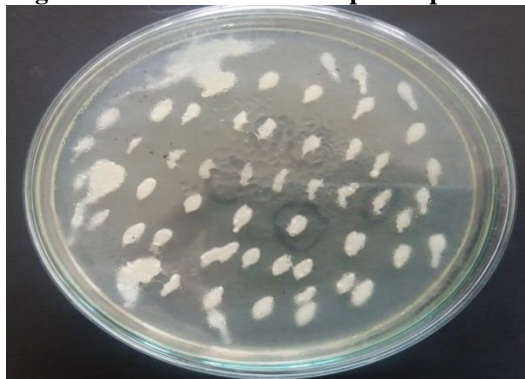
Fuente: Autor.

Fotografía 14. Celulas Gram, en el microscopio.



Fuente: Autor.

Fotografía 15. Aislamiento de cepas no purificadas



Fuente: Autor.

Fotografía 16. Aislamiento de cepas no purificadas 2.



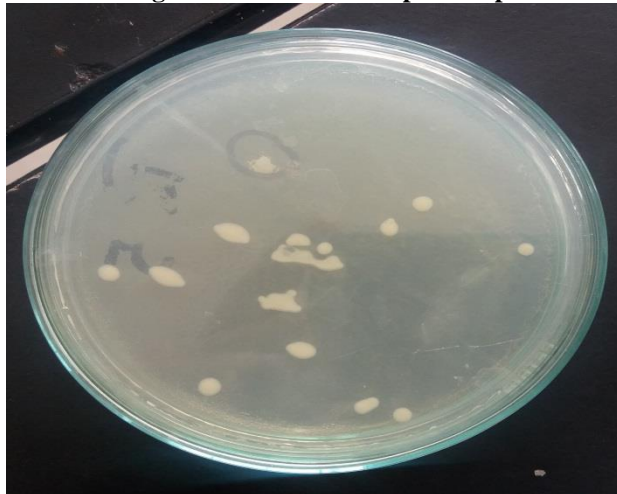
Fuente: Autor.

Fotografía 17. Cepas diferentes

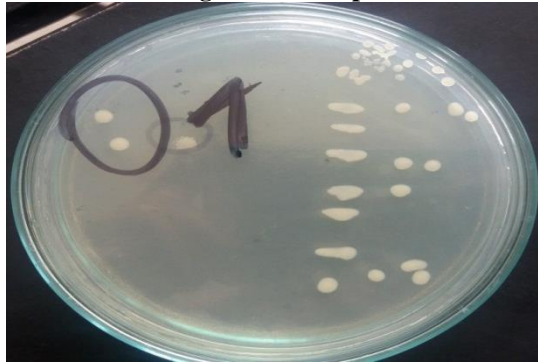
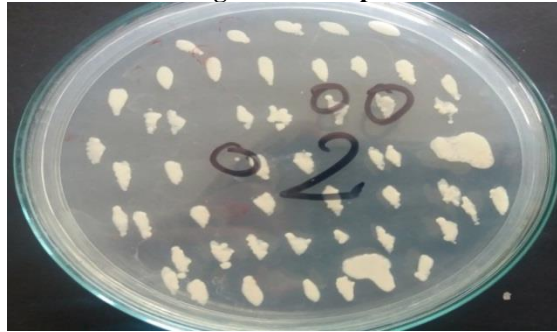
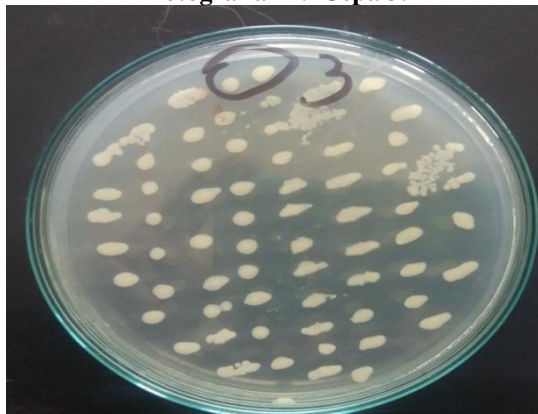


Fuente: Autor.

