



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

**“COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD FERMENTATIVA DE LA
LEVADURA AISLADA DEL BOSQUE PRIMARIO-PUNGALÁ EN
HIDROMIEL”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTOR: CARLOS JAVIER TIERRA ESCUDERO
DIRECTOR: Ing. IVÁN PATRICIO SALGADO TELLO MSc.

Riobamba – Ecuador

2024

© 2024, Carlos Javier Tierra Escudero

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Carlos Javier Tierra Escudero, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autor asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 08 de marzo de 2024



Carlos Javier Tierra Escudero
060431968-1

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, “**COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD FERMENTATIVA DE LA LEVADURA AISLADA DEL BOSQUE PRIMARIO-PUNGALÁ EN HIDROMIEL**”, realizado por el señor: **CARLOS JAVIER TIERRA ESCUDERO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

FIRMA

FECHA

Bqf. María Verónica González Cabrera, MSc.



2024-03-08

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Iván Patricio Salgado Tello, MsC.

**DIRECTOR DEL TRABAJO DE
INTEGRACIÓN CURRICULAR**



2024-03-08

Ing. Tatiana Elizabeth Sánchez Herrera Mg.

**ASESORA DEL TRABAJO DE
INTEGRACIÓN CURRICULAR**



2024-03-08

DEDICATORIA

Este trabajo es dedicado primero a Dios ya que gracias a Él pude culminar mi carrera, a mis padres Carlos e Inés quienes siempre estuvieron a mi lado apoyándome y brindándome consejos en todo momento a mis hermanas Silvia y Mariela que fueron un pilar fundamental en toda mi carrera brindándome su apoyo compañía y aliento a mi sobrino Carlos Andrés que es una pieza fundamental en mi vida, y sin olvidarme de personas que son importantes en mi vida como mis primos Edison y Carlos Alberto y mis tías Marina y Charito y mi abuelita Juanita quienes de una u otra manera estuvieron ahí en todo momento a mis amigos y demás familiares agradecerlos por haberme ayudado a ser mejor persona y un profesional. Y por último les dedico allá en el cielo a mis abuelitos Antonio, Julián y Angelita que desde arriba me cuidaron en todo momento.

Carlos

AGRADECIMIENTO

Primeramente, agradezco a Dios por haberme ayudado a culminar mis estudios, agradecer a la ESPOCH por haberme permitido ser parte de ella y abrirme las puertas para estudiar mi carrera así como a diferentes docentes que me brindaron sus conocimientos y su apoyo para seguir adelante.

Agradezco a mi director de tesis Ing. Iván Salgado y asesora la Ing. Tatiana Sánchez por haberme ayudado en todo mi proceso de elaboración de tesis así como haberme tenido la paciencia y la sabiduría para guiarme.

A la empresa ARSAICO CIA LTDA que con su colaboración se pudo realizar esta investigación al haberme ayudado y brindado la materia prima.

Y para finalizar agradezco a todos mis familiares, amigos y compañeros por haberme brindado su apoyo.

Carlos

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT	xv
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. Diagnóstico DEL PROBLEMA	2
1.1 Planteamiento del Problema.....	2
1.2 Justificación.....	2
1.3 Objetivos.....	2
1.3.1 <i>Objetivo General</i>	2
1.3.2 <i>Objetivos Específicos</i>	2

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Referencias teóricas	3
2.1.1 Levaduras	3
2.1.2 Características fisiológicas	3
2.1.2.1 <i>Temperatura</i>	3
2.1.2.2 <i>Presión osmótica y actividad de agua</i>	3
2.1.2.3 <i>Oxígeno</i>	4
2.1.2.4 <i>pH</i>	4
2.1.2.5 <i>Nutrición</i>	4

2.1.3	<i>Saccharomyces spp</i>	5
2.1.3.1	<i>Saccharomyces cerevisae Safale US-05</i>	5
2.2	Hidromiel	6
2.2.1	<i>Tipos de hidromiel</i>	6
2.2.2	<i>Propiedades del hidromiel</i>	6
2.2.3	<i>Materias primas</i>	7
2.2.3.1	<i>Miel</i>	7
2.2.3.2	<i>Agua</i>	9
2.2.3.3	<i>Levaduras</i>	9
2.2.3.4	<i>Nutrientes adicionales</i>	9
2.2.4	<i>Proceso de elaboración</i>	10
2.2.5	<i>Características físico-químicas</i>	11
2.2.6	<i>Características microbiológicas</i>	11
2.3	Fermentación	12
2.3.1	<i>Fermentación alcohólica</i>	12

CAPITULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	14
3.1	Localización y duración del experimento	14
3.2	Unidades experimentales	14
3.3	Materiales y equipos	14
3.3.1	<i>Materiales</i>	14
3.3.2	<i>Equipos</i>	15
3.3.3	<i>Insumos</i>	15
3.4	Tratamientos y diseño experimental	16
3.4.1	<i>Tratamientos</i>	16
3.4.2	<i>Mediciones experimentales</i>	16
3.4.2.1	<i>Cinética de crecimiento</i>	16

3.4.2.2	<i>Caracterización de hidromiel</i>	16
3.4.2.3	<i>Costos de producción</i>	17
3.4.3	<i>Técnicas estadísticas</i>	17
3.4.4	<i>Esquema del experimento</i>	18
3.5	Análisis estadísticos y pruebas de significancia	18
3.6	Procedimiento experimental	19
3.6.1	<i>Proceso de elaboración del producto</i>	19
3.6.1.1	<i>Recepción de la materia prima</i>	19
3.6.1.2	<i>Inspección</i>	19
3.6.1.3	<i>Pasteurización</i>	19
3.6.1.4	<i>Hervir el agua</i>	19
3.6.1.5	<i>Adición de miel</i>	19
3.6.1.6	<i>Añadir agua</i>	19
3.6.1.7	<i>Adición de Levadura</i>	19
3.6.1.8	<i>Fermentación</i>	20
3.6.1.	<i>Trasiego</i>	20
3.6.1.10	<i>Embotellado</i>	20
3.6.2	<i>Diagrama de proceso</i>	21
3.7	Metodología de la evaluación	22
3.7.1	<i>Análisis Microbiológicos</i>	22
3.7.2	<i>Análisis Físicos-Químicos</i>	22
3.7.3	<i>Análisis Sensorial</i>	22
3.7.4	<i>Análisis de Costos</i>	23

CAPITULO IV

4.	MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	24
4.1	Cinética de crecimiento	24
4.1.1	<i>Cinética de crecimiento de levaduras</i>	24

4.1.1.1	<i>Cinética de crecimiento, 0 horas</i>	25
4.1.1.2	<i>Cinética de crecimiento, 24 horas</i>	25
4.1.1.3	<i>Cinética de crecimiento, 48 horas</i>	26
4.1.1.4	<i>Cinética de crecimiento, 72 horas</i>	26
4.1.2	<i>Acidez</i>	27
4.1.3	<i>pH</i>	27
4.1.4	<i>•Brix</i>	28
4.2	Análisis microbiológico	29
4.2.1	<i>Mohos y levaduras</i>	29
4.2.2	<i>Aerobios mesófilos</i>	29
4.3	Análisis fisicoquímicos	30
4.3.1	<i>V/v de hidromiel</i>	30
4.3.2	<i>PH de hidromiel</i>	31
4.3.3	<i>Acidez total de hidromiel, expresado en ácido láctico</i>	32
4.3.4	<i>Acidez Volátil de hidromiel</i>	33
4.4	Análisis sensorial	34
4.5	Análisis de costos	35

CAPITULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	36
5.1	Conclusiones	36
5.2	Recomendaciones	37

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1:	Requerimientos nutricionales para los medios de cultivo	5
Tabla 2-2:	Tipos de hidromiel.....	6
Tabla 2-3:	Características de la miel de acuerdo con su procedencia.....	7
Tabla 2-4:	Composición de la miel de abeja por cada 100 g de miel.	8
Tabla 2-5:	Requisitos para bebidas fermentadas.....	11
Tabla 2-6:	Tipos de microorganismos fermentativos.....	12
Tabla 3-1:	Esquema del experimento.....	18
Tabla 3-2:	Esquema ADEVA	18
Tabla 3-3:	Esquema de puntuación sensorial.....	22
Tabla 4-1:	Cinética de crecimiento <i>Saccharomyces</i> con distintos tiempos	24
Tabla 4-2:	Acidez con respecto al tiempo.....	27
Tabla 4-3:	pH con respecto al tiempo	27
Tabla 4-4:	°Brix con respecto al tiempo	28
Tabla 4-5:	Conteo de mohos y levaduras en hidromiel.....	29
Tabla 4-6:	Conteo de aerobios mesófilos en hidromiel	29
Tabla 4-7:	Análisis fisicoquímicos en hidromiel	30
Tabla 4-8:	Grados alcohólicos del hidromiel	30
Tabla 4-9:	pH de hidromiel.....	31
Tabla 4-10:	Acidez total de hidromiel	32
Tabla 4-11:	Acidez volátil de hidromiel	33
Tabla 4-12:	Análisis sensorial de hidromiel con distintas levaduras	34
Tabla 4-13:	Costos de producción de hidromiel	35

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 2-1:	Proceso para la obtención de Hidromiel	10
Ilustración 2-2:	Fermentación alcohólica	13
Ilustración 3-1:	Diagrama de proceso de obtención de hidromiel.....	21
Ilustración 2-1:	Cinética de crecimiento de las distintas levaduras <i>Saccharomyces</i>	24

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO A: INFOSTAT ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO

ANEXO B: INFOSTAT ANÁLISIS SENSORIAL

RESUMEN

La capacidad fermentativa de la levadura aislada del bosque primario-Pungalá tomó en consideración 2 levaduras adicionales correspondientes una levadura comercial y nativa de la miel que permitió realizar una comparación a través de estudio de la cinética de crecimiento, análisis microbiológicos, físico-químicos, sensoriales y de costos con un tamaño muestral de 4, 125 litros de hidromiel siguiendo un diseño de bloques completamente al azar. La cinética de crecimiento mostró que durante las 0h y 24h la activación e inoculación en los sustratos influye en el conteo de la población de levaduras siendo el T3 (*S. spp* [levadura salvaje]) aquel que presentó un mayor crecimiento durante estos tiempos. Los resultados microbiológicos se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la normativa colombiana en los tres tratamientos. Las características físico-químicas del hidromiel arrojaron mejores resultados en el T1 (*Saccharomyces spp.*) como el mejor tratamiento con una graduación alcohólica de 9,20 V/v, un pH de 3,50, acidez total de 3,799 g/L y una acidez volátil de 0,48 g/L. Los análisis sensoriales mostraron que el tratamiento más aceptado fue aquel en el que se utilizó la levadura endémica de la miel seguido por la levadura aislada de bosques primarios. Los resultados del análisis económico sugieren que el T1 (*Saccharomyces spp.*) es aquel que presenta un mayor beneficio/costo con \$1,43 pero en los tres casos los costos de producción son elevados. El T3 fue el mejor tratamiento en el estudio de cinética de crecimiento, características sensoriales y microbiológicamente.

Palabras clave: <FERMENTACIÓN> <LEVADURAS AISLADAS> <ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS> <BOSQUES PRIMARIOS> <HIDROMIEL>

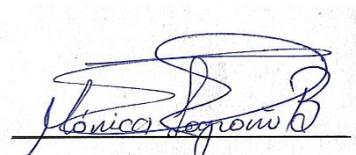
0356-DBRA-UPT-2024



ABSTRACT

The yeast fermentative properties isolated from the primary forest-Pungalá is a process that was put under analysis in comparison with two additional yeasts, corresponding to a commercial yeast and a native honey yeast. This comparison allowed for a study through the analysis of growth kinetics, microbiological, physicochemical, sensory, and cost analyses using a sample size of 4,125 liters of mead, following a completely randomized block design. The growth kinetics revealed that activation and inoculation on substrates during 0 to 24 hours significantly influenced yeast population counts, with T3 (*S. spp [wild yeast]*) exhibiting the highest growth during these times. Microbiological results accomplished the parameters established by Colombian regulations across all three treatments. Physicochemical characteristics of the mead showed better results in T1 (*Saccharomyces spp.*) as the best treatment, with an alcohol content of 9.20 V/v, pH of 3.50, total acidity of 3.799 g/L, and volatile acidity of 0.48 g/L. Sensory analyses showed that the most accepted treatment was the one that contained the endemic honey yeast, followed by yeast isolated from primary forests. Economic analysis results suggest that T1 (*Saccharomyces spp.*) yields the highest benefit/cost ratio at \$1.43, although production costs are high in all three cases. T3 was the best treatment in the study of growth kinetics, sensory characteristics, and microbiological aspects.

