

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE ALIMENTOS

Tema: **“Estandarización del proceso de elaboración del champús y tiempo de vida útil.”**

Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del
título de Ingenieras en Alimentos

AUTORAS: Morales Pérez Nicole Geovanna

Peralta Méndez Fátima Magaly

TUTOR: MSc. Rivas Rosero Carlos Alberto

Tulcán, 2023.

CERTIFICADO DEL TUTOR

Certifico que las estudiantes(s) MORALES PÉREZ NICOLE GEOVANNA y PERALTA MÈNDEZ FÁTIMA MAGALY con el número de cédula 0401975529 y 0401832894 respectivamente han desarrollado el Trabajo de Integración Curricular: "Estandarización del proceso de elaboración del champús y tiempo de vida útil".

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en el Reglamento de la Unidad de Integración Curricular, Titulación e Incorporación de la UPEC, por lo tanto, autorizo la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.



MSc. Rivas Rosero Carlos Alberto

TUTOR

Tulcán, julio de 2023

AUTORÍA DE TRABAJO

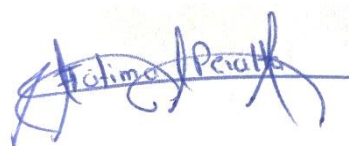
El presente Trabajo de Integración Curricular constituye un requisito previo para la obtención del título de Ingenieras en la Carrera de Alimentos de la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales.

Nosotras, MORALES PÉREZ NICOLE GEOVANNA y PERALTA MÉNDEZ FÁTIMA MAGALY con cédula de identidad número 0401975529 y 0401832894 respectivamente declaramos que la investigación es absolutamente original, auténtica, personal y los resultados y conclusiones a los que hemos llegado son de nuestra absoluta responsabilidad.



MORALES PÉREZ NICOLE GEOVANNA

AUTOR(A)



PERALTA MÉNDEZ FÁTIMA MAGALY

AUTOR(A)

Tulcán, julio de 2023

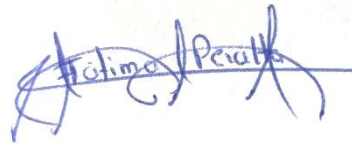
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Nosotras MORALES PÉREZ NICOLE GEOVANNA y PERALTA MÉNDEZ FÁTIMA MAGALY declaramos ser autor de los criterios emitidos en el Trabajo de Integración Curricular: "Estandarización del proceso de elaboración del champús y tiempo de vida útil." Y se exime expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes de posibles reclamos o acciones legales.



MORALES PÉREZ NICOLE GEOVANNA

AUTOR(A)



PERALTA MÉNDEZ FÁTIMA MAGALY

AUTOR(A)

Tulcán, julio de 2023

AGRADECIMIENTO

Gracias a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi por permitirme ser parte de tan prestigiosa institución y convertirme en un profesional con pensamiento crítico, lleno de ética y valores, que contribuirán en mi conciencia humanista y en un futuro ser un profesional de bien sirviendo a la sociedad.

A la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales, en especial a la Carrera de Ingeniería en Alimentos por recibirme en su área, donde sus aulas son templos del conocimiento y saber, brindándome una infraestructura adecuada para desenvolver mis habilidades que serán de gran beneficio en el ámbito profesional.

A mi tutor MSc. Carlos Rivas y a todos mis docentes que impartieron su conocimiento a lo largo de este trayecto de formación, en especial al MSc. Miguel Anchundia por compartir su sabio conocimiento en la rama de microbiología, necesaria a lo largo de la indagación y desarrollo de este proyecto de investigación.

Nicole Geovanna Morales Pérez

Agradezco a Dios por brindarme salud, fortaleza y por permitirme culminar con éxito una etapa más en mi vida profesional. A mi familia y amigos porque me brindaron siempre lo mejor para seguir adelante en mis estudios y por qué estuvieron conmigo en cada momento.

A mis profesores por ser unos excelentes mentores, por compartir sus conocimientos que me han ayudado en mi formación como profesional y persona, por su gran apoyo y entusiasmo en el desarrollo de esta investigación.

Gracias a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a la Carrera de Alimentos por abrirme las puertas y darme la oportunidad de cumplir mis sueños y objetivos, donde aprendí nuevas oportunidades profesionales, éticas y morales.

Fátima Magaly Peralta Méndez

DEDICATORIA

A mis padres Neurio Morales y Gabriela Pérez, gracias por su apoyo moral y económico durante este proceso, por ser el motor de mi vida y haberme impulsado en cada derrota, darme fuerzas para creer en mí. Hoy que concluyo mis estudios, les dedico este logro a ustedes, queridos padres, como una meta más cumplida me enorgullece tenerlos a mi lado en este momento tan importante.