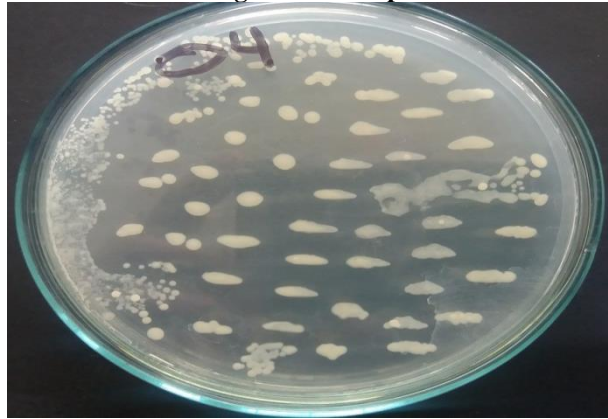
Fotografía 18. Diferente tipo de cepa.



Fuente: Autor.

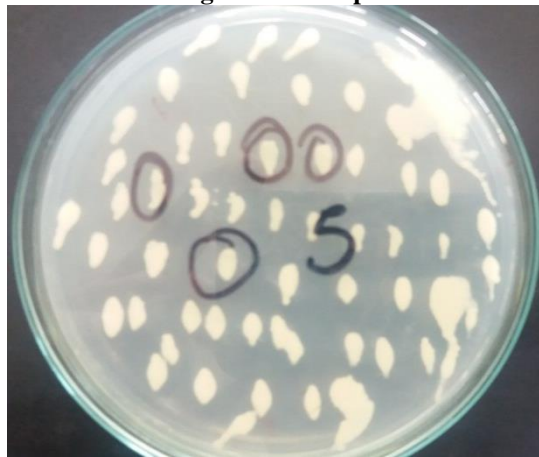
Anexo 6. Selección de las cepas alcohólicas.**Fotografía 19. Cepa 1.****Fuente:** Autor.**Fotografía 20. Cepa 2.****Fuente:** Autor.**Fotografía 21. Cepa 3.****Fuente:** Autor.

Fotografía 22. Cepa 4.



Fuente: Autor.

Fotografía 23. Cepa 3.



Fuente: Autor.

Fotografía 24. Cepa 4.



Fuente: Autor.

Anexo 7. Purificación de las cepas aisladas.

Fotografía 25. Cepas purificadas 1.



Fuente: Autor.

Fotografía 26. Cepa purificadas 2.



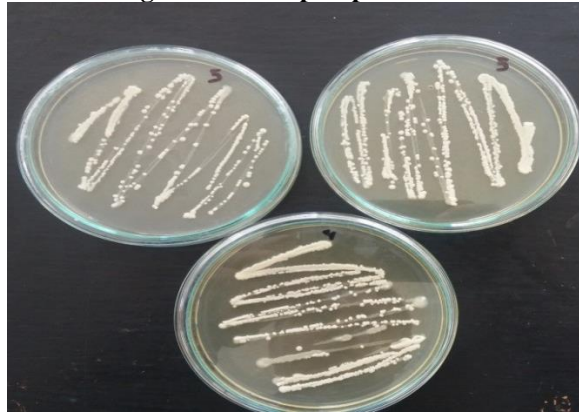
Fuente: Autor.

Fotografía 27. Cepas purificadas 4.



Fuente: Autor.

Fotografía 28. Cepas purificadas 3.



Fuente: Autor.

Fotografía 29. Cepas purificadas 5.



Fuente: Autor.

Fotografía 30. Cepas enviada para analisis.



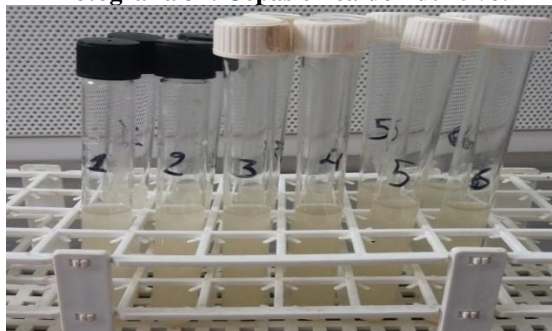
Fuente: Autor.

Fotografía 31. Cepas 3 enviada para analisis.



Fuente: Autor.

Fotografía 32. Cepas en caldo nutritivo.