Keywords: <FERMENTATION>, <ISOLATED YEASTS>, <MICROBIOLOGICAL ANALYSIS>, <PRIMARY FORESTS>, <MEAD>.



Lic. Mónica Logroño B. Mgs

060274953-3

INTRODUCCIÓN

Las levaduras son organismos eucariotas con gran diversidad respecto a su forma, tamaño y color. Son hongos unicelulares y por lo general sus células son ovaladas, pero en algunos casos se pueden encontrar de forma esférica, cilíndrica o elíptica, son mayores que las bacterias alcanzando un diámetro que bordea entre los 4 y 5 μm , su reproducción es por fisión binaria o en algunos casos por gemación y algunas pueden ser dimórficas o bifásicas y crecen como micelio bajo condiciones ambientales especiales. Estos pueden rechazar los antibióticos y algunos agentes bacterianos de forma natural, además las levaduras contienen macromoléculas como proteínas, polisacáridos, lípidos entre otros. (Suárez et al 2016)

El hidromiel es un producto de la fermentación alcohólica de la miel con agua, y esta se caracteriza por su estabilidad, debido a su alto contenido de azúcar, tiene otros beneficios para el cuerpo humano ya que ayuda a la digestión, al metabolismo y además contiene vitamina B que se obtiene de la fermentación de los microorganismos y las levaduras que en el presente estudio se pretende realizar una comparación de tres levaduras de distinta procedencia divididas en levadura aislada de bosques primarios, comercial y aquella endémica de la miel a través de la elaboración artesanal y de forma reducida para evitar la merma de los aromas de la miel, con la finalidad de dar alternativas con el desarrollo de productos con organismos nuevos evaluando su cinética de crecimiento, sus características físico-químicas así como organolépticas además de una análisis económico que permita reconocer la viabilidad de la elaboración del hidromiel.

CAPÍTULO I

1. DIAGNÓSTICO DEL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del Problema

Los microorganismos encontrados en el bosque primario Pungalá en investigaciones anteriores, pueden ser utilizados en la agroindustria, el desconocimiento de sus usos minimiza su manejo dentro del desarrollo de nuevos productos.

1.2 Justificación

En esta investigación se busca investigar la capacidad fermentativa de levaduras *Saccharomyces* spp, que fueron obtenidas anteriormente en la investigación: “Aislamiento y purificación de microorganismos aislados de bosques primarios de la zona 3”, para darle uso a nivel agroindustrial como es el caso del hidromiel, este producto corresponde a una bebida alcohólica. Se evaluarán diferentes parámetros de fermentación y se determinará la calidad de la levadura aislada. Además, se podrá utilizar los resultados en otras investigaciones posteriores para la elaboración de diferentes bebidas alcohólicas.

1.3 Objetivos

1.3.1 *Objetivo General*

- Comparar la capacidad fermentativa de la levadura aislada del bosque Primario-Pungalá (*Saccharomyces* spp.) con una comercial (*Saccharomyces cerevisae* Safale US-05) y levaduras salvajes presentes en la miel

1.3.2 *Objetivos Específicos*

- Determinar la cinética de crecimiento de las levaduras utilizadas en el hidromiel a las 0,24,48 y 72 horas
- Evaluar los parámetros microbiológicos, fisicoquímicos y sensoriales del hidromiel elaborado con diferentes tipos de levaduras
- Realizar los costos de producción del producto elaborado.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Referencias teóricas

2.1.1 *Levaduras*

Las levaduras son básicamente un grupo de hongos unicelulares que se encuentran de forma abundante en la naturaleza ya sea en el suelo, en las plantas (semillas, frutos, flores) y en intestino de los animales, por su capacidad de producir enzimas son las responsables de importantes procesos bioquímicos de la materia orgánica siendo su principal función en la naturaleza la descomposición primaria de la materia muerta de las plantas y animales. En la industria alimentaria estos microorganismos son utilizados en su mayoría en procesos fermentativos ya que son capaces de transformar los azúcares en alcohol y CO₂ (FIQ, 2023, p. 3).

2.1.2 *Características fisiológicas*

2.1.2.1 *Temperatura*

A pesar de que la mayoría de las levaduras pueden crecer entre 5 y 37°C, su crecimiento óptimo se sitúa 28°C, aunque cuando se encuentran en sus ambientes naturales esta temperatura óptima no es rigurosa ya que las levaduras que se encuentran en la superficie de las hojas pueden estar expuestas a temperaturas que pueden oscilar entre 40°C a 55°C. Las levaduras en forma general no son termofílicas ya que su termodestrucción empieza a partir de ser expuestas a temperaturas de 52°C (Uribe, 2007, p. 33).

2.1.2.2 *Presión osmótica y actividad de agua*

Las levaduras generalmente crecen de manera más eficaz en medios que dispongan de gran cantidad de agua, aunque también hay algunas levaduras que pueden soportar actividad de agua del orden 0.65 y ser tolerables osmóticamente. Si bien es cierto, la presión osmótica en las levaduras varía dependiendo la cepa, su mecanismo de resistencia a medios con baja actividad de agua se debe a que se produce la acumulación de polioles en las células y estas a su vez minimizan la presión osmótica de la célula y el medio (Uribe, 2007, p. 33).

2.1.2.3 Oxígeno

Cuando se encuentran en presencia de oxígeno, todas las levaduras son aeróbicas pudiendo crecer perfectamente a partir de hidratos de carbono del medio para la producción de biomasa y CO₂, sin embargo, al reducirse el oxígeno o cuando están en un medio sin oxígeno cambian su metabolismo a anaeróbico o fermentativo, en la cual existe menor producción de biomasa y producción de alcohol. El oxígeno es un factor importante en las levaduras debido a que éste interviene en la síntesis de esteroides y ácido nicotínico (Uribe, 2007, p. 34).

2.1.2.4 pH

Para su crecimiento óptimo el pH se encuentra en un rango de 4,5 a 6,5, aunque algunas especies de levaduras pueden tolerar variaciones grandes de pH de 2 a 8,5 (Uribe, 2007, p. 34).

2.1.2.5 Nutrición

De acuerdo con (Uribe, 2007, p. 35), para el crecimiento de las levaduras se necesitan fuentes de carbono orgánico y nitrógeno ya sea mineral u orgánico, también requieren de vitaminas tales como la tiamina, biotina, inositol entre otras. Los compuestos de carbono son utilizados como fuente de carbono y energía debido a que el 50% del peso en seco de la célula de la levadura está compuesto de carbono.

El fósforo en las levaduras, actúa en la producción de etanol a partir de los azúcares, el potasio actúa como un catión regulador estimulando la fermentación y la respiración, también interviene como efector de las enzimas, el magnesio es indispensable para el funcionamiento de las enzimas en el metabolismo, el calcio no es vital en el crecimiento de las levaduras, aunque está formando parte de la estructura de las células, por su parte el zinc es cofactor de enzimas como la aldosa y es indispensable en el proceso de glucólisis, por otro lado el manganeso permite el aumento del nivel de nitrógeno, resultado de la síntesis de proteínas (Uribe, 2007, p. 35).

Tabla 2-1: Requerimientos nutricionales para los medios de cultivo

<i>Nutriente</i>	<i>Forma química suministrada al medio de cultivo</i>
<i>Carbono</i>	Glucosa, malato, acetato, piruvato, medios complejos como extracto de levadura, peptona.
<i>Hidrógeno</i>	H ₂ O, Compuestos orgánicos
<i>Oxígeno</i>	H ₂ O, O ₂ , Compuestos orgánicos
<i>Nitrógeno</i>	Orgánicos: aminoácidos y bases nitrogenadas. Inorgánicos: KNO ₂ , (NH ₄) ₂ SO ₄ , N ₂ , NH ₄ Cl
<i>Fósforo</i>	Na ₂ HPO ₄ , KH ₂ PO ₄
<i>Azufre</i>	Na ₂ SO ₄ , H ₂ S
<i>Potasio</i>	KCl, KH ₂ PO ₄
<i>Magnesio</i>	MgSO ₄ , MgCl ₂
<i>Sodio</i>	NaCl
<i>Calcio</i>	CaCl ₂
<i>Hierro</i>	Quelatos de hierro, FeCl ₃ , FeSO ₄
<i>Micronutrientes</i>	MnSO ₄ , CuCl ₂ , ZnCl ₂ , CoCl ₂ , Na ₂ MoO ₄ , Na ₂ Se ₄

Fuente: Durango, 2007, p. 41.

Realizado por: Tierra, Carlos., 2024

2.1.3 *Saccharomyces spp*

Las levaduras *Saccharomyces* son las levaduras más utilizadas en la fermentación de los vinos por ello también son consideradas como “la levadura del vino”, se las utiliza también en la fermentación del pan, la cerveza y la producción de alcohol, son las más resistentes a la presencia de etanol, resistiendo hasta un 14% de etanol en su medio (Mejía & Saavedra, 2019, p.4).

2.1.3.1 *Saccharomyces cerevisiae Safale US-05*

La levadura Safale US-05, se utiliza en las industrias cerveceras, siendo muy popular debido a que tiene una tolerancia de alcohol de 9,2 y su característica principal es que permanece en suspensión en la superficie durante el proceso de fermentación (Polsinelli, 2022, p. 1).

Características de la levadura de acuerdo con (Polsinelli, 2022, p. 2):

- Estilos de cervezas en las que se utiliza: kolsh, mild ale, american pale ale, Brown ale, entre otras.
- Ingredientes: Levadura *Saccharomyces cerevisiae*, emulsionante E491.

- Perfil aromático: neutro.
- Alcoholes totales (ppm): 269
- Azúcares residuales: 11 g/l
- Maltotriosa residual: 3 g/l.
- Estilo: alta fermentación.
- Temperatura de fermentación: 15-24°C

2.2 Hidromiel

Esta bebida es obtenida mediante la fermentación alcohólica de miel y agua que se ha venido utilizando desde la antigüedad y su interés de hoy en día resulta de los beneficios que esta bebida provee a la salud de las personas que lo consumen (Vicuña, 2019, p.10).

2.2.1 Tipos de hidromiel

Tabla 2-2: Tipos de hidromiel

Tipo	Característica
<i>Hidromiel seca</i>	Su contenido en azúcares es bajo
<i>Hidromiel dulce</i>	Tiene alto contenido en azúcar
<i>Hidromiel espumosa</i>	Contiene efervescencia propia
<i>Hidromiel gasificada</i>	Esta se produce con la inducción de gas artificial

Fuente: Vicuña, 2019, p. 11

Realizado por: Tierra Carlos., 2024.

2.2.2 Propiedades del hidromiel

Es considerada una bebida probiótica, debido a que contiene bacterias y levaduras, además es una combinación de sustancias que incluyen minerales, proteínas, vitaminas, antioxidantes y azúcares que resultan benéficas para el cuerpo (Sangacha, 2020, p. 20).

Según (Sangacha, 2020, p. 20) entre sus propiedades se destacan:

- Aumenta la inmunidad: fortalece al sistema inmunológico contra patógenos que son resistentes a los antibióticos.
- Ayuda a reducir las infecciones: esto se debe debido al contenido en ácido láctico.

- Desintoxicación del cuerpo: al consumirse con moderación reduce la inflamación crónica y la actividad de los radicales libre, debido a los antioxidantes que esta bebida contiene.
- Al contener lípidos, permite que el organismo procese de manera más rápida el alcohol y esto permita que la bebida no cause ni resacas ni dolores de cabeza.

2.2.3 Materias primas

2.2.3.1 Miel

La miel es un líquido natural dulce y viscoso producido naturalmente por las abejas a partir del néctar de diversas plantas, es uno de los alimentos que proveen energía inmediata al organismo ya que se componen de azúcares simples que se asimilan fácilmente, una de sus principales características es que es capaz de inhibir el crecimiento de bacterias, debido a su alto contenido en azúcares. Entre los azúcares que la miel contiene se encuentra la fructosa y glucosa, también contiene ácidos orgánicos, enzimas y otros componentes, cabe recalcar que el sabor y el aroma varía de dependiendo de qué planta se origina, otro punto importante también es el color que va de casi incolora a marrón oscuro, y su consistencia puede ser fluida, viscosa o cristalizada.