A mis hermanos Steven Morales y Kerly Morales, que han sido mi motivo de fuerza y apoyo durante mi trayecto universitario.

A mis amigos y demás allegados que estuvieron involucrados en las diferentes etapas de este período académico, hemos compartido varias horas de arduo trabajo a lo largo de la formación, hoy culmina esta fantástica aventura, Gracias por todos los momentos vividos y disfrutados a su lado.

Nicole Geovanna Morales Pérez

A mi querida madre Ximena Méndez, por su amor, comprensión, confianza y todo su esfuerzo constante para ayudarme a culminar mis estudios universitarios, por darme siempre todo lo que estuvo a su alcance y por ser la razón fundamental para lograr esta meta y alzar nuevos éxitos.

A mi familia, en especial a mis hermanas, abuelitos y tía, que siempre estuvieron conmigo para darme ánimos, gracias por compartir su tiempo conmigo, por estar de forma incondicional ayudándome en mi formación personal y profesional, por su apoyo a lo largo de mi carrera.

A mis amigos, que desde el primer momento que nos conocimos me ayudaron en mi carrera universitaria, por todos los momentos que hemos pasado juntos y por qué han estado conmigo siempre en cada momento sin esperar nada a cambio. Gracias por todo.

Con amor

Fátima Magaly Peralta Méndez

ÍNDICE

RESUMEN.....	14
ABSTRACT	15
INTRODUCCIÓN	16
I. PROBLEMA	17
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	18
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	18
1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	19
1.4.1. Objetivo General	19
1.4.2. Objetivos Específicos	19
1.4.3. Preguntas de Investigación	19
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	21
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....	21
2.2. MARCO TEÓRICO	22
2.2.1 Generalidades del Maíz.....	22
2.2.2. Fermentación	25
2.2.3. Cinética microbiana	27
2.2.4. Temperatura de la fermentación.....	29
2.2.5. Factores que influye en el proceso fermentativo	29
2.2.6 Microorganismos	31
2.2.7. Método para la identificación de especie de levaduras.....	33
2.2.8. Métodos de conservación de alimentos.....	34
2.2.9. El champús	35
2.2.10. Tiempo de vida útil	36

2.2.11. Bebidas fermentadas tradicionales	36
III. METODOLOGÍA	38
3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO	38
3.1.1. Enfoque	38
3.1.2. Tipo de Investigación.....	38
3.2. HIPÓTESIS	38
3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	38
3.3.1 Operacionalización.....	39
3.4. MÉTODOS UTILIZADOS	42
3.4.1 Formulación base	42
3.4.2 Proceso de elaboración del Champús tradicional	43
3.4.3 Análisis microbiológico de la fermentación del maíz molido	44
3.4.4. Análisis estadístico del conteo microbiano en la etapa 1	44
3.4.5. Extracción de ADN por Biología Molecular	45
3.4.6. Determinación de calidad e inocuidad.....	47
3.4.7. Análisis sensorial	47
3.4.8. Análisis fisicoquímico	47
3.4.9. Determinación del tiempo de vida útil.....	48
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	49
4.1. RESULTADOS	49
4.1.1. Análisis microbiológico del conteo de colonias de la fermentación del maíz molido en la etapa 1	49
4.1.2 Análisis estadístico del conteo de colonias de la fermentación del maíz molido en la etapa 1	50
4.1.3. Análisis fisicoquímico de la fermentación del maíz molido en la etapa 1 .	51
4.1.4. Análisis estadístico de los aspectos fisicoquímicos de la fermentación del maíz molido en la etapa 1	52

4.1.5. Detección e identificación molecular de las levaduras en la fermentación del maíz molido.....	52
4.1.6 Formulación estandarizada	59
4.1.7. Estandarización del proceso de elaboración del Champús.....	60
4.1.8. Análisis microbiológico de calidad e inocuidad de la bebida fermentada champús	61
4.1.9. Análisis sensorial del Champús	61
4.1.10. Análisis fisicoquímico del champús en la etapa 2.....	64
4.1.11. Análisis estadístico de los aspectos fisicoquímicos del champús en la etapa 2.....	65
4.1.12. Tiempo de vida útil del producto final.....	66
4.2. DISCUSIÓN	66
4.2.1. Análisis microbiológico del conteo de colonias de la fermentación del maíz molido en la etapa 1	66
4.2.2. Análisis fisicoquímico de la fermentación del maíz en la etapa 1	67
4.2.3. Detección e identificación molecular de las levaduras en la fermentación del maíz molido.....	68
4.2.4. Análisis microbiológico de calidad e inocuidad del champús.....	70
4.2.5. Análisis sensorial	71
4.2.6. Análisis fisicoquímicos del champús.....	71
4.2.7 Tiempo de vida útil	73
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	74
5.1. CONCLUSIONES	74
5.2. RECOMENDACIONES.....	75
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	76
VII. ANEXOS.....	82