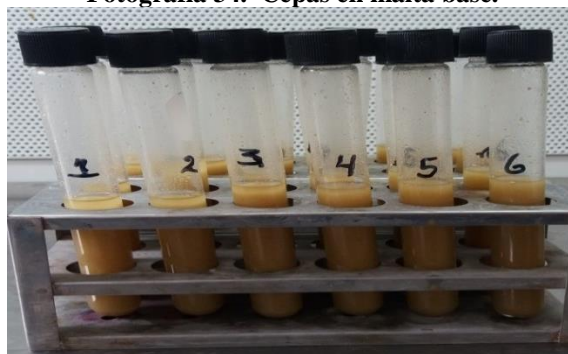
Fuente: Autor.

Fotografía 33. Cepas en malta base.



Fuente: Autor.

Fotografía 34. Cepas en malta base.



Fuente: Autor.

Anexo 8. Datos de la varianza respuesta características morfológicas color de la cepa.

N°	FACTOR A	FACTOR B	REPETICIONES	COLOR
t1	48 horas.	27°C	1	2
t2	48 horas.	32°C	1	3
t3	48 horas.	36°C	1	3
t4	72 horas.	27°C	1	3
t5	72 horas.	32°C	1	3
t6	72 horas.	36°C	1	3
t1	48 horas.	27°C	2	2
t2	48 horas.	32°C	2	3
t3	48 horas.	36°C	2	4
t4	72 horas.	27°C	2	3
t5	72 horas.	32°C	2	3
t6	72 horas.	36°C	2	3

Valores designados al color de la cepa	
Valores	Colores
1	Blanco opaco
2	Blanco brillante
3	Blanco cremoso
4	Blanquecino

Elaborado por: Autor.

Anexo 9. Datos de la varianza respuesta características morfológicas tamaño de la cepa.

N°	FACTOR A	FACTOR B	REPETICIONES	TAMAÑO Mm
t1	48 horas.	27°C	1	3,6
t2	48 horas.	32°C	1	3,8
t3	48 horas.	36°C	1	4,3
t4	72 horas.	27°C	1	3,5
t5	72 horas.	32°C	1	4
t6	72 horas.	36°C	1	4,2
t1	48 horas.	27°C	2	3,9
t2	48 horas.	32°C	2	3,8
t3	48 horas.	36°C	2	4,3
t4	72 horas.	27°C	2	3,6
t5	72 horas.	32°C	2	3,8
t6	72 horas.	36°C	2	4,1

Valores designados al tamaño de la cepa	
Valor mínimo	Valor máximo
1 mm	9 mm

Elaborado por: Autor.

Anexo 10. Datos de la varianza respuesta características morfológicas forma de la cepa.

N°	FACTOR A	FACTOR B	REPETICIONES	FORMA
t1	48 horas.	27°C	1	3
t2	48 horas.	32°C	1	3
t3	48 horas.	36°C	1	4
t4	72 horas.	27°C	1	3
t5	72 horas.	32°C	1	3
t6	72 horas.	36°C	1	2
t1	48 horas.	27°C	2	3
t2	48 horas.	32°C	2	3
t3	48 horas.	36°C	2	4
t4	72 horas.	27°C	2	3
t5	72 horas.	32°C	2	3
t6	72 horas.	36°C	2	3

Valores designados a la forma de la cepa	
Valores	Formas
1	Ovalado con irregularidades
2	Ovalado sin irregularidades
3	Redondo con irregularidades
4	Redondo sin irregularidades

Elaborado por: Autor.

Anexo 11. Datos de la varianza respuesta características morfológicas contorno de la cepa.

N°	FACTOR A	FACTOR B	REPETICIONES	CONTORNO
t1	48 horas.	27°C	1	3
t2	48 horas.	32°C	1	3
t3	48 horas.	36°C	1	4
t4	72 horas.	27°C	1	3
t5	72 horas.	32°C	1	2
t6	72 horas.	36°C	1	3
t1	48 horas.	27°C	2	2
t2	48 horas.	32°C	2	3
t3	48 horas.	36°C	2	4
t4	72 horas.	27°C	2	3
t5	72 horas.	32°C	2	2
t6	72 horas.	36°C	2	3

Valores designados al contorno de la cepa	
Valores	Colores
1	Regular sin volumen
2	Regular con volumen
3	Regular y plana
4	Irregular y plana

Elaborado por: Autor.