2.2.3.1.1 Características

Tabla 2-3: Características de la miel de acuerdo con su procedencia

Miel	Características	Procedencia
<i>Acacia</i>	Es de aroma dulce, suave y delicado, su consistencia es como de un jarabe y de color ámbar.	Esta miel se puede encontrar en lugares donde existen acacias.
<i>Eucalipto</i>	Su sabor y aroma son pronunciados de propiedades refrescantes de la planta misma y su color varía de ocre a ámbar fuerte.	Se encuentra por lo general en zonas tropicales y al norte de África.
<i>Romero</i>	Es una miel muy aromática, su color puede variar de muy claro, blanco o ligeramente ámbar.	Se encuentra principalmente en Andalucía
<i>Tomillo</i>	Es aromática, de sabor pronunciado, su color puede ser blanco grisáceo o amarillento.	Es común encontrarla en zonas montañosas, matorrales y en zonas boscosas del mediterráneo.
<i>Azahar</i>	Su aroma es particularmente aromático a la planta y de sabor suave, su color es ámbar claro.	Se produce en la región Levantina.

Fuente: Madrid, 2013; Citado en Vicuña, 2019, p.16

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

Cabe recalcar que debido a la gran biodiversidad de flora que Ecuador posee distintas variedades de miel entre ellas la del eucalipto, otras como la miel multifloral, entre otras además su color y aroma varía mucho ya que Ecuador posee distas regiones que hacen que cada miel tenga su peculiaridad.

2.2.3.1.2 Usos de la miel

Actualmente la miel se utiliza a gran escala tanto en la industria alimentaria como en la farmacéutica por sus diversas propiedades en el estudio realizado por (Vicuña, 2019, p.16) destaca que la miel se utiliza para la elaboración de licores, confituras, manjares, panadería entre otros productos, así como también recalca que se utiliza en la medicina veterinaria.

2.2.3.1.3 Composición de la miel

Tabla 2-4: Composición de la miel de abeja por cada 100 g de miel.

Componente	Cantidad (g)
<i>Humedad</i>	15-20
<i>Azúcares</i>	75-80
<i>Proteínas</i>	0.4-0.5
<i>Grasa</i>	0.1-0.2
<i>Sales minerales</i>	0.2-0.6

Fuente: Madrid, 2013; citado en Vicuña, 2019, p. 13

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

2.2.3.1.4 Levaduras presentes en la miel

De acuerdo con (Zandamela, 2008, p. 179) quién en su estudio determinó que la miel de abeja presenta $\geq 2 \log$ UFC/g en recuentos de mohos y levaduras, menciona que, la miel posee una gran diversidad de flora microbiana natural que son inducidas por las abejas entre ellas esporas de algunas especies de bacilos, mohos, levaduras banales u osmóticas que se adaptan a las condiciones que no son muy favorables para su crecimiento ya que la miel posee un pH ácido y baja actividad de agua.

Por otro lado, (Portillo, 2016, p. 57) en su investigación encontró que el 50% de las levaduras presentes en miel de abejas pertenecen al género *Cándida*, identificándose también que ésta es la responsable de la producción de riboflavina, ya que esta levadura se encuentra en el intestino de

abejas adultas. Las levaduras presentes en la miel de las abejas son responsables de la maduración aportando factores antimicrobianos, ciertas vitaminas y otros componentes de importancia nutricional.

Por su parte (Carrizo et al, 2020, p. 8) en su investigación sobre el uso de las levaduras aisladas en mieles como antagonistas de mohos patógenos de cultivos, logró aislar un total de 15 levaduras en mieles de abejas que presentan acción de antagonismo, entre ellas se destacan *Lachancea thermotolerans* frente a *Aspergillus parasiticus*, *Fusarium sacchari*, *Penicillium italicum* y *P. ulaiense*. *Candida parapsilosis* frente a *P. italicum*, *Lachancea fermentati* frente a *P. ulaiense*, *Z. mellis* frente a *P. ulaiense*, y *T. delbrueckii* frente a *P. italicum* y *P. ulaiense* que son de gran interés en la industria alimentaria contra mohos patógenos.

2.2.3.2 Agua

Para la elaboración del hidromiel es necesario utilizar agua tratada, que sea confiable ya que de no ser el caso pueda influir directamente en la calidad del producto final (Rodríguez y Rubiano, 2019, p. 26).

2.2.3.3 Levaduras

Según (Rodríguez y Rubiano, 2019, p.26) las levaduras pueden ser comerciales secas que su vida útil es más prolongada y además se pueden conseguir de acuerdo a las características que se espere obtener en el producto final, ó también se pueden utilizar las levaduras que se encuentran de manera natural en las mieles, aunque su desventaja es que al no conocer sus características su control es más complicado ya que pueden ocasionar sabores o aromas no deseados, así como también el producto puede presentar turbidez y hacer que no sea deseable.

2.2.3.4 Nutrientes adicionales

Para otorgarle las condiciones óptimas para que las levaduras realicen el proceso de fermentación se puede añadir fosfato de amonio, ácido fólico, extracto de levadura, niacina, entre otros, también se puede utilizar el polen debido a que aporta nutrientes necesarios para aumentar la velocidad de fermentación (Rodríguez y Rubiano, 2019, p. 27).

2.2.4 Proceso de elaboración

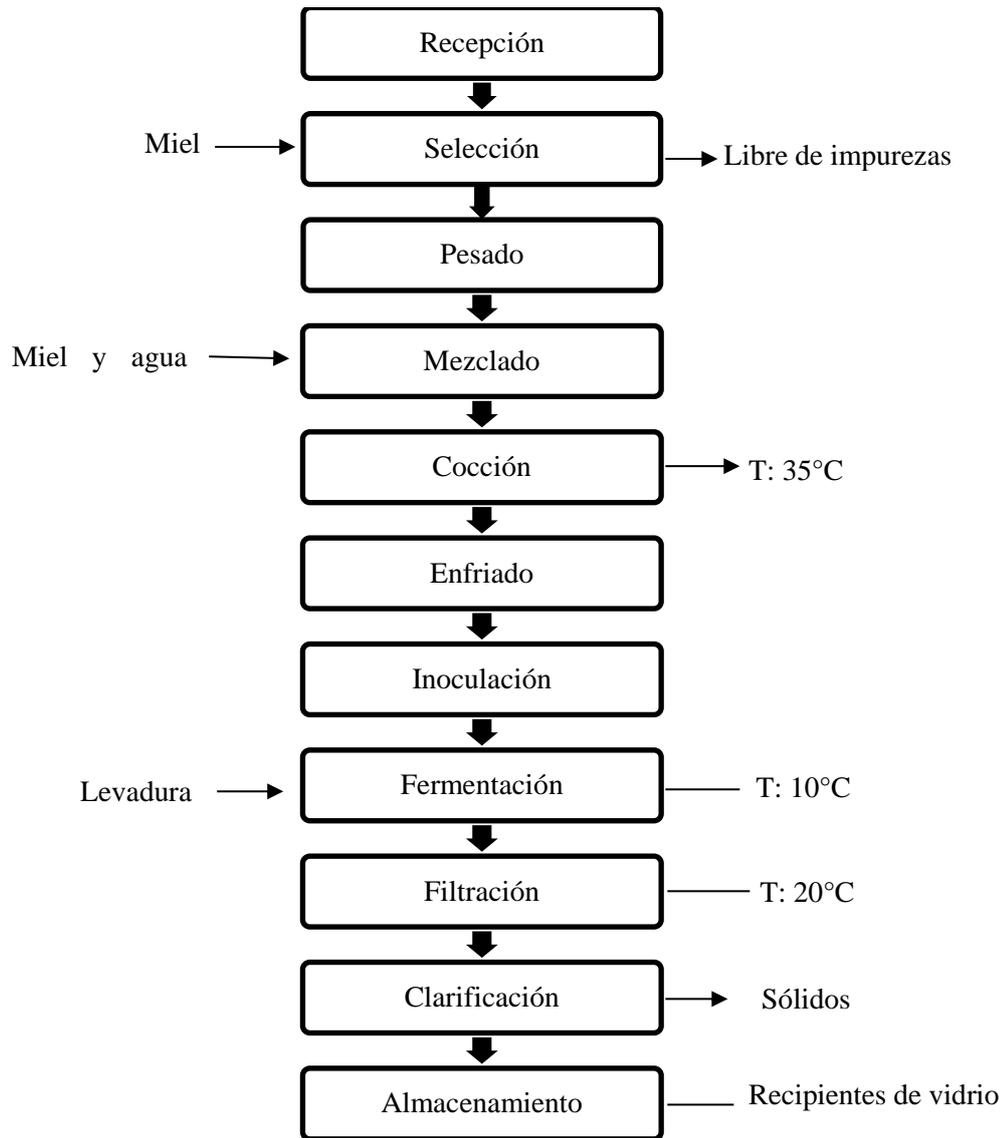


Ilustración 2-1: Proceso para la obtención de Hidromiel

Fuente: López y Rangel, 2017; citado en Vicuña, 2019, p.12

Realizado por: Tierra C., 2024

2.2.5 Características físico-químicas

De acuerdo con la norma INEN 1932 los requisitos fisicoquímicos para las bebidas fermentadas son los que se detallan a continuación:

Tabla 2-5: Requisitos para bebidas fermentadas.

<i>Determinación</i>	<i>Unidades</i>	<i>Método</i>	<i>Rango</i>	
			<i>Min.</i>	<i>Max.</i>
<i>Acidez expresada en ácido acético</i>	<i>mg/100 ml</i>	<i>INEN 341</i>	-	<i>40 mg</i>
<i>Grado alcohólico</i>	<i>%</i>	<i>INEN 340</i>	<i>0.5%</i>	<i>50%</i>
<i>Metanol</i>	<i>%</i>	<i>INEN 2014</i>	-	<i>10%</i>

Fuente: Vicuña, 2019, p. 42

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

En la bebida elaborada por (Vicuña, 2019, p. 42), se reportaron valores de ácido acético 24,14mg/100ml, el contenido en alcohol expresado como grado alcohólico fue de 13,5% y el porcentaje de metanol fue de 0,043% valores que se encuentran dentro de los parámetros de calidad expuestos en la normativa ecuatoriana INEN.

En la investigación realizada por (Sangacha, 2020, pp. 33-41), se determinó que el hidromiel tiene un pH de 3,5 estando dentro del valor de pH establecido en la norma INEN 341 donde se detalla que el pH debe estar en el rango entre 3 y 4,6; la densidad está entre 0,960-1,010 caracterizándose como Hidromieles secas y semisecas, en cuanto a los Grados Brix contiene entre 18,70 a 19,20°Brix, su grado alcohólico entre los tratamientos variaron entre 10,5% y 17% igualmente se mantiene bajo el rango establecido en la norma INEN 1932.

2.2.6 Características microbiológicas

Por lo tanto, (Vicuña, 2019, p. 45), encontró 100 UFC/ ml de hidromiel de mohos y levaduras presentes en el hidromiel elaborado, mismo que se determinó a través del método siembra en masa, valor que comparado al de la cerveza que como máximo se tolera 50 UFC / ml y esto se debe a que la bebida fue realizada de baja graduación alcohólica.

Cabe recalcar que dentro de las características microbiológicas el Hidromiel debe tener ausencia de cualquier agente patógeno como la Salmonella, coliformes entre otros, que puedan causar daño a la salud.

2.3 Fermentación

La fermentación es el proceso más simple desde un punto de vista mecánico y se define como un proceso metabólico que produce energía. La fermentación convierte el sustrato en una mezcla de productos finales, los sustratos fermentables no se pueden oxidar ni reducir significativamente por este motivo los carbohidratos son excelentes sustratos para los procesos de fermentación además que la fermentación es la producción de ATP por fosforilación a nivel del sustrato (Carbonero, 1975 p. 3).