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valor nutricional del maíz amarillo	24
Tabla 2. Tipos de fermentación y sus productos industriales	27
Tabla 3. Variables etapa 1	40
Tabla 4. Variables etapa 2	41
Tabla 5. Análisis estadístico del conteo microbiológico en la etapa 1	44
Tabla 6. Primers utilizados para la identificación de levaduras presentes en la fermentación del maíz.	46
Tabla 7. Ficha de evaluación sensorial	47
Tabla 8. Recuento de mohos y levaduras	49
Tabla 9. Análisis estadístico del conteo de colonias de la fermentación de maíz molido	51
Tabla 10. Resultado del análisis fisicoquímico de la fermentación del maíz en la etapa 1.	51
Tabla 11. Análisis estadístico de los aspectos fisicoquímicos de la fermentación del maíz molido	52
Tabla 12: Resultados del análisis microbiológico de calidad e inocuidad del champús	61
Tabla 13: Análisis estadístico de la evaluación sensorial del Champús	64
Tabla 14. Resultados del análisis fisicoquímico del champús	64
Tabla 15. Análisis estadístico de los aspectos fisicoquímicos del champús	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Curva de crecimiento microbiano.....	28
Figura 2. Diagrama de flujo de la elaboración del champús tradicional	43
Figura 3. Especie de levadura 1 aislada a 25°C por 7 días	52
Figura 4. Especie de levadura 2 aislada a 25 °C por 7 días	53
Figura 5. Especie de levadura 3 aislada a 25 °C por 7 días	53
Figura 6. Especie de levadura 4 aislada a 25 °C por 7 días	53
Figura 7. Especie de levadura 5 aislada a 25 °C por 7 días	53
Figura 8. Especie de levadura 6 aislada a 25 °C por 7 días	54
Figura 9. Especie de levadura 7 aislada a 25 °C por 7 días	54
Figura 10. Electroforesis en gel de agarosa del producto de PCR de la región ITS1-ITS4 de aislados presuntivos de levaduras, Línea 2 a línea 8, aislados M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7; línea 1 control negativo; línea 9 y M marcador de peso molecular 1Kb.	54
Figura 11. Electroforesis en gel de agarosa del producto de PCR de la región LN1-LN4 de aislados presuntivos de levaduras, Línea 2 a línea 8, aislados M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7; línea 1 control negativo; línea 9 y M marcador de peso molecular 1Kb.	55
Figura 12. Árbol filogenético basado en el método de Neighbor Joining de las secuencias obtenidas para la región ITS1-ITS4 de aislados de especies de levaduras obtenidas en la fermentación del maíz molido para la elaboración del champús y de cepas de referencia de NCBI. Candida maltosa fue utilizada como outgroup.	56
Figura 13. Árbol filogenético basado en el método de Neighbor Joining de las secuencias obtenidas para la región LN1-LN4 de aislados de especies de levaduras obtenidas en la fermentación del maíz molido para la elaboración del champús y de cepas de referencia de NCBI. Candida maltosa fue utilizada como outgroup.	57
Figura 14. Diagrama de flujo de la estandarización del Champús.....	60
Figura 15. Análisis sensorial del atributo color	61
Figura 16. Análisis sensorial del atributo aroma	62
Figura 17. Análisis sensorial del atributo sabor	62

Figura 18. Análisis sensorial del atributo textura.....	63
Figura 19. Análisis sensorial del champús	63
Figura 20. Pesado del maíz.....	89
Figura 21. Molienda del maíz	89
Figura 22. Proceso de fermentación a diferentes porcentajes.....	89
Figura 23. Crecimiento de microorganismos en el maíz fermentado	90
Figura 24. Inoculación de la muestra madre.....	90
Figura 25. Análisis microbiológico	90
Figura 26. Recuento de mohos y levaduras	90
Figura 27. Medición de pH	91
Figura 28. Medición de brix	91
Figura 29. Medición de viscosidad	91
Figura 30. Medición de proteína.....	92