Anexo 12. Unidades formadoras de colonias en el caldo nutritivo. Cepa 3

Nº	FACTOR A	FACTOR B	REPETICIONES	UFC
t1	48 horas.	27°C	1	118
t2	48 horas.	32°C	1	136
t3	48 horas.	36°C	1	190
t4	72 horas.	27°C	1	155
t5	72 horas.	32°C	1	160
t6	72 horas.	36°C	1	132
t1	48 horas.	27°C	2	120
t2	48 horas.	32°C	2	124
t3	48 horas.	36°C	2	175
t4	72 horas.	27°C	2	118
t5	72 horas.	32°C	2	152
t6	72 horas.	36°C	2	132

Elaborado por: Autor.

Anexo 13. Unidades formadoras de colonias de la fermentación de la cerveza. Cepa 3

Nº	FACTOR A	FACTOR B	REPETICIONES	UFC
t1	48 horas.	27°C	1	133
t2	48 horas.	32°C	1	183
t3	48 horas.	36°C	1	293
t4	72 horas.	27°C	1	210
t5	72 horas.	32°C	1	273
t6	72 horas.	36°C	1	232
t1	48 horas.	27°C	2	161
t2	48 horas.	32°C	2	224
t3	48 horas.	36°C	2	297
t4	72 horas.	27°C	2	215
t5	72 horas.	32°C	2	262
t6	72 horas.	36°C	2	219

Elaborado por: Autor.

Anexo 14. Porcentaje de alcohol. Cepa 1

N°	FACTOR A	FACTOR B	REPETICIONES	% ALCOHOL
t1	48 horas.	27°C	1	1,00
t2	48 horas.	32°C	1	1,72
t3	48 horas.	36°C	1	1,85
t4	72 horas.	27°C	1	1,65
t5	72 horas.	32°C	1	1,50
t6	72 horas.	36°C	1	1,55
t1	48 horas.	27°C	2	1,50
t2	48 horas.	32°C	2	1,40
t3	48 horas.	36°C	2	1,85
t4	72 horas.	27°C	2	1,45
t5	72 horas.	32°C	2	1,35
t6	72 horas.	36°C	2	1,40

Elaborado por: Autor.

Anexo 15. Porcentaje de alcohol. Cepa 2

N°	FACTOR A	FACTOR B	REPETICIONES	% ALCOHOL
t1	48 horas.	27°C	1	1,70
t2	48 horas.	32°C	1	1,75
t3	48 horas.	36°C	1	2,10
t4	72 horas.	27°C	1	1,75
t5	72 horas.	32°C	1	1,60
t6	72 horas.	36°C	1	1,50
t1	48 horas.	27°C	2	1,65
t2	48 horas.	32°C	2	1,50
t3	48 horas.	36°C	2	2,80
t4	72 horas.	27°C	2	1,40
t5	72 horas.	32°C	2	1,75
t6	72 horas.	36°C	2	1,60

Elaborado por: Autor.

Anexo 16. Porcentaje de alcohol. Cepa 3

N°	FACTOR A	FACTOR B	REPETICIONES	% ALCOHOL
t1	48 horas.	27°C	1	0,80
t2	48 horas.	32°C	1	0,75
t3	48 horas.	36°C	1	1,90
t4	72 horas.	27°C	1	1,75
t5	72 horas.	32°C	1	1,50
t6	72 horas.	36°C	1	1,75
t1	48 horas.	27°C	2	0,65
t2	48 horas.	32°C	2	0,80
t3	48 horas.	36°C	2	1,80
t4	72 horas.	27°C	2	1,50
t5	72 horas.	32°C	2	1,60
t6	72 horas.	36°C	2	1,70

Elaborado por: Autor.

Anexo 17. Porcentaje de alcohol. Cepa 4

N°	FACTOR A	FACTOR B	REPETICIONES	% ALCOHOL
t1	48 horas.	27°C	1	1,25
t2	48 horas.	32°C	1	1,35
t3	48 horas.	36°C	1	1,40
t4	72 horas.	27°C	1	1,50
t5	72 horas.	32°C	1	0,62
t6	72 horas.	36°C	1	1,40
t1	48 horas.	27°C	2	1,50
t2	48 horas.	32°C	2	1,50
t3	48 horas.	36°C	2	0,85
t4	72 horas.	27°C	2	1,60
t5	72 horas.	32°C	2	0,75
t6	72 horas.	36°C	2	1,60

Elaborado por: Autor.