Tabla 2-6: Tipos de microorganismos fermentativos

Microorganismo	Productos de la Fermentación	Producto de Interés Comercial
<i>Mohos</i>	Ácidos Orgánicos	Ácido gálico, cítrico, y glucónico
	Compuestos aromáticos	Quesos roquefort y camembert
<i>Levaduras</i>	Etanol	Cerveza, vino e hidromiel
	Dióxido de carbono	Pan
	Glicerol	Glicerol
	Ácido acético	Vinagre
<i>Bacterias</i>	Ácido láctico	Yogurt, queso
	Aminoácidos	Glutamato, lisina
	Otros	Alcohol butílico, acetona y sorbosa

Fuente: Quicazán, et al., 2018

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

2.3.1 Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica se da en las levaduras y en algunas bacterias este es un proceso anaeróbico es decir sin presencia de oxígeno en donde se transforman los azúcares en dióxido de carbono y en etanol. En la fermentación el mosto es el medio en el que además de encontrar azúcares se puede encontrar otros nutrientes que son indispensables para el metabolismo y el crecimiento de las levaduras (Quicazán, et al., 2018 p. 51)

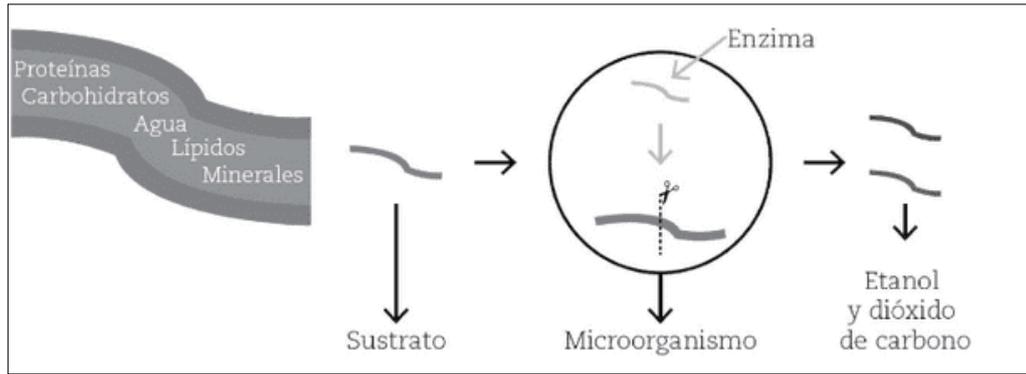


Ilustración 2-2: Fermentación alcohólica

Fuente: Quicazán, et al., 2018

CAPITULO III

3. MARCO METODOLÓGICO

3.1 Localización y duración del experimento

El trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Ciencias Biológicas y Bromatología y nutrición animal perteneciente a la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Panamericana Sur km 1 ½, localizada en la parroquia Lizarzaburu del cantón Riobamba de la Provincia de Chimborazo. Teniendo una duración de 70 días.

3.2 Unidades experimentales

Cada unidad experimental estuvo formada por 275ml de Hidromiel, la misma que fue distribuida en 3 tratamientos con 5 repeticiones, con un total de 4.125 ml del producto a evaluar

3.3 Materiales y equipos

3.3.1 *Materiales*

- Frasco Termorresistente
- Cajas Petri
- Tubos de ensayo
- Puntas
- Papel aluminio
- Papel de cocina
- Papel industrial
- Frascos de Vidrio
- Gradilla de metal
- Imán agitador magnético
- Cofia
- Guantes
- Mandil desechable
- Olla
- Cilindro de gas

- Botellas
- Matraz Erlenmeyer
- Vasos de Precipitación

3.3.2 Equipos

- Baño María
- Autoclave
- Incubadora
- Mechero
- Brixometro
- pH metro
- Contador de colonia
- Micropipeta volumétrica
- Airlock
- Balanza analítica
- Refrigeradora
- Vortex
- Agitador magnético

3.3.3 Insumos

- Difco- Potato Dextrose Agar
- Agua destilada
- Alcohol 70%
- Alcohol 96%
- Hidróxido de Sodio 0,1N
- Saccharomyces cerevisae Safale US-05
- Saccharomyces spp
- Miel

3.4 Tratamientos y diseño experimental

3.4.1 *Tratamientos*

- **T1:** *Saccharomyces spp.*
- **T2:** *Saccharomyces cerevisiae* Safale US-05
- **T3:** *Saccharomyces spp.* (Levadura Salvaje)

3.4.2 *Mediciones experimentales*

Las mediciones experimentales consideradas fueron:

3.4.2.1 *Cinética de crecimiento*

Capacidad fermentativa:

- Grados °Brix
- pH
- Conteo de Levaduras
- Acidez

3.4.2.2 *Caracterización de hidromiel*

Pruebas microbiológicas:

- Mohos y Levaduras (NTE INEN 2262 2013)

Pruebas físico-químicas:

- Contenido alcohólico (NTE INEN 2262 2013)
- Acidez total (NTE INEN 2262 2013)
- pH (NTE INEN 2262 2013)
- Acidez volátil (NTE INEN 372 2016)

Pruebas sensoriales

- Olor
- Sabor
- Color

3.4.2.3 Costos de producción

Análisis económico

- Costos de producción

3.4.3 Técnicas estadísticas

Para la estimación de las diferentes variables de la investigación se llevaron a cabo varios análisis de laboratorio. Los resultados obtenidos fueron evaluados mediante las siguientes pruebas estadísticas bajo un diseño completamente al azar:

- Estadística Descriptiva
- Prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)
- Prueba de Kruskal-Wallis

3.4.4 Esquema del experimento

Tabla 3-1 Esquema del experimento

<i>Levadura</i>	<i>Código</i>	<i>N°</i>	<i>T.U.E*</i>	<i>ml/Trat.</i>
<i>Repeticiones</i>				
<i>Saccharomyces spp</i>	T1	5	275	1 375
<i>Saccharomyces cerevisiae (Safale US-05)</i>	T2	5	275	1 375
<i>Saccharomyces spp (L. Salvaje)</i>	T3	5	275	1 375
Total (ml)				4 125

*T.U. E: Tamaño de unidad experimental

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

Tabla 3-2 Esquema ADEVA

<i>Fuente de Variación</i>	<i>Grados de libertad</i>
<i>Total</i>	14
<i>Tratamientos</i>	2
<i>Error</i>	12

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

3.5 Análisis estadísticos y pruebas de significancia

Se aplicará un diseño completamente al azar (DCA) con el siguiente modelo:

$$Y = \mu + t + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} = es la observación del tratamiento i repetición j . μ = es la media general del ensayo.

t_i = efecto de los tipos de solución

ε_{ij} = es el error experimental (factores no controlados).

3.6 Procedimiento experimental

3.6.1 Proceso de elaboración del producto

3.6.1.1 Recepción de la materia prima

Se recibió la materia prima, la miel de abeja (*Apis mellifera L*) la cual fue provista por la empresa ARSAICO CIA. LTDA. Además del agua potable o destilada.

3.6.1.2 Inspección

Se realizó una inspección visual de la calidad de la miel, con el fin de definir si se encuentra en óptimas condiciones para realizar el hidromiel

3.6.1.3 Pasteurización

La miel se pasteurizó para eliminar las levaduras presentes, en este caso en dos de los tratamientos se realizó la pasteurización. En el último tratamiento no se realizó este proceso, se lleva en condiciones de 50°C para que la miel no pierda sus propiedades físico-químicas ni organolépticas.

3.6.1.4 Hervir el agua

Se añadió a una olla el 50% del agua a hervir evitando llegar a temperaturas superiores de 50°C, después se lo deja reposar y se dejó que la temperatura disminuya a <35 °C.

3.6.1.5 Adición de miel

Una vez que se llegó a una temperatura óptima (< 35°C), se agregó la miel y se mezcló hasta incorporar toda la miel de manera homogénea.

3.6.1.6 Añadir agua

Se colocó el otro porcentaje del agua hasta que la temperatura baje entre los 25°C y se dejó reposar.

3.6.1.7 Adición de Levadura

Se separó en un vaso una parte del hidromiel y se incorpora la levadura, en este caso las levaduras *Saccharomyces spp* y *Saccharomyces cerevisae* safale US-05. Se dejó reposar 10 minutos, después se le removió y se dejó reposar por otros 5 minutos y se le agregó al hidromiel. En el caso de la levadura salvaje que son propias de la miel no se realizaron esos procesos.

3.6.1.8 Fermentación

Se añadió en un recipiente cerrado, dejando un periodo de fermentación de entre 15-28 días, en un lugar donde no reciba los rayos del sol a una temperatura de 28°C.

3.6.1.9 Trasiago

Culminada la fermentación se separaron los sedimentos que quedaron en el envase, al separarlos quedó un hidromiel con menos turbidez. Esto se realizó pasando a otro envase sin mover lo que está en el fondo.

3.6.1.10 Embotellado

Se embotelló en envases oscuros para que estos no pierdan sus propiedades por acción de la luz (botellas ámbar) y se conservaron a temperatura de 25°C.

3.6.2 Diagrama de proceso

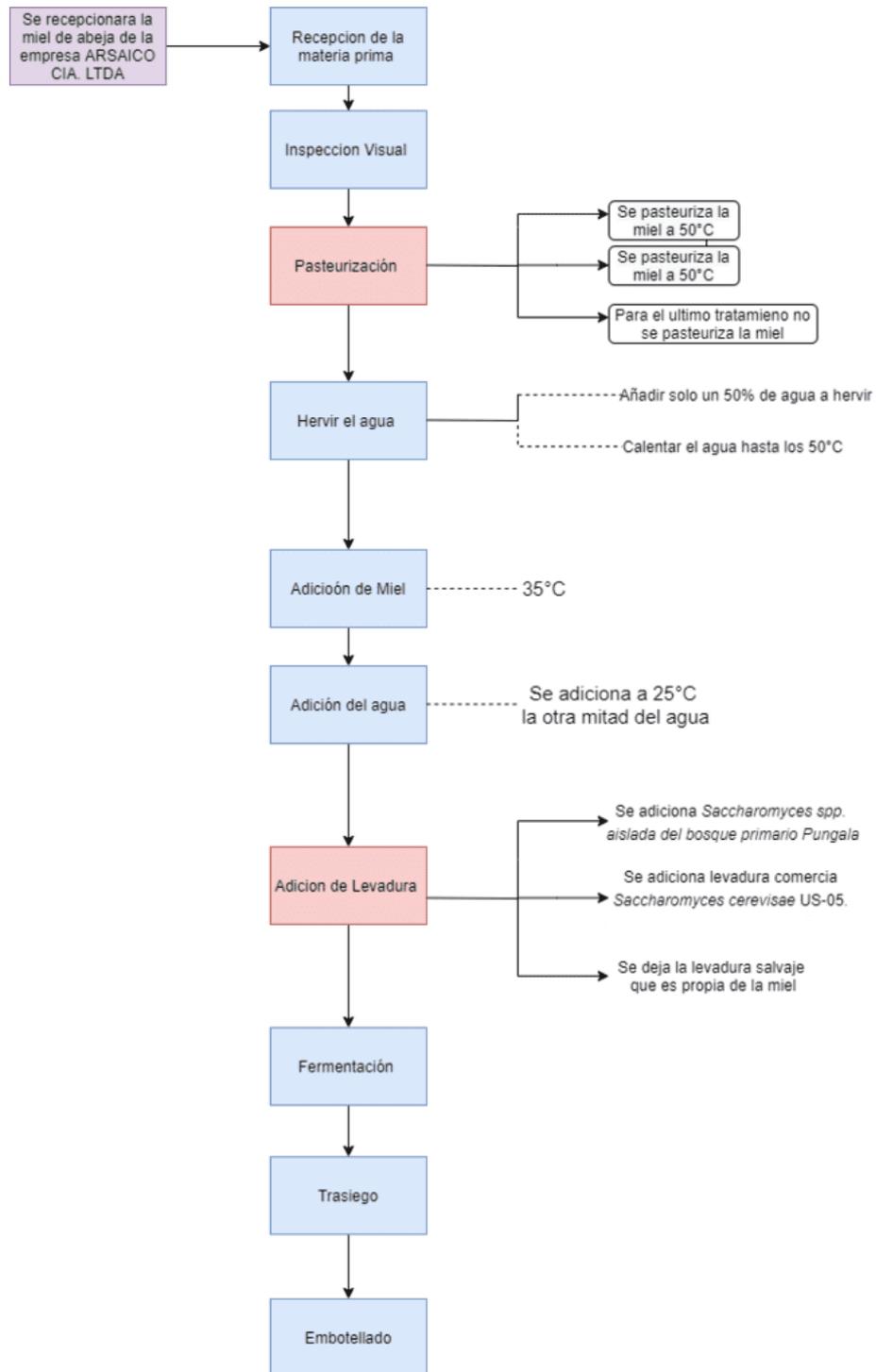


Ilustración 3-1 Diagrama de proceso de obtención de hidromiel

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

3.7 Metodología de la evaluación

3.7.1 Análisis Microbiológicos

Para los análisis microbiológicos se utilizó la norma ecuatoriana NTE INEN 2262:2013 BEBIDAS ALCOHÓLICAS. CERVEZA., la cual nos indica el procedimiento para realizar el cultivo de mohos y levaduras.