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Acta de la sustentación de Predefensa del TIC.....	82
Anexo 2. Certificado del abstract por parte de idiomas	84
Anexo 3. Informe anti plagio.....	86
Anexo 4. Aplicación de la encuesta.....	88
Anexo 5. Proceso de la fermentación del maíz molido para la elaboración del champús	89

RESUMEN

Esta investigación tiene como objetivo principal estandarizar el proceso de elaboración de champús y determinar su tiempo de vida útil. El estudio se llevó a cabo en dos etapas. En la primera etapa, se determinó cantidades y porcentajes para la elaboración del champús de forma tradicional, donde se analizó el crecimiento microbiano y aspectos fisicoquímicos de pH y brix para los tratamientos al 40 %, 50 % y 60 % de maíz amarillo y completando al 100 % con agua, a una temperatura estándar de 25 °C. Se obtuvo como resultado que el tratamiento óptimo fue el T3 con un 60 % de maíz molido, para esto se aplicó la fórmula cuantitativa de unidades formadoras de colonias (UFC) por mililitro o gramo de muestra y se validó mediante un análisis estadístico completamente al azar (DCA). En la segunda etapa, se realizó una formulación estandarizada para la elaboración del champús, también se realizó un análisis de biología molecular al mejor tratamiento para identificar los tipos de levaduras presentes en la fermentación del maíz molido, de este análisis se aisló un total de 7 levaduras, de estas se identificaron cuatro tipos, como resultado se obtuvieron las siguientes levaduras: *Wickerhamomyces anomalus*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida tropicalis* y *Pichia kluyveri*. Se realizó un análisis sensorial con un panel de 50 jueces no entrenados aplicando una prueba de aceptabilidad con una escala hedónica donde se evaluaron atributos de color, aroma, sabor y textura, presentando inoculaciones del 0,5 %, 1 % y 2 % de la muestra madre, dando como resultado que el tratamiento T2 con una inoculación del 1 % tuvo mejor aceptabilidad. Se determinó los parámetros fisicoquímicos para el mejor tratamiento del análisis sensorial, obteniendo como resultado un pH de 5,25, brix de 10,7, viscosidad de 190,4 mPa's y 0,476 % de proteína. Finalmente, al analizar los aspectos fisicoquímicos y sensoriales del champús el tiempo de vida útil fue de 13 días a una temperatura de refrigeración (4°C), cumpliendo con los análisis de calidad e inocuidad de la norma NTE INEN 1529-7.

Palabras claves: Levaduras, champús, vida útil.

ABSTRACT

The main objective of this research is to standardize the Champús preparation process and determine its useful life. The study was carried out in two stages. In the first stage, quantities and percentages were determined for the preparation of Champús in the traditional way, where the microbial growth and physicochemical aspects of pH and brix were analyzed for the treatments at 40%, 50% and 60% of yellow corn and completing 100% with water, at a standard temperature of 25 °C. It was obtained as a result that the optimal treatment was T3 with 60% ground corn, for this the quantitative formula of colony-forming units (CFU) per milliliter or gram of sample was applied and validated by means of a completely random statistical analysis. In the second stage a standardized formulation was developed for the preparation of Champús, also a molecular biology analysis was carried out for the best treatment to identify the types of yeasts present in the fermentation of ground corn, from this analysis a total of 7 isolated yeasts, of which 4 types were identified, as a result of they were obtained the following yeast: *Wickerhamomyces anomalus*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida tropicalis* and *Pichia kluyveri*. A sensory analysis was done with a panel of 50 untrained judges applying an acceptability test with a hedonic scale where attributes of color, aroma, flavor and texture were evaluated, presenting inoculations of 0.5%, 1% and 2% of the mother sample, resulting in the T2 treatment with an inoculation of 1% had better acceptability. The physicochemical parameters for the best sensory analysis treatment were determined, resulting in a pH of 5,25, brix of 10,7, viscosity of 190,4 mPa's and 0,476% protein. Finally, when the physicochemical and sensory aspects of the champús were analyzed, the shelf life was 13 days at a refrigeration temperature (4°C), complying with the quality and safety analyzes of the NTE INEN 1529-7 standard.

Keywords: Yeasts, champús, shelf life

INTRODUCCIÓN

Las bebidas fermentadas tradicionales son elaboradas en países de América del Sur, como Ecuador, Perú y Colombia. En Ecuador se produce una gran variedad de bebidas fermentadas, entre ellas el champús, es una bebida con un bajo contenido de alcohol, elaborado a base de maíz que es triturado y fermentado naturalmente, sometido a ebullición para finalmente adicionar miel de panela, mote, frutas y especias.