Anexo 18. Porcentaje de alcohol. Cepa 5

Nº	FACTOR A	FACTOR B	REPETICIONES	% ALCOHOL
t1	48 horas.	27°C	1	1,50
t2	48 horas.	32°C	1	1,40
t3	48 horas.	36°C	1	0,40
t4	72 horas.	27°C	1	1,50
t5	72 horas.	32°C	1	1,00
t6	72 horas.	36°C	1	1,40
t1	48 horas.	27°C	2	1,50
t2	48 horas.	32°C	2	1,50
t3	48 horas.	36°C	2	0,85
t4	72 horas.	27°C	2	1,60
t5	72 horas.	32°C	2	0,75
t6	72 horas.	36°C	2	1,60



















Elaborado por: Autor.

Anexo 19. Porcentaje de alcohol. Cepa 6

Nº	FACTOR A	FACTOR B	REPETICIONES	% ALCOHOL
t1	48 horas.	27°C	1	1,00
t2	48 horas.	32°C	1	1,75
t3	48 horas.	36°C	1	1,85
t4	72 horas.	27°C	1	0,75
t5	72 horas.	32°C	1	1,20
t6	72 horas.	36°C	1	1,50
t1	48 horas.	27°C	2	1,20
t2	48 horas.	32°C	2	1,45
t3	48 horas.	36°C	2	1,85
t4	72 horas.	27°C	2	1,40
t5	72 horas.	32°C	2	1,20
t6	72 horas.	36°C	2	1,60

Elaborado por: Autor.

Anexo 20. Valores designados para la caracterización de las cepas.

FORMA		BORDE		ELEVACIÓN	
Redondeado 	Espiculado 	Plana 	Acuminada 	Puntiforme 	Irregular 
Ondulado 	Filamentoso 	Plana convexa 	Umbonada 	Circular 	Rizoide 
Lobulado 	Rizoide 	Convexa 	Papilalda 	Filamentosa 	Fusiforme 
COLOR	Blanco opaco	Blanco brillante	Blanco cremoso	Blanquecino	

Elaborado por: Autor.

Anexo 21. Análisis de laboratorio de la cepa.



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS

LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA
INFORME DE RESULTADOS

INF.LAB.MI. 36718
ORDEN DE TRABAJO No. 58137

SOLICITADO POR:	CORDONEZ KLEBER
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	LATACUNGA
MUESTRA DE:	MUESTRA DE LEVADURA
DESCRIPCIÓN:	MUESTRA DE LEVADURA
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACION:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCION:	12/03/2018
HORA DE RECEPCION:	10H39
FECHA DE ANALISIS:	06-12/03/2018
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA:	12/03/2018
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	CARACTERÍSTICO
OLOR:	CARACTERÍSTICO
ESTADO:	-----
CONTENIDO:	1 CAJA PETRI
OBSERVACIONES:	LOS RESULTADOS QUE CONSTAN EN EL PRESENTE INFORME SE REFIEREN A LA MUESTRA ENTREGADA POR EL CLIENTE AL OSP.
MUESTREADO POR:	EL CLIENTE

INFORME

OBSERVACION MACROSCOPICA	RESULTADO
Tamaño	<1mm
Color	Blanco
Superficie	Brillante
Pseudomicelio	+
Glucosa	+
LEVADURA	SACHAROMYCES




B.F. Magaly Chasi - Msc.
JEFE ÁREA DE MICROBIOLOGIA



1 / 1/1

RMI-4.1-04

Anexo 22. Aval de traducción.

Universidad
Técnica de
Cotopaxi

CENTRO DE IDIOMAS

AVAL DE TRADUCCIÓN

En calidad de Docente del Idioma Inglés del Centro de Idiomas de la Universidad Técnica de Cotopaxi; en forma legal **CERTIFICO** que: La traducción del resumen de proyecto de titulación al Idioma Inglés presentado por el señor Egresado de la Carrera de Ingeniería Agroindustrial de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales; **CORDONEZ SUNTASIG KLEBER TRAJANO**, cuyo título versa: “AISLAMIENTO, SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE UNA CEPA DE ALTA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE LA ELABORACIÓN DE CERVEZA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa*)”, periodo académico 2017-2018 lo realizó bajo mi supervisión y cumple con una correcta estructura gramatical del Idioma.