3.7.2 Análisis Físicos-Químicos

Se utilizó la norma NTE INEN 2262:2013 BEBIDAS ALCOHÓLICAS. CERVEZA., en el caso de los análisis fisicoquímicos, mismos que corresponden a los siguientes:

- Alcohólico
- Acidez total
- pH

En el caso de la acidez volátil se usó la norma NTE INEN 372:2016

3.7.3 Análisis Sensorial

Para el análisis sensorial se realizará la prueba Hedónica, la cual tiene el siguiente esquema de calificación:

Tabla 3-3 Esquema de puntuación sensorial

<i>PARÁMETROS</i>	<i>ESCALA DE PUNTUACIÓN</i>
<i>Color</i>	1-5
<i>Sabor</i>	1-5
<i>Olor</i>	1-5

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

Donde se utilizaron los siguientes parámetros:

5: Me gusta mucho

4: Me gusta moderadamente

- 3: Ni me gusta ni me disgusta
- 2: Me disgusta moderadamente
- 1: Me disgusta mucho

3.7.4 Análisis de Costos

Para el análisis de costo se realizará un costo/beneficio.

CAPITULO IV

4. MARCO DE ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 Cinética de crecimiento

4.1.1 Cinética de crecimiento de levaduras

Tabla 4-1 Cinética de crecimiento *Saccharomyces* con distintos tiempos

<i>Cinética de crecimiento, UFC/cm³</i>							
Horas	<i>T1 Saccharomyces spp.</i>	a	<i>T2 S. cerevisiae Safale US-05</i>	b	<i>T3 S. spp. (Levadura Salvaje)</i>	c	Prob.
0	2,49E+06	a	2,69E+06	b	3,11E+06	c	<0,0001
24	3,79E+06	b	3,57E+06	a	3,93E+06	c	<0,0001
48	5,62E+06	b	2,93E+06	a	2,91E+06	a	<0,0001
72	4,37E+06	c	5,40E+04	b	4,50E+04	a	0,007

Prob. > 0,05 No hay diferencias significativas

Prob. < 0,01 Hay diferencias altamente significativas

Medias con letras iguales en una misma fila no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey.

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

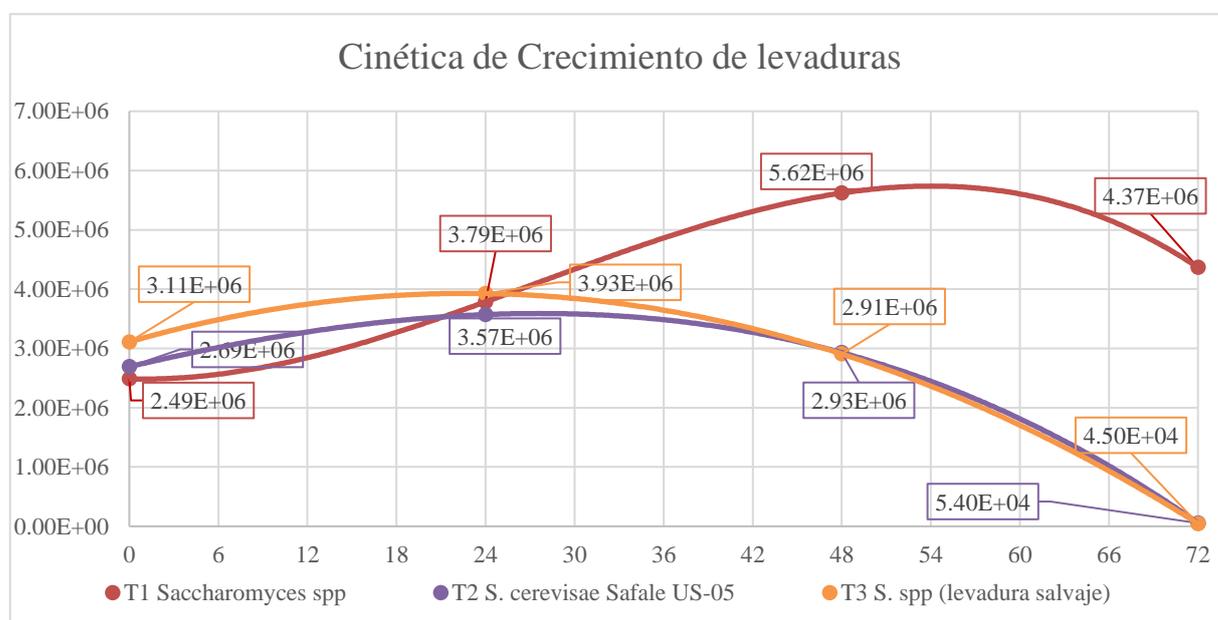


Ilustración 2-1 Cinética de crecimiento de las distintas levaduras *Saccharomyces*

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

4.1.1.1 Cinética de crecimiento, 0 horas

Según la Tabla 4-1, se presentaron diferencias altamente significativas, siendo entre los tres tratamientos, el T3 (*S. spp [levadura salvaje]*) aquel que presentó un mayor conteo con $3,11 \times 10^6$ UFC/cm³ mientras que el T1 (*Saccharomyces spp.*) obtuvo la menor cantidad de UFC con $2,49 \times 10^6$ UFC/cm³.

Según (Yo Long, 2023), menciona que la activación de las levaduras influye en las UFC/cm³ iniciales, debido a que este es un proceso en el cual se preparan y estimulan las levaduras antes de su incorporación en un medio de fermentación específico, siendo este un paso fundamental para asegurar que se encuentren en su estado óptimo de actividad antes de la inoculación. Mientras tanto (Halm et al, 2004) menciona que, durante la etapa de inoculación, la levadura busca adaptarse al medio de cultivo antes de iniciar el proceso de fermentación. Además, de acuerdo con (Caycedo Lozano et al., 2021) durante esta etapa inicial, los microorganismos empiezan a adecuar su proceso metabólico para el posterior consumo de nutrientes, por lo que, no presentan un incremento ni disminución de su contenido microbiológico.

4.1.1.2 Cinética de crecimiento, 24 horas

Según la Tabla 4-1, se puede observar que existieron diferencias altamente significativas al llegar a las 24 horas en donde el T3 (*S. spp [levadura salvaje]*) presentó la mayor población de levaduras con $3,93 \times 10^6$ UFC/cm³, seguido por el T1 (*Saccharomyces spp.*) mismo que corresponde a una población de $3,79 \times 10^6$ UFC/cm³, por último, el T2 (*S. cerevisae Safale US-05*) obtuvo el menor conteo de unidades formadoras de colonias con $3,57 \times 10^6$ UFC/cm³.

Estos resultados pueden verse influidos por las levaduras utilizadas, de acuerdo con (Quicazan et al, 2018) en su trabajo de investigación denominado: “Producción De Hidromiel En El Contexto De La Apicultura De Colombia”, manifiesta que, en la producción de bebidas alcohólicas, en las cuáles se ocupen levaduras, se deben utilizar cepas específicas para cada producto (cerveza, vino e hidromiel) debido a que afecta al tiempo en el cual los distintos microorganismos se desarrollan ya que aprovechan el sustrato de acuerdo a su capacidad de adaptación. Por otra parte (Flores et al, 2023) menciona que corresponde al proceso por el cual las levaduras ajustan su metabolismo de acuerdo con las condiciones que le brinde el sustrato; esto significa que se adaptan a medios con concentraciones altas de azúcares o similares para los procesos fermentativos donde las levaduras convierten el sustrato (azúcares) en productos de interés como el alcohol.

4.1.1.3 Cinética de crecimiento, 48 horas

Al llegar a las 48 horas, de acuerdo con la Tabla 4-1, la cinética de crecimiento de los distintos tratamientos mostró diferencias altamente significativas, en donde los tratamientos T2 (*S. cerevisiae Safale US-05*) y T3 (*S. spp [levadura salvaje]*) presentaron poblaciones de $2,93 \times 10^6$ UFC/cm³ y $2,91 \times 10^6$ UFC/cm³ respectivamente, al contrario del T1 (*Saccharomyces spp.*) que a las 48 horas alcanzó un crecimiento de $5,62 \times 10^6$ UFC/cm³.

Esto puede deberse a que según (Madigan et al, 2010), la fase de muerte es producido por el agotamiento de nutrientes en el sustrato que se verifica con el descenso de los °Brix por la reducción de la concentración de azúcares que se presentan en los datos obtenidos en esta investigación.

4.1.1.4 Cinética de crecimiento, 72 horas

El comportamiento de la cinética de crecimiento de acuerdo con la Tabla 4-1, demuestra que existieron diferencias altamente significativas, siendo los tratamientos correspondientes a T2 (*Saccharomyces cerevisiae Safale US-05*) y T3 (*S. spp [levadura salvaje]*), aquellas se encuentran en un menor nivel con $4,50 \times 10^4$ UFC/cm³ y $5,40 \times 10^4$ respectivamente, contrario al T1 (*Saccharomyces spp.*) que presenta una mayor carga de levaduras con $4,37 \times 10^6$ UFC/cm³.

Según (Castañeda, 2019, p. 25) menciona que el alcohol empieza a presentarse de manera significativa a partir de las 72h a 120h como resultado de la fermentación alcohólica, causando la inhibición de las levaduras reduciendo notablemente las UFC por la presencia de niveles tóxicos de alcohol obtenidos a partir de los azúcares.

4.1.2 Acidez

Tabla 4-2 Acidez con respecto al tiempo

Horas	<i>T1 Saccharomyces spp.</i>		<i>T2 S. cerevisae Safale US-05</i>		<i>T3 S. spp. (Levadura Salvaje)</i>		Prob
0	13,89	c	11,19	b	10,8	a	<0,0001
24	14,66	b	23,16	c	11,58	a	
48	15,44	a	46,32	b	28,56	c	
72	27,02	a	48,25	c	33,19	b	

Prob. > 0,05 No hay diferencias significativas

Prob. < 0,01 Hay diferencias altamente significativas

Medias con letras iguales en una misma fila no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey.

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

Según la Tabla 4-2, existen diferencias altamente significativas, teniendo al T2 (*S. cerevisae Safale US-05*) una acidez final 48,25 °D, mientras que los tratamientos T1 (*Saccharomyces spp.*) y T3 (*S. spp. [Levadura Salvaje]*) presentaron valores menores de 27, 02 y 33,19 D. respectivamente. En referencia a lo que menciona (Sanz et al., 1994, p. 198) se puede decir que nos encontramos dentro de su investigación ya que mencionado autor dice que se debe presentar una acidez inicial 10- 20 °D y una final de entre 25 a 51 °D.

Comparando entre tratamientos el T2 (*S. cerevisae Safale US-05*) presenta una mayor acidez ya que (Sanz et al.,1994) manifiesta que al ser una levadura propia de cerveza tiende a producir ácido láctico.

4.1.3 pH

Tabla 4-3 pH con respecto al tiempo

Horas	<i>T1 Saccharomyces spp.</i>		<i>T2 S. cerevisae Safale US-05</i>		<i>T3 S. spp. (Levadura Salvaje)</i>		Prob.
0	3,53	a	3,67	a	3,5	a	0,1792
24	4,1	a	3,9	a	3,8	a	0,0625
48	4	a	3,7	a	3,8	a	0,098
72	3,8	a	3,6	a	3,4	a	0,1151

Prob. > 0,05 No hay diferencias significativas

Prob. < 0,01 Hay diferencias altamente significativas

Medias con letras iguales en una misma fila no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey.

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

El pH no presentó diferencias estadísticas durante los tiempos establecidos, teniendo de esta manera para cada tratamiento en su etapa inicial y final respectivamente valores de 3,53-3,8 para el T1 *Saccharomyces spp.*, 3,67-3,6 en el T2 *S. cerevisae Safale US-05* y por último 3,5-3,4 en el caso del T3 *S. spp. (Levadura Salvaje)*. De acuerdo con (Periago et al., 2016, p. 23) el pH en productos derivados de la miel con respecto al tiempo inicial se encuentra entre 3,2 a 4,5 y transcurrido el proceso del metabolismo de nutrientes de la miel, transcurridas 72h se considera un pH adecuado un rango de 3,2 a 4.

4.1.4 °Brix

Tabla 4-4 °Brix con respecto al tiempo

Horas	T1 <i>Saccharomyces spp.</i>	T2 <i>S. cerevisae Safale US-05</i>	T3 <i>S. spp. (Levadura Salvaje)</i>	Prob		
0	24,5	b	24,2	a	37,1	c
24	23,1	a	23,4	a	33,1	b
48	20,2	a	23,2	b	30,5	c
72	20	a	22,9	b	29,3	c

Prob. > 0,05 No hay diferencias significativas

Prob. < 0,01 Hay diferencias altamente significativas

Medias con letras iguales en una misma fila no difieren estadísticamente según la prueba de Tukey.

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

Según los resultados obtenidos en la presente investigación se puede mencionar que el T1 (*Saccharomyces spp.*), T2 (*S. cerevisae Safale US*) y T3 (*S. spp [levadura salvaje]*) con 20, 22,9 y 29,3 °Brix respectivamente a las 72h se encuentran dentro de lo que indica menciona Romero (2012) que se consideran que transcurrido este tiempo la concentración de azúcares deberá estar en un rango de 20 a 40°Brix.