Ecuador es uno de los países que produce gran variedad de maíz, que es utilizado de manera inadecuada, ya que su mayor porcentaje se utiliza para la alimentación animal y el restante para la producción de bebidas fermentadas. Las prácticas gastronómicas actuales y la cultura no son conscientes de este tipo de bebidas, debido a varios factores como la tecnología, hoy en día se han creado nuevas bebidas con diferentes ingredientes, estas son más acogidas por el paladar de los consumidores por su sabor, pero generan alteraciones en la salud. Existe información limitada sobre las bebidas fermentadas, en especial del champús, debido a los escasos estudios e investigaciones que hablen sobre el proceso de elaboración de esta bebida.

El maíz es uno de los alimentos más consumidos en el Ecuador debido a que presenta un elevado contenido de vitaminas, fibra, almidón y carbohidratos, es considerado un antioxidante que previene enfermedades degenerativas es por ello por lo que se lo ha utilizado en la elaboración de bebidas fermentadas y en la industria agroindustrial (Galecio y Haro, 2012).

En esta investigación se va a evaluar el proceso de fermentación de una bebida fermentada tradicionalmente (champús) determinando los tipos de microorganismos que están presentes en la fermentación del maíz para su elaboración y modificando los porcentajes de maíz y agua, implementando una inoculación del cultivo madre y conservando a temperatura ambiente y de refrigeración para determinar qué condiciones mejoran las características sensoriales, fisicoquímicas y tiempo de vida útil de esta bebida.

I. PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En Ecuador se cultivan de 1.2 a 1.3 millones de toneladas de maíz al año, en su gran mayoría utilizado para alimentos de animales. Se estima que cada año se desperdician 200 mil toneladas de maíz de todas las variedades, el 5 % pertenece a maíz amarillo que se lo utiliza para consumo directo en bebidas tradicionales como morocho, champús y pringa (Bolaños, 2020).

Las costumbres y la cultura gastronómica han desaparecido por influencia de una nueva generación que desconoce los productos y el valor agregado que se les puede dar, lo que ocasiona pérdida y deterioro paulatino a lo largo del tiempo debido a diversos factores como la modernidad, la tecnología y la inmigración que se ve influenciada en la pérdida del valor de identidad y la gastronomía (Maldonado, 2011).

La elaboración de un producto artesanal se considera como una habilidad que manifiesta la discreción de personas que no revelan sus particulares métodos de producción. En muchos procesos se mezcla con valores religiosos y místicos (De Florio Ramírez, 2008).

Los adultos que son conocedores de las recetas de estos productos ancestrales conservan este conocimiento y son reservados de compartirlo, por lo tanto, existe información limitada sobre la elaboración del champús. La existencia de lugares específicos que expenden esta bebida ancestral no es muy frecuente, provocando que su consumo reduzca, ya que su elaboración es solo en fechas festivas (Paredes Parra, 2019).

Redacción Sociedad (2016) manifiesta que el bajo consumo de las bebidas tradicionales se da porque actualmente el 81.5 % de la ciudadanía ecuatoriana ingiere bebidas con alto nivel de azúcar y colorantes, lo que provoca alteraciones en la salud, ya sea de tipo cardiovascular, diabetes, obesidad, entre otras (Bolaños, 2020).

En la elaboración de productos fermentados se producen varios microorganismos como las bacterias acéticas, bacterias ácido-lácticas y levaduras, que al no ser controladas de la manera adecuada ocasionan problemas en los parámetros fisicoquímicos, sensoriales y en su conservación (Camacho, 2016).

Los parámetros fisicoquímicos y sensoriales de una bebida fermentada se pueden ver afectados por su mala fermentación, por el tiempo de cocción o el clima, provocando variaciones en cuanto al color, sabor agridulce, aroma desagradable, textura viscosa, aumento del contenido de azúcares reductores, extracto seco y peso específico. El tiempo de fermentación y la cantidad de levadura intervienen significativamente en el período fermentativo, a más levadura menor tiempo de fermentación (Bustamante, 2019).

El país no cuenta con una norma INEN para bebidas fermentadas tradicionalmente, se comparan los resultados alcanzados por las organizaciones internacionales que han establecido normas microbiológicas, con el fin de salvaguardar la salud del consumidor, afianzar las prácticas adecuadas en la comercialización del alimento y promover la armonización de estándares alimenticios que son entidades con puntos de referencia viables (López, 2015). Ecuador no exporta en gran cantidad jugos o bebidas fermentadas, debido a que sus niveles de industrialización son muy bajos o no se desarrollan.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Estandarizar el proceso de elaboración del champús y determinar el tiempo de vida útil contribuirá en la industrialización de la bebida ancestral?