Es todo cuanto puedo certificar en honor a la verdad y autorizo al peticionario hacer uso del presente certificado de la manera ética que estimaren conveniente.

Latacunga, Marzo del 2018

Atentamente,

Msc. Vladimir Sandoval V.

DOCENTE CENTRO DE IDIOMAS
C.C. 050210421-9

Anexo 23. Norma INEN 1673.

NTE INEN 1 673

1988-06

3.6 Sachaquinua. Aquellas que corresponden a especies silvestres de quinua, entre las más importantes son las siguientes:

Chenopodium album
Chenopodium hircinum
Chenopodium quinoa var. millanum

3.7 Granos de otro color. Granos de Chenopodium quinoa willd de color marrón o negro, o de color diferente al de la variedad.

3.8 Granos dañados. Grano de quinua que ha sufrido deterioro por la acción de insectos o agentes patógenos, que este fermentando, germinando o dañado por cualquier otra causa, observables a simple vista.

4. CLASIFICACION

4.1 La quinua en grano se clasifica en los grados 1, 2 y 3, de acuerdo con los requisitos indicados en la Tabla 1.

5. REQUISITOS

5.1 Color. La quinua en grano debe presentar un color natural y uniforme, característico de la variedad.

5.2 Sabor. Para efectos de esta norma de acuerdo con la prueba de espuma, se considera como quinua dulce aquella que da una altura de espuma de 1,0 cm o menor y como quinua amarga aquella que da una altura de espuma superior a 1,0 cm (ver Norma INEN 1 672).

5.3 Olor. La quinua en grano, en un examen organoléptico, debe estar libre de olores producidos por contaminación de mohos o por una mala conservación u otros olores objetables.

5.4 Humedad. El contenido máximo de humedad de la quinua en grano será del 12% (m/m); (ver INEN 1 235).

5.5 Residuos de pesticidas. La quinua en grano no debe contener residuos de pesticidas y sus metabolitos en cantidades superiores a las tolerancias máximas admitidas por las regulaciones vigentes.

5.6 Impurezas. El contenido de impurezas totales de la quinua en grano no excederá del 3 % (m/m), (Ver Norma INEN 1 671) y el porcentaje de grano cubierto con perigonio no deberá exceder del 8 %.

5.7 Grados de quinua. La quinua en grano ensayada con las normas INEN correspondientes deben cumplir con los requisitos establecidos en la Tabla 1. El grado que se asigne al lote será el que corresponda al factor de calidad más bajo de la muestra.

(Continua)

TABLA 1. Determinación de los grados de la calidad de la quinua

Grado	Masa Hectolítica (mínima)		Porcentaje Mín. de proteína cruda *	Tamaño del grano ** en mm	Porcentaje máx. en masa		
	Q. dulce	Q. amarga			Sacha quinua y granos de otro color	Granos dañados	Excrementos de animales
1	62	66	13	Mayor o igual a 1,8	0,1	0,1	0,01
2	60	64	13	Menor a 1,8	0,5	0,5	0,01
3	58	62	13	Menor a 1,8	1,0	1,0	0,01

* Porcentaje de proteína cruda expresado sobre la base del 12% de humedad. (Ver INEN 1670).

** Equivalente al tamaño nominal del tamiz de orificios redondos en mm

5.8 Insectos. El nivel de infestación por insectos en la muestra de quinua en grano, expresado como el número de insectos presentes por kilogramo de muestra, tal como se indica en la Tabla 2; (ver INEN 1 671).

TABLA 2. Niveles de infestación de insectos en la quinua en grano

NIVEL DE INFESTACION	No. Total de insectos permitidos primarios y secundarios
Libre	0
Ligeramente infestado	3
Infestado	Mayor de 3

(Continúa)

6. REQUISITOS COMPLEMENTARIOS

6.1 Envase. El material de envase debe ser resistente a la acción del producto, de manera que no altere su composición química y su calidad organoléptica.

6.2 La comercialización del producto cumplirá con lo dispuesto en las Regulaciones y Resoluciones dictadas, con sujeción a la Ley de Pesas y Medidas.