Estas variaciones en la medición de °Brix en el hidromiel pueden deberse al consumo de glucosa, de acuerdo con (CONICET, 2015) en medios con ausencia de oxígeno este sustrato es utilizado para la liberación de energía necesaria para llevar a cabo sus funciones de desarrollo y multiplicación transformando los azúcares en etanol y dióxido de carbono.

4.2 Análisis microbiológico

4.2.1 Mohos y levaduras

Tabla 4-5 Conteo de mohos y levaduras en hidromiel

Mohos y levaduras, UFC/cm ³			
Tratamientos		Media	Máximo
T1 <i>Saccharomyces spp.</i>	1,91x10 ¹	± 4,18 x10 ¹	3,96 x10 ²
T2 <i>S. cerevisiae Safale US-05</i>	1,02x10 ¹	± 2,67 x10 ¹	2,48 x10 ²
T3 <i>S. spp. (Levadura Salvaje)</i>	5,05x10 ¹	± 3,32 x10 ¹	1,19 x10 ²

*UFC/cm³: Unidades Formadoras de colonias.

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

De acuerdo con la Tabla 4-5, el T3 (*S. spp. [Levadura Salvaje]*) presentó una mayor cantidad de UFC con una media de 5,05x10¹ UFC/cm³, contrario a las 1,91x10¹ UFC/cm³ correspondientes al T1 (*Saccharomyces spp.*) y a las 1,02x10¹ UFC/cm³ del T2 (*Saccharomyces cerevisiae Safale US-05*). En sus respectivas investigaciones del hidromiel (Del Pilar et al., 2019) y (Quicazan et al. 2018) recomiendan que se debe ocupar la NTC 3854 para estandarizar estas bebidas fermentadas en donde menciona que el conteo de levaduras deberá ser ≤20 UFC/cm³ por lo que, de esta manera, los resultados indican que todos los tratamientos se encuentran dentro de la normativa colombiana.

4.2.2 Aerobios mesófilos

Tabla 4-6 Conteo de aerobios mesófilos en hidromiel

Aerobios mesófilos, UFC/cm ³			
Levaduras		Media	Máximo
T1 <i>Saccharomyces spp.</i>	3,56 x10 ¹	± 3,53 x10 ¹	5,94 x10 ²
T2 <i>S. cerevisiae Safale US-05</i>	1,25 x10 ¹	± 3,60 x10 ¹	3,96 x10 ²
T3 <i>S. spp. (Levadura Salvaje)</i>	1,95 x10 ¹	± 3,83 x10 ¹	4,95 x10 ²

*UFC/cm³: Unidades formadoras de colonias.

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

El conteo de aerobios mesófilos fue superior en el T1 (*Saccharomyces spp.*) con una media de 3,56 x10¹ UFC/cm³ mientras que las UFC fueron menores en el tratamiento T2 (*S. cerevisiae Safale US-05*) con valores de 1,25 x10¹ UFC/cm³. Los valores obtenidos en la presente investigación se encuentran dentro de lo que menciona (Del Pilar et al., 2019) y (Quicazan et al., 2018) quienes recomiendan utilizar lo estipulado en la NTC 3854, Bebidas Alcohólicas. Cerveza en

donde los valores máximos deben ser ≤ 100 UFC/cm³, por lo tanto, el hidromiel en sus tres tratamientos se encuentra dentro de la norma utilizada por los autores.

4.3 Análisis fisicoquímicos

Tabla 4-7 Análisis fisicoquímicos en hidromiel

Levaduras	Parámetros			
	V/v	pH	Acidez total, ácido láctico (g/L)	Acidez Volátil, ácido acético
<i>T1 Saccharomyces spp.</i>	9,20 a	3,50 a	3,799 c	0,48 a
<i>T2 S. cerevisae Safale US-05</i>	5,60 b	2,87 b	5,450 a	0,06 c
<i>T3 S. spp. (Levadura Salvaje)</i>	8,20 ab	2,97 b	4,844 b	0,24 b
<i>Prob.</i>	0,0134 *	0,0001 **	<0,0001 **	<0,0001 **

Prob. Probabilidad

Prob < 0.05 Existen diferencias significativas (*)

Prob < 0.01 Existen diferencias altamente significativas (**)

Medias con una letra en común no presentan diferencias significativas.

Medias con Muestras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey.

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

4.3.1 V/v de hidromiel

Tabla 4-8 Grados alcohólicos del hidromiel

Levaduras	V/v
<i>T1 Saccharomyces spp.</i>	9,20 a
<i>T2 S. cerevisae Safale US-05</i>	5,60 b
<i>T3 S. spp. (Levadura Salvaje)</i>	8,20 ab
<i>Prob.</i>	0,0134 *

Prob. Probabilidad

Prob < 0.05 Existen diferencias significativas (*)

Prob < 0.01 Existen diferencias altamente significativas (**)

Medias con una letra en común no presentan diferencias significativas.

Medias con Muestras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

Los grados alcohólicos presentan diferencias significativas ($p < 0,05$) como se observa en la Tabla 4-8, los mismos que varían de acuerdo con la levadura que se aplicó dentro del hidromiel. De esta manera, el tratamiento T1 (*Saccharomyces spp.*) con 9,20 V/v es el tratamiento con un mayor contenido alcohólico, contrario a los 5,60 V/v del tratamiento T2 (*S. cerevisae Safale US-05*) que corresponde al tratamiento con menor grado alcohólico. La NTC 3854, Bebidas Alcohólicas. Cerveza., utilizada por (Del Pilar et al., 2019) y (Quicazan et al., 2018) en el control de calidad del hidromiel permite un rango de alcohol de 5-12,0 V/v razón por la cual todos los tratamientos se encuentran dentro de esta normativa.

La producción de etanol puede variar de acuerdo con la concentración de azúcares de la cual se obtiene el hidromiel (CONICET, 2015). A pesar de que este factor es importante también varía la calidad de los azúcares que, de acuerdo con Gonzales, (2017) mejora al producirse la hidrólisis ya que esto induce al incremento de azúcares fermentables como la xilosa, glucosa y arabinosa a través de procesos térmicos que mismos que fueron aplicados en los T1 (*Saccharomyces spp.*) y T2 (*S. cerevisae Safale US-05*).

4.3.2 PH de hidromiel

Tabla 4-9 pH de hidromiel

Levaduras	pH
T1 <i>Saccharomyces spp.</i>	3,50 a
T2 <i>S. cerevisae Safale US-05</i>	2,87 b
T3 <i>S. spp. (Levadura Salvaje)</i>	2,97 b
Prob.	0,0001 **

Prob. Probabilidad

Prob < 0.05 Existen diferencias significativas (*)

Prob < 0.01 Existen diferencias altamente significativas (**)

Medias con una letra en común no presentan diferencias significativas.

Medias con Muestras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey.

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

De acuerdo con la Tabla 4-9, se presentaron diferencias altamente significativas, en donde el T1 (*Saccharomyces spp.*) corresponde al mayor valor con un pH de 3,50 a diferencia de los tratamientos T2 (*S. cerevisae Safale US-05*) y T3 (*S. spp. [Levadura Salvaje]*) 2,97 y 2,87 respectivamente. (Del Pilar et al. 2019) usa la normativa técnica colombiana en su libro denominado: “Proceso de Elaboración de Hidromiel” indicando que el hidromiel mantiene características similares al vino, empleando la “NTC 708. Bebidas Alcohólicas. Vinos de Frutas” estableciendo

un pH que oscila de entre 2,8 a 4 por lo que, los tratamientos se encuentran dentro de los estándares de la normativa.

De acuerdo con (Leal Granadillo et al., 2014) la existencia de diferencias entre tratamientos puede deberse a la concentración de alcohol que cada bebida tiene ya que entre más concentrado se encuentre su pH será mayor, contrario cuando se encuentra a menor concentración por la dilución del alcohol presente en el hidromiel por la liberación de iones de hidrógeno.

4.3.3 Acidez total de hidromiel, expresado en ácido láctico

Tabla 4-10 Acidez total de hidromiel

Levaduras	Acidez total, ácido láctico (g/L)
<i>T1 Saccharomyces spp.</i>	3,799 c
<i>T2 S. cerevisiae Safale US-05</i>	5,450 a
<i>T3 S. spp. (Levadura Salvaje)</i>	4,844 b
<i>Prob.</i>	<0,0001 **

Prob. Probabilidad

Prob < 0.05 Existen diferencias significativas (*)

Prob < 0.01 Existen diferencias altamente significativas (**)

Medias con una letra en común no presentan diferencias significativas.

Medias con Muestras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey.

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

En el hidromiel, la acidez, expresada en ácido láctico, fue superior en el T2 (*S. cerevisiae Safale US-05*) con una media de 5,45 g/L, demostrando que existen diferencias altamente significativas con respecto a los demás tratamientos T1 (*Saccharomyces spp.*) y T3 (*S. spp. [Levadura Salvaje]*) con medias de 3,799 g/l. y 4,844 g/L respectivamente. De acuerdo con la Unión Europea, con registro en el (Diario Oficial de la Unión Europea, 2019) indica que la acidez de hidromiel debe encontrarse en un rango de 3,5 g/L a 8 g/L expresado en ácido láctico, de esta manera los tratamientos se encuentran dentro de este estándar.

La variabilidad existente entre tratamientos puede deberse a que de acuerdo con (Zambrano Velásquez et al., 2018) dentro del complejo proceso de fermentación alcohólica las levaduras son responsables de la producción de ácidos orgánicos y anhídrido carbónico (CO₂) por lo que se incrementa el contenido de acidez durante el proceso de fermentación. Este proceso metabólico variará de acuerdo con la estructura de cada una de las especies de levaduras utilizadas (Salinas 2022); razón por la cual el contenido de ácido láctico varía en cada uno de los tratamientos.

4.3.4 Acidez Volátil de hidromiel

Tabla 4-11 Acidez volátil de hidromiel

Levaduras	Acidez Volátil, ácido acético [g/L]	
<i>T1 Saccharomyces spp.</i>	0,48	a
<i>T2 S. cerevisae Safale US-05</i>	0,06	c
<i>T3 S. spp. (Levadura Salvaje)</i>	0,24	b
Prob.	<0,0001	**

Prob. Probabilidad

Prob < 0.05 Existen diferencias significativas (*)

Prob < 0.01 Existen diferencias altamente significativas (**)

Medias con una letra en común no presentan diferencias significativas.

Medias con Muestras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey.

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

En la Tabla 4-11, se puede observar que, en el parámetro de la acidez volátil expresado en ácido acético presente en el hidromiel, existen diferencias altamente significativas presentando al T1 (*Saccharomyces spp.*) con una mayor acidez volátil (0,48 g/L) en comparación al T2 (*S. cerevisae Safale US-05*) con un valor menor (0,06 g/L). De acuerdo con el Decreto N°188/08 de la Normativa y Avisos Legales del Uruguay, en la modificación al Reglamento Bromatológico Nacional. Bebidas Alcohólicas Fermentadas, siendo este de <2,5 g/L (IMPO 2008). De tal manera que todos los tratamientos se encuentran dentro de lo permitido por el reglamento uruguayo.

El hidromiel pudo haber presentado diferencias entre tratamientos debido a que según indica (Mejía Sánchez, 2018) a medida que la concentración de alcohol aumente se provoca el incremento de la acidez volátil por la presencia de ácido acético debido a la oxidación del etanol, en concordancia con los valores de alcohol establecidos en la presente investigación.

4.4 Análisis sensorial

Tabla 4-12 Análisis sensorial de hidromiel con distintas levaduras

Variables /N° de observaciones	Levaduras						Prob.
	<i>T1 Saccharomyces spp</i>		<i>T2 Saccharomyces cerevisiae Safale US-05</i>		<i>T3 S. spp. (Levadura Salvaje)</i>		
	150		150		150		
Olor	4	a	4	a	4	b	0,0026 *
Color	4	a	4	a	4	b	<0,0001 **
Sabor	4	b	3	a	5	c	<0,0001 **

Prob. Probabilidad

Prob < 0.05 Existen diferencias significativas (*)

Prob < 0.01 Existen diferencias altamente significativas (**)

Medianas con una letra en común no presentan diferencias significativas.

Medianas con Muestras diferentes difieren estadísticamente de acuerdo con la prueba de Kruskal-Wallis.