1.3. JUSTIFICACIÓN

El Champús proviene del nombre quechua Chapusca que se atribuye como mezcla. Es característico del Norte de Perú, también es muy consumido en Colombia y Ecuador. Está compuesto por ingredientes tradicionales como el maíz blanco o amarillo fermentado, hojas de naranja agria, hierba luisa y manzanilla. Las especias añadidas brindan beneficios nutricionales y el sabor específico de la bebida (Ojeda y Ubillús, 2015).

El maíz aporta una serie de beneficios al organismo y se ha utilizado desde la antigüedad en América Latina y Europa. Presenta un alto contenido de fibra con un 2,8 %, almidón con el 83 % y carbohidratos con el 45,37 %. Es un grano seco, rico en vitamina B1 y Vitamina A, considerado un gran antioxidante que previene enfermedades degenerativas (Bolaños, 2020).

Según (L. Paliwal, 2001) al distinguir la integridad de documentar de mejor manera la información relacionada con el proceso de fermentación y el miedo a perder el “conocimiento nativo” a medida que los cambios técnicos y las familias desasisten las prácticas culturales de la conservación de los alimentos, se establece documentos sobre los beneficios que genera la fermentación de estos.

La fermentación es considerada un proceso natural que las personas han utilizado con el fin de enriquecer el sustrato del alimento, este proceso cumple con la función de atribuir mejoras en las características sensoriales del producto, es un método efectivo para la conservación de los alimentos (Asanza y Chacón, 2018).

Las bebidas fermentadas presentan propiedades curativas, estudios han demostrado que la levadura proporciona tiamina y riboflavina durante su proceso. Aporta en la estimulación de la flora intestinal, digestión, disminución del colesterol, aumento de la concentración de vitaminas y proteínas (Díaz, 2015).

El presente proyecto de investigación se fomentará en el estudio de los métodos de fermentación de maíz y los tipos de microorganismos presentes en la fermentación de la misma. Se va a realizar un análisis de laboratorio que permitirá caracterizar los microorganismos presentes, los aspectos fisicoquímicos, sensoriales y tiempo de vida útil que se desarrollan en el proceso de elaboración del champús para establecer una formulación de elaboración técnica.

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General

- Estandarizar el proceso de elaboración del champús y tiempo de vida útil.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar la formulación base del champús tradicional.
- Identificar el tipo de microorganismos presentes en la fermentación del maíz molido.
- Analizar las características fisicoquímicas y sensoriales del champús.
- Estudiar el tiempo de vida útil del mejor tratamiento del champús.

1.4.3. Preguntas de Investigación

- ¿Cuál es la formulación base de elaboración del champús?

- ¿Qué tipo de microorganismos se desarrollan durante la fermentación del maíz molido?
- ¿Cuáles son las características fisicoquímicas y sensoriales que presenta la bebida fermentada?
- ¿Cuál es la temperatura y tiempo óptimos para la conservación del champús?
- ¿El color, aroma, sabor y textura del producto será agradable?
- ¿Cuáles son los parámetros adecuados para alargar la vida útil del producto

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Según (Guachamin, 2021) en su investigación, denominada, "Elaboración de Bebida Fermentada Tradicional de la Sierra Norte Ecuatoriana a base de maíz (Jora), utilizando métodos de conservación para incrementar su tiempo de vida útil" afirma:

Al implementar los métodos de conservación para aumentar su tiempo de vida útil se observó que en el análisis microbiológico la cantidad de mohos y levaduras obtenidas es baja, con resultados <10 (menos de diez), al igual que en el resultado de las unidades formadoras de colonias (UFC), esto estableció que su proceso de manipulación de alimento fue correcto según la norma INEN 2337.

Según (Asanza y Chacón, 2018) en su investigación, denominada "Análisis Cultural y Sensorial de la chicha de jora elaborada en la sierra norte ecuatoriana (Imbabura y Pichincha)", afirma:

La realización de esta investigación tiene como fin aplicar un análisis sensorial por medio de un análisis descriptivo para determinar las características sensoriales de distintas formulaciones de chicha. En el transcurso de la investigación de campo se encontró una problemática social, debido a la escasa información y valorización de la chicha de jora en la Sierra Norte, las cual ha generado una serie de prejuicios acerca de su elaboración.