7. MUESTREO

7.1 El muestreo se efectuará de acuerdo con la Norma INEN 1 233.

(Continua)

APENDICE Z

Z.1 NORMAS A CONSULTAR

- IN EN 1 233 *Granos y cereales Muestreo.*
- INEN 1 235 *Granos y cereales. Determinación del contenido de humedad (Método de rutina).*
- INEN 1 670 *Quinoa. Determinación de la proteína total.*
- INEN 1 671 *Quinoa. Determinación del nivel de infestación y de las Impurezas.*
- INEN 1 672 *Quinoa. Determinación del contenido de saponinas por medio del método espumoso (método de rutina).*

Z.2 BASES DE ESTUDIO

C. Nieto, J. Rea, R. Castillo, E. Peralta. *Guía para el manejo y Preservación de los Recursos Fitogenéticos* INIAP, Publicación Micelánea No. 47. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Quito, 1984.

Historia de las Dos Primeras Variedades de Quinoa, INIAP. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Quito, 1986.

Il Congreso Internacional de Cultivos Andinos. ITCA. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas. Organización de Estados Americanos. Riobamba, 1980.

Programa de cultivos Andinos. Convenio INIAP-CI ID, II Fase. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Centro Internacional de Investigaciones para el desarrollo. Quito, 1986.

Centro Nestlé de Investigación y Desarrollo para América Latina, LATINRECO S.A. *Determinación del contenido de saponinas en quinoa por el método espumoso*. Quito, 1987.

C. Nieto, R. Castillo, E. Peralta. *Guía para la producción de semilla de quinoa*. INIAP, Boletín divulgativo No. 186. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Quito, 1986.

Norma Colombiana ICONTEC 602 (Segunda Revisión). *Granos y Cereales. Sorgo o milo granífero para consumo*. Instituto Colombiano de Normas Técnicas. Bogotá, 1979.

Norma ecuatoriana. INEN 1 465. *Granos y cereales almacenados. Clasificación de insectos y ácaros*. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito, 1987.

Reunión Nacional sobre Producción, Uso y Comercialización del Cultivo de Quinoa. Memorias. INIAP. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias. Quito, 1987.

INFORMACIÓN COMPLEMENTARIA

Documento: NTE INEN 1 673	TITULO: QUINUA. REQUISITOS	Código: AG 05.04-412
-------------------------------------	-----------------------------------	--------------------------------

ORIGINAL: Fecha de iniciación del estudio: 1987-08-06	REVISIÓN: Fecha de aprobación anterior por Consejo Directivo Oficialización con el Carácter de Por Acuerdo No. de Publicado en el Registro Oficial No. de Fecha de iniciación del estudio:
---	--

Fechas de consulta pública: de _____ a _____

La Dirección General considerando la necesidad de contar con una norma que establezca los requisitos de calidad para la quinua dispuso la elaboración de esta norma.

Subcomité Técnico: AG 05.04 QUINUA

Fecha de iniciación:

Fecha de aprobación: 1988-02-22

Integrantes del Subcomité Técnico:

NOMBRES:

INSTITUCIÓN REPRESENTADA:

Ing. Carlos Nieto (Vicepresidente)
 Sr. Leo Hamburger
 Ing. Samuel Von Rutte
 Ing. Christian Vahli
 Ing. Milton Alvarez
 Sr. Anibal Hallo
 Dr. Renato Andrade
 Ing. Oswaldo Acuña

Ing. César Cáceres
 Ing. Jorge Mantilla
 Ing. Alberto Espinosa (Secretario Técnico)

INIAP
 AGROINDUSTRIAL CHIMBORAZO S.A.
 LATINRECO S.A.
 LATINRECO S.A.
 LATINRECO S.A.
 TALAHUA
 QUINUASA
 INSTITUTO DE INVESTIGACIONES
 TECNOLOGICAS DE LA ESCUELA
 POLITECNICA NACIONAL
 MAG - CEREALES
 PROQUINUA
 INEN

Otros trámites:

El Consejo Directivo del INEN aprobó este proyecto de norma en sesión de 1988-06-27

Oficializada como: Obligatoria
 Registro Oficial No. 978 de 1988-07-14

Por Acuerdo Ministerial No. 290 de 1988-07-06