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

En cuanto a las características de color y olor que fue evaluado por 150 panelistas no entrenados se presentó un valor similar entre los tres tratamientos encontrándose en “Me gusta moderadamente” (4), siendo el sabor como la característica sensorial que permite identificar una variabilidad entre tratamientos teniendo de esta manera al T2 (*S. cerevisiae Safale US-05*) como aquel que tiene la menor calificación (3/5) misma que se encuentra en la escala de “Ni me gusta ni me disgusta” seguido por el T1 (*Saccharomyces spp*) calificado dentro de una escala hedónica con “Me gusta moderadamente” (4/5) y por último como el mejor tratamiento en cuanto al sabor al T3 *S. spp. (Levadura Salvaje)* con una calificación de 5/5 correspondiente a “Me gusta mucho”.

Estas variaciones pueden deberse a que de acuerdo con (Quicazan, et al, 2018) el uso de levaduras no específicas para la producción de bebidas alcohólicas provoca el desarrollo de sabores, olores y colores no deseados. En otro estudio realizado a través de una prueba de preferencia desarrollada por (Sangacha Montezuma, 2020) empleada en un hidromiel sabor a mora encontró que los panelistas se inclinaron en cuanto a preferencia por la bebida que utilizó microorganismos nativos de la miel a diferencia de aquellas levaduras que pasaron por un proceso industrial, concordando de esta manera con los resultados obtenidos en donde se muestra el T3 *S. spp. (Levadura Salvaje)* desarrolló mejores características organolépticas al poseer levaduras endémicas de la miel.

4.5 Análisis de costos

Tabla 4-13 Costos de producción de hidromiel

COSTOS DIRECTOS DE FABRICACIÓN	Cantidad	Precio unitario	Precio total	LEVADURAS		
				<i>Saccharomyces spp.</i>	<i>S.cerevisae Safale US-05</i>	<i>S. spp (levadura salvaje)</i>
MIEL	1kg	\$ 18,90	\$ 18,90	\$ 2,52	\$ 2,52	\$ 5,14
AGUA	1L	\$ 0,15	\$ 0,15	\$ 0,07	\$ 0,07	\$ 0,07
LEVADURA	10g	\$ 4,71	\$ 4,71	\$ 0,75	\$ 1,14	\$ 0
TOTAL			\$ 23,76	\$ 3,34	\$ 3,73	\$ 5,21
COSTOS INDIRECTOS DE FABRICACIÓN						
Mano de obra	1 persona	\$ 3,80	\$ 11,40	\$ 3,80	\$ 3,80	\$ 3,80
Botellas de vidrio	12	\$ 0,34	\$ 4,10	\$ 2,05	\$ 2,05	\$ 2,05
Gas	1tq	\$ 2,70	\$ 2,70	\$ 0,68	\$ 0,68	\$ 0,68
Electricidad			\$ 0,25	\$ 0,06	\$ 0,06	\$ 0,06
TOTAL, DE EGRESOS				\$ 9,93	\$ 10,32	\$ 11,80
COSTOS DE PRODUCCIÓN				\$ 13,27	\$ 14,05	\$ 17,01
PRECIO DE VENTA AL PÚBLICO				\$ 17,25	\$ 18,26	\$ 22,11
UTILIDAD, 30%				\$ 3,98	\$ 4,21	\$ 5,10
CANTIDAD ML				250	250	250
TOTAL, INGRESO POR CADA 250 ml (\$)				\$ 18,95	\$ 20,07	\$ 22,30
BENEFICIO/COSTO				\$ 1,43	\$ 1,35	\$ 1,11

Realizado por: Tierra Carlos., 2024

Como se observa en la Tabla 4-13, el tratamiento perteneciente a la levadura aislada de bosques primarios (T1, *Saccharomyces spp.*), presenta menor costo de producción en comparación al resto de tratamientos, siendo incluso el que presenta un mayor beneficio/costo con \$1,43. El tratamiento en el cual se utilizó levaduras propias de la miel (T3), presenta un precio elevado y un beneficio/costo menor.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Para el proceso de cinética de crecimiento se puede concluir que las levaduras nativas de la miel son las que mejor se adaptaron a los procesos de crecimiento como se lo demostró en la curva de crecimiento en el sustrato.
- Con respecto a los parámetros microbiológicos se concluye que los tratamientos estudiados están dentro de la normativa recomendada, pero el tratamiento 2 presentó un menor conteo de UFC/cm³ en levaduras y aerobios mesófilos.
- Los análisis físico-químicos demostraron que los casos de estudio se encuentran dentro los rangos recomendados por la normativa, siendo el tratamiento 1 aquel que presentó mayor graduación alcohólica a diferencia de los demás tratamientos.
- En el análisis sensorial se encontró resultados similares en los atributos de color y olor en todos los casos de estudio, se considera al tratamiento 3 como el mejor de entre todos al presentar mejores características organolépticas obteniendo una valoración de 5 en el atributo de sabor a diferencia de los otros tratamientos.
- En el análisis económico se obtuvo un beneficio/costo de \$ 1,43 en la levadura aislada de bosques primarios (*T1 Saccharomyces spp.*) con un costo de producción de \$18,95.
- Se establece al T3 (levadura de la miel) como el mejor tratamiento al presentar mejor adaptabilidad dentro del estudio de cinética de crecimiento y al igual que en las características sensoriales, siendo similar en los demás parámetros al resto de microorganismos.

5.2 Recomendaciones

- Para los procesos fermentativos en los cuales se obtenga hidromiel se recomienda utilizar microorganismos propios del sustrato.
- Se recomienda la utilización de pruebas PCR, o agares específicos que permitan una mejor identificación de las levaduras aisladas.
- Realizar un estudio de vida de anaquel del hidromiel para conocer de mejor manera el tiempo de utilidad del producto para poder ser expendido.

BIBLIOGRAFÍA

1. **AGUALEMA VALDEZ, E.** Aislamiento, purificación y selección de microorganismos de interés agroindustrial a partir de suelos de bosques primarios de la provincia de Chimborazo [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería en Industrias Pecuarias, Riobamba, Ecuador. 2023. pp. 20-27. [Consulta: 2023-09-10]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/18796/1/27T00583.pdf>
2. **BORRÁS, C.** La importancia de los suelos. *La importancia de los suelos* [en línea]. 2017. [consulta: 5 noviembre 2023]. Disponible en: <https://www.ecologiaverde.com/la-importancia-de-los-suelos-573.html>.
3. **CASTAÑEDA, M.** Estequiometría y cinética del crecimiento microbiano. *LaTeX Template* [en línea]. 2019. no. Versión 2.1.1, [consulta: 27 diciembre 2023]. Disponible en: <http://www.LaTeXTemplates.com>.
4. **CARRISO, A., CARRISO, C., BENÍTEZ, M., & CARRILLO, L.** “Levaduras aisladas de mieles como antagonistas de mohos patógenos de cultivos. *Revista de la Facultad de Agronomía* [En línea], 2020, La Plata, 119(2), pp. 1-11. [Consulta: 11 septiembre 2023]. ISSN 1669-9513. Disponible en: <https://revistas.unlp.edu.ar/revagro/article/view/10922>
5. **CAYCEDO LOZANO, L., RAMÍREZ, L.C.C., SUÁREZ, D.M.T., CAYCEDO LOZANO, L., RAMÍREZ, L.C.C. y SUÁREZ, D.M.T.** Las bacterias, su nutrición y crecimiento: una mirada desde la química. *Nova* [en línea]. 2021. vol. 19, no. 36, [consulta: 22 enero 2024]. ISSN 1794-2470. DOI 10.22490/24629448.5293. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702021000100049&lng=en&nrm=iso&tlng=es.
6. **DELGADO CAIZAGUANO, S.** Caracterización de microorganismos para uso agroindustrial aislados de un bosque primario en el cantón Cumandá [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería en Industrias Pecuarias, Riobamba, Ecuador. 2023. pp. 40-47. [Consulta: 2023-09-10]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/19454/1/27T00674.pdf>

7. **DEL PILAR, N., ARDILA, R., ERNESTO, M. y CEPEDA, R.** *SENN VA COLECCIÓN LIBROS DE INVESTIGACIÓN CBA PROCESO DE ELABORACIÓN DE HIDROMIEL* [en línea]. 2019. S.l.: Centro de Biotecnología Agropecuaria. [consulta: 13 enero 2024]. ISBN 978-958-15-0674-3. Disponible en: https://repositorio.sena.edu.co/bitstream/handle/11404/7441/Proceso_elaboracion_hidromiel.pdf?sequence=1&isAllowed=y.
8. **DUCHI QUINZO, BRYAN DAVID.** Microorganismos de uso agroindustrial aislados del suelo de un bosque primario de la parroquia Pungalá cantón Riobamba [En línea] (Trabajo de titulación). (Ingeniería) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería en Industrias Pecuarias, Riobamba, Ecuador. 2022. pp. 44-46. [Consulta: 2023-09-10]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/17808/1/27T00553.pdf>
9. **DURANGO LONDOÑO, L.** Evaluación y escalamiento de la producción de levaduras nativas tipo *Saccharomyces spp.* a nivel de laboratorio [En línea] (Proyecto de Grado). (Ingeniería) Universidad EAFIT, Escuela de Ingeniería, Departamento de Ingeniería de Procesos, Medellín, Colombia. 2007. pp. 20-27. [Consulta: 2023-09-10]. Disponible en: https://repository.eafit.edu.co/bitstream/handle/10784/399/LauraPatricia_DurangoLondoño_2007.pdf?sequence=1&isAllowed=y
10. **FAO.** *Portal de los suelos de la FAO* [blog]. 2023. FAO, [Consulta: 08 septiembre 2022]. Disponible en <https://www.fao.org/soils-portal/about/definiciones/es/>
11. **FIQ.** *Mundo Microscópico I: la levadura* [blog]. 2023. Argentina: Facultad de Ingeniería Química. [Consulta: 10 septiembre 2023]. Disponible en: <https://www.fiq.unl.edu.ar/culturacientifica/extension-fiq/mundo-microscopico-i-la-levadura/>
12. **FLORES, G. y AMAYA, D.** Las levaduras y su asombrosa capacidad ante el estrés ambiental. *CIATEJ* [en línea]. 2023. [consulta: 29 enero 2024]. Disponible en: <https://ciatej.mx/el-ciatej/comunicacion/Noticias/Las-levaduras-y-su-asombrosa-capacidad-ante-el-estres-ambiental/345>.
13. **GRAZIATI, G.** *Bosques primarios; qué son, características* [blog]. 2023. Flora y fauna. Ecología verde. [Consulta: 08 septiembre 2022]. Disponible en

<https://www.ecologiaverde.com/bosques-primarios-que-son-caracteristicas-flora-y-fauna-4382.html>

14. **HALM, M., AMOA-AWUA, W.K. y JAKOBSON, M.** handbook of food and beverage fermentation technology. *Handbook of Food and Beverage Fermentation Technology* [en línea]. 2004. [consulta: 18 enero 2024]. Disponible en: https://books.google.com/books?id=PC_O7u1NPZEC&pgis=1.
15. **HANNA.** Midiendo el pH en Hidromiel | HANNA Instruments Colombia. [en línea]. 2021. [consulta: 31 diciembre 2023]. Disponible en: <https://www.hannacolombia.com/blog/post/163/midiendo-el-pH-en-hidromiel>.
16. **INEN. NTE INEN 2 262:2003. INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN** [en línea]. 2003. vol. Primera Edición, [consulta: 31 diciembre 2023]. Disponible en: <https://odaninkasiquito.files.wordpress.com/2015/08/inen-2-262-cerveza.pdf>.
17. **IMPO.** Decreto N° 188/008. *MODIFICACION AL REGLAMENTO BROMATOLOGICO NACIONAL. BEBIDAS ALCOHOLICAS FERMENTADAS- Normativa y Avisos Legales del Uruguay* [en línea]. 2008. [consulta: 3 enero 2024]. Disponible en: <https://www.impo.com.uy/bases/decretos-reglamento/188-2008/1>.
18. **LEAL GRANADILLO, I., TARANTINO RODRÍGUEZ, G., MOTZEZAK, R.H., GUILLÉN, H.M. y BÁSICAS, C.** *Efecto de la temperatura y el pH en la fermentación del mosto de Agave cocui. MULTICIENCIAS.* vol. 14, (2014) ISSN 1317-2255.
19. **MADRID, A.** *Ciencia y Tecnología de los Alimentos.* España: Service Point S.A, 2013.
20. **MEDINA, A.J. FERMENTACION DE LA MIEL PARA OBTENCION DE HIDROMIEL.** *Infometric@ - Serie Ingeniería, Básicas y Agrícolas* [en línea]. 2019. vol. 2, no. 1, [consulta: 4 marzo 2023]. ISSN 2619-2985. Disponible en: <http://infometrica.org/index.php/syh/article/view/63>.
21. **MEJÍA BARAJAS, J., & SAAVEDRA MOLINA, A.** Conociendo las levaduras [blog]. 2019. México: Saber Más-Revista de Divulgación, 2019. [Consulta: 10 septiembre 2023]. Disponible en: <https://www.sabermas.umich.mx/archivo/articulos/97-numero-131/193-conociendo-las-levaduras.html>