Según (Abarca, 2021) en su investigación, denominada "Bebida nutricional a partir de la mezcla fermentada maíz-soya" afirma:

En el proceso de fermentación la cantidad de aminoácidos aumentó, entre ellos prolina, treonina, histidina, fenilamina, lisina y tirosina, mientras que el triptófano no sufrió ninguna alteración. La bebida fermentada maíz-soya con 1 % de yogurt comparado con su testigo presentó una acidez comprendida entre 0.53 % a 0.45 % de ácido láctico y pH de 4.08 a 4.37 de manera respectiva. Las variables no fueron afectadas por el factor de estudio, por lo que alcanzó un buen balance de aminoácidos.

Según (Suarez Ventura, 2017) en su investigación "Características organolépticas y determinación de parámetros fisicoquímicos de la chicha de jora preparada por método tradicional y muk'eado" afirma:

La preparación de la chicha de jora de manera tradicional, en cuanto a sus características sensoriales todas son características de esta bebida y referente a las características fisicoquímicos son muy similares a los de otros trabajos realizados. Por otro lado, la chicha de jora elaborada por el método de muk'eado detalla que todas sus características sensoriales son propias de la bebida, al igual que sus parámetros fisicoquímicos. Se concluye que, al aplicar diferentes métodos para la elaboración de la chicha de jora con los mismos ingredientes, se pudo encontrar cierta particularidad en cada una de las bebidas.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1 Generalidades del Maíz

2.2.1.1 Definición.

El maíz es un grano alimenticio muy antiguo perteneciente a la familia gramínea, contiene una alta viabilidad en la elaboración de carbohidratos y es considerado el primer cereal que fue implementado a importantes cambios tecnológicos de su forma de cultivo (Bolaños, 2020).

Tiene un estatus económico muy alto en el mundo ya sea como alimento de fuente animal, humana e industrial. A pesar de que no tiene un origen exacto, se considera que los agricultores lo han cultivado y extenuado desde aproximadamente 7000 a 10000 años. Según teorías dicen que su origen es de Asia, de las regiones andinas de América, pero sus estudios detallan que es un alimento antiguo que proviene de lugares arqueológicos del país mexicano (Bolaños, 2020).

2.2.1.2 Variedad del maíz.

- **Maíz Duro Amarillo.**

Este tipo de maíz germina mejor, especialmente en suelos húmedos y frescos. Por lo general, presenta una madurez temprana y se seca de manera instantánea a medida que alcanza la madurez fisiológica, por ende, es menos afectado por las

plagas y su almacenamiento. Se utilizan ampliamente en la producción de maicena y son muy preferidos como alimento humano (L. Paliwal, 2001).

El maíz amarillo duro utilizado para la preparación de alimentos balanceados, por la industria avícola y otras crianzas, constituye uno de los primordiales alimentos cultivados en el mundo, tanto para humanos, animales, aves, etc. (MINAGRI, 2015).

Como alimento se destaca en el contenido de hidratos de carbono, proporcionado por su abundante almidón y alto contenido de proteína (9 %), alto contenido de vitamina B1, antiestrés, Vitamina A, en forma de betacaroteno por el color amarillo del grano, micronutrientes como potasio, fósforo, magnesio, hierro, que ayudan a prevenir varios tipos de cáncer (MINAGRI, 2015).

2.2.1.3 Valor nutricional.

Es un alimento predominante energético, rico en nutrientes digestibles totales. La cebada y el arroz desde su valor nutricional son más saludables a comparación de otros, excepto en su contenido proteico. Tiene un alto contenido de almidón en un 70 % y un reducido contenido de proteína con el 7 %. Como cereal es un alimento que tiene una elevada cantidad de grasa con el 4 %, tiene porcentajes característicos de potasio, fósforo y porcentajes bajos de hierro, zinc y cobre (N. Guerra, 2017).

Contribuye al organismo con varios beneficios, desde la antigüedad en América y consecutivamente en Europa. Presenta una fácil digestión debido a que contiene un elevado porcentaje en fibra, es adecuado para dietas que reducen el colesterol, contiene hierro, potasio, fósforo, grasa poliinsaturada, carbohidratos, ácidos grasos y vitaminas A, E y B (Bolaños, 2020).

Tabla 1. Valor nutricional del maíz amarillo

(g/100g)	Maíz
Carbohidratos	65 %
Humedad	11.3 %
Proteína	8.8 %
Grasa	3.8 %
Fibra	13.1 %
Minerales	1.3 %

Fuente: (Urango, 2014)

2.2.1.4. Zonas de producción

En la sierra ecuatoriana su cultivo es muy importante debido a la producción y es considerado un alimento fundamental en la dieta de la población. La cosecha del año 2020 tuvo un rendimiento de 69 130 hectáreas, la del grano seco fue de 1, 61 t ha-1 y la del choclo fue de 3, 68 t ha-1. Su principal limitación es la baja productividad, debido a la vulnerabilidad de las siembras ante cambios climáticos, el más importante en la Sierra fue la sequía, lo que representó una pérdida de rendimiento del 34 -57% (Innovación, 2021).

La gran variedad de maíz en distintas provincias de la Sierra es debido a las tradiciones y costumbres de los agricultores. El maíz amarillo se consume principalmente en Pichincha, Imbabura y Carchi, en la parte central del país como en Chimborazo, Tungurahua y en especial Bolívar se cultiva el maíz blanco y en las tierras altas como Azuay y cañar se cultiva el maíz blanco amorochado (Yáñez et al. 2013).

2.2.1.5 Usos

El uso primordial del maíz es alimenticio. Nuestros antepasados consumían este cereal de diversas maneras como: tostado (entero), mote (hervido y pelado), choclo (fresco y cocinado), morocho (molido y semi cocinado), para la elaboración de chicha y subproductos como humitas, vicundos, tamales, etc. (Guerrero et al. 2012).

Es consumido por los humanos ya sea de manera procesada o fresca. Representa el 40 % del consumo animal y lo demás hace referencia a otros usos, se puede implementar técnicas para molerlo en seco y así poder generar varios productos como harina, sémola, entre otros (Bolaños, 2020).

2.2.2. Fermentación

Es una reacción química que resulta de manera natural en función a la actividad de microorganismos y ayuda a la conversión de sustancias complejas en compuestos orgánicos simples. La levadura y algunas bacterias descomponen los azúcares existentes en alimentos como cereales y frutas para producir nuevas sustancias como alcohol, ácido y dióxido de carbono. La fermentación es un proceso muy amplio utilizado de manera constante en la industria alimentaria. Gracias a esto conseguimos alimentos más perdurables, sabrosos, esponjosos, nutritivos y fácilmente digeribles (Becerra, 2020).

La fermentación microbiana es considerablemente utilizada en la industria alimentaria: la fermentación láctica produce derivados lácticos y la fermentación alcohólica produce diferentes bebidas alcohólicas (Becerra, 2020).

En el proceso de fermentación el tipo de levadura es un factor que influye de manera directa, por ello se cultiva primero en el laboratorio y luego se lleva a inocular el mosto para obtener la cepa de una misma especie que cumpla con su objetivo (Cabrera, 2012).

La levadura en su proceso fermentativo incluye a las enzimas para poder desarrollarse de mejor manera, estas se dividen en dos categorías: las exoenzimas que son las que actúan fuera de la célula y las endoenzimas las que actúan dentro de ella. Como resultado final en base a su acción presentan la producción de etanol y CO₂, los cuales se aíslan y purifican en los procesos fermentativos para ser implementados en el producto final (Cabrera, 2012).

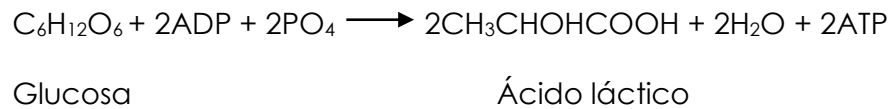
2.2.2.1 Tipos de fermentación

- **Fermentación Láctica**

La llevan a cabo las bacterias *Lactobacillus* y *Enterobacteriaceae*, algunos protozoos y el músculo esquelético humano, e implica la adquisición de ácido láctico a partir de azúcares. En la fermentación del ácido láctico, el piruvato producido en la glucólisis se convierte en ácido láctico por acción del lactato deshidrogenasa. El

ácido láctico ayuda a aumentar la acidez y el sabor de los productos lácteos, verduras, legumbres, granos, carnes y también mejora su estabilidad y seguridad microbiológica, ya que limita el crecimiento de otras bacterias que causan deterioro (Puerta 2010).

Se expresa en la siguiente fórmula:



- **Fermentación alcohólica**

Se lleva a cabo principalmente por levaduras que producen etanol y dióxido de carbono. Cuando hay oxígeno, las levaduras respiran, crecen y oxidan completamente la glucosa para obtener ATP, pero en condiciones anaeróbicas, estos microbios fermentan azúcares como