22. **MÜLLER, T.** Levadura y su papel en el proceso de elaboración. [en línea]. 2023. [consulta: 31 diciembre 2023]. Disponible en: <https://canalupe.com/wiki/portada/>.
23. **NTE INEN 341.** *Bebidas alcohólicas. Determinación de acidez.*
24. **NTE INEN 372, 2016.** *Bebidas alcohólicas. Vino. Requisitos.*
25. **NTE INEN 1932.** *Bebidas alcohólicas. Licores de frutas. Requisitos*
26. **NTE INEN 2262, 2013.** *Bebidas alcohólicas. Cerveza. Requisitos.*
27. **PERIAGO, M.J., NAVARRO-GONZÁLEZ, ALAMINOS, I., ELVIRA-TORALES, A.B.; y GARCÍA-ALONSO, L.I.** Quality parameters in different botanical origins of honey produced in the Alpujarra. 2016.*AN. VET. (MURCIA)*. S.l.
28. **POLSINELLI.** *Levadura seca Fermentis Safale US-05 (500g)* [blog]. 2022. [Consulta: 10 septiembre 2023]. Disponible en: <https://www.polsinelli.it/es/levadura-seca-fermentis-safale-us-05-500-g-P1335.htm>
29. **PORTILLO CARRASCAL, C.** Identificación de levaduras presentes en el proceso de transformación de polen corbicular a pan de abejas por métodos tradicionales y moleculares [En línea]. 2016. (Trabajo de Investigación). (Maestría) Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Medicina Veterinaria y de Zootecnia, Departamento de Producción Animal, Bogotá, Colombia. pp. 12-57. [Consulta: 2023-09-11]. Disponible en: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/56727/carlayojanaportilocarrascal.2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
30. **QUICAZAN, M.C., CUENCA, M.M. y BLANCO PAZ, A.** *Produccion de hidromiel en el contexto de la apicultura en Colombia* [en línea]. 2018. S.l.: Editorial Universidad Nacional de Colombia. ISBN 9789587836035. Disponible en: <https://elibro.net/es/lc/epoch/titulos/130009>.
31. **RODRÍGUEZ, N., & RUBIANO, M.** *Proceso de elaboración de hidromiel* [En línea]. Mosquera-Cundinamarca: Servicio Nacional de Aprendizaje (SENA). 2019. [Consulta: 11 septiembre 2023]. Disponible en: https://repositorio.sena.edu.co/bitstream/handle/11404/7441/Proceso_elaboracion_hidromiel.pdf?sequence=1&isAllowed=y

32. **ROMERO, C.A. EVALUACIÓN DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA PARA LA PRODUCCIÓN DE HIDROMIEL.** [en línea]. 2012. [consulta: 31 diciembre 2023]. Disponible en: <http://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/12251/300060.2012.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
33. **SALINAS, D. CINÉTICA DEL CRECIMIENTO DE LEVADURAS SACCHAROMYCES CEREVISIAE EN DIFERENTES SUSTRATOS.** [en línea]. 2022. [consulta: 27 diciembre 2023]. Disponible en: http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/18609/1/E-10635_SALINAS%20QUITO%20DANIEL%20FERNANDO.pdf.
34. **SANGACHA MONTEZUMA, Z.** Evaluación Físico Química y organoléptica de una bebida Hidromiel sabor a mora [En línea]. 2020. (Trabajo de titulación). (Maestría) Universidad de las Américas, Facultad de posgrado, Quito, Ecuador. pp. 20-54. [Consulta: 2023-09-11]. Disponible en: <https://dspace.udla.edu.ec/bitstream/33000/12793/1/UDLA-EC-TMACSA-2020-07.pdf>
35. **SANZ, S. y SANZ, M.** Valores De Acidez Libre Lactonica Y Total Y PH De Las Mieles. *SUBIA*, vol. 12. 1994. no. D-110291.
36. **SECRETARÍA DE AGRICULTURA Y DESARROLLO RURAL.** Hidromiel la bebida de los dioses. *Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, Gobierno de México* [en línea]. 2017. [consulta: 31 diciembre 2023]. Disponible en: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/hidromiel-la-bebida-de-los-dioses>.
37. **SUÁREZ, C., GARRIDO, A. y GUEVARA, C.** Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar* [en línea]. 2016. vol. 50, no. 1, ISSN 0138-6204. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223148420004>.
38. **URIBE GUTIÉRREZ, L.** Caracterización fisiológica de las levaduras aisladas de la filósfera de mora [En línea]. 2007. (Trabajo de Grado). Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Escuela de Microbiología Industrial, Bogotá, Colombia. pp. 33-35. [Consulta: 2023-09-10]. Disponible en:

<https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8298/tesis276.pdf;jsessionid=01B7EDB620967A4DC38EACE3DCE7F3DD?sequence=1>

39. **VICUÑA AGUAIZA, G.** Elaboración de una bebida artesanal de baja graduación alcohólica a base de la miel de abeja (*Apis mellifera*) y fruta capulí (*Prunus salicifolia*) [En línea]. 2019. (Trabajo de titulación). (Licenciatura) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Salud Pública, Escuela de Gastronomía, Riobamba, Ecuador. pp. 10-19. [Consulta: 2023-09-10]. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/11828/1/84T00636.pdf>
40. **ZAMBRANO VELÁSQUEZ, D.L., SACÓN VERA, E., MENDOZA ALONZO, J.A., CEDEÑO BRIONES, G.J. y LÓPEZ, M.F.** PARÁMETROS FÍSICOQUÍMICOS Y SENSORIALES DE CERVEZA ARTESANAL ALE CON ALMIDÓN DE PAPA Y ESPECIAS. [en línea]. 2018. Manabí: [consulta: 18 febrero 2024]. Disponible en: <https://sitios.espam.edu.ec/sigloxxi/Ponencias/VI/ponencias/59.pdf>.
41. **ZANDAMELA MUNGÓI, E.** Caracterización Físico-química y evaluación sanitaria de la miel de Mozambique [En línea]. 2006. (Trabajo de Grado). (Doctorado) Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Ciència Animal i dels Aliments, Facultat de Veterinària, Barcelona, España. pp. 165-179. [Consulta: 2023-09-11]. Disponible en: <https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/5701/emfzm1de1.pdf;jsessionid=1C3F>
42. **YO LONG.** Varias etapas y factores que influyen en el crecimiento de la levadura-YoLong Brewtech. [en línea]. 2023. [consulta: 29 enero 2024]. Disponible en: <https://yolongbrewtech.com/es/several-stages-of-yeast-growth/>.



ANEXOS

ANEXO A: INFOSTAT ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO

V/v

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
V/v	15	0.51	0.43	21.56

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	34.53	2	17.27	6.32	0.0134
Levaduras	34.53	2	17.27	6.32	0.0134
Error	32.80	12	2.73		
Total	67.33	14			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=2.78959

Error: 2.7333 gl: 12

Levaduras	Medias	n	E.E.	
Saccharomyces spp.	9.20	5	0.74	A
S. spp. (Levadura Salvaje)..	8.20	5	0.74	A B
S. cerevisae Safale US-05	5.60	5	0.74	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

pH

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH	15	0.79	0.76	8.26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2.63	2	1.31	22.72	0.0001
Levaduras	2.63	2	1.31	22.72	0.0001
Error	0.69	12	0.06		
Total	3.32	14			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.40577

Error: 0.0578 gl: 12

Levaduras	Medias	n	E.E.	
Saccharomyces spp.	3.50	5	0.11	A
S. cerevisae Safale US-05	2.67	5	0.11	B
S. spp. (Levadura Salvaje)..	2.57	5	0.11	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

%Acidez, °D

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%Acidez, °D	15	1.00	1.00	0.64

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	697.00	2	348.50	6309.60	<0.0001
Levaduras	697.00	2	348.50	6309.60	<0.0001
Error	0.66	12	0.06		
Total	697.66	14			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.39655

Error: 0.0552 gl: 12

Levaduras	Medias	n	E.E.	
S. cerevisae Safale US-05	44.50	5	0.11	A
S. spp. (Levadura Salvaje)..	38.44	5	0.11	B
Saccharomyces spp.	27.99	5	0.11	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Acidez Volatil

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Acidez Volatil	15	0.99	0.99	6.80

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0.44	2	0.22	719.10	<0.0001
Levaduras	0.44	2	0.22	719.10	<0.0001
Error	3.7E-03	12	3.1E-04		
Total	0.45	14			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.02962

Error: 0.0003 gl: 12

Levaduras	Medias	n	E.E.	
Saccharomyces spp.	0.48	5	0.01	A
S. spp. (Levadura Salvaje)..	0.24	5	0.01	B
S. cerevisae Safale US-05	0.06	5	0.01	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Levadura	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
OLOR	S. spp. (Levadura Salvaje)..	150	3.92	1.08	4.00	11.00	0.0026
OLOR	Saccharomyces cerevisae Sa..	150	3.67	0.95	4.00		
OLOR	Saccharomyces spp	150	3.53	1.06	4.00		

Trat.	Ranks	
Saccharomyces spp	205.85	A
Saccharomyces cerevisae Sa..	217.15	A
S. spp. (Levadura Salvaje)..	253.50	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Variable	Levadura	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
COLOR	S. spp. (Levadura Salvaje)..	150	4.01	1.01	4.00	20.89	<0.0001
COLOR	Saccharomyces cerevisae Sa..	150	3.55	1.12	4.00		
COLOR	Saccharomyces spp	150	3.49	1.07	4.00		

Trat.	Ranks
Saccharomyces spp	201.08 A
Saccharomyces cerevisae Sa..	210.68 A
S. spp. (Levadura Salvaje)..	264.74 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Variable	Levadura	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
SABOR	S. spp. (Levadura Salvaje)..	150	4.36	0.91	5.00	72.32	<0.0001
SABOR	Saccharomyces cerevisae Sa..	150	3.15	1.31	3.00		
SABOR	Saccharomyces spp	150	3.60	1.12	4.00		

Trat.	Ranks
Saccharomyces cerevisae Sa..	171.27 A
Saccharomyces spp	209.35 B
S. spp. (Levadura Salvaje)..	295.88 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

ANEXO B: INFOSTAT ANÁLISIS SENSORIAL

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Levadura	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
OLOR	S. spp. (Levadura Salvaje)..	150	3.92	1.08	4.00	11.00	0.0026
OLOR	Saccharomyces cerevisae Sa..	150	3.67	0.95	4.00		
OLOR	Saccharomyces spp	150	3.53	1.06	4.00		

Trat.	Ranks
Saccharomyces spp	205.85 A
Saccharomyces cerevisae Sa..	217.15 A
S. spp. (Levadura Salvaje)..	253.50 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Variable	Levadura	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
COLOR	S. spp. (Levadura Salvaje)..	150	4.01	1.01	4.00	20.89	<0.0001
COLOR	Saccharomyces cerevisae Sa..	150	3.55	1.12	4.00		
COLOR	Saccharomyces spp	150	3.49	1.07	4.00		

Trat.	Ranks
Saccharomyces spp	201.08 A
Saccharomyces cerevisae Sa..	210.68 A
S. spp. (Levadura Salvaje)..	264.74 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)

Variable	Levadura	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
SABOR	S. spp. (Levadura Salvaje)..	150	4.36	0.91	5.00	72.32	<0.0001
SABOR	Saccharomyces cerevisae Sa..	150	3.15	1.31	3.00		
SABOR	Saccharomyces spp	150	3.60	1.12	4.00		

Trat.	Ranks
Saccharomyces cerevisae Sa..	171.27 A
Saccharomyces spp	209.35 B
S. spp. (Levadura Salvaje)..	295.88 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0.05)



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA
NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega: 12/04/2024

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellido: Carlos Javier Tierra Escudero
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: Ciencias Pecuarias
Carrera: Agroindustria
Título a optar: Ingeniero Agroindustrial
<p style="text-align: center;"> Ing. Iván Patricio Salgado Tello, MsC Director del Trabajo de Integración Curricular</p> <p style="text-align: center;"> Ing. Tatiana Elizabeth Sánchez Herrera Mg. Asesora del Trabajo de Integración Curricular</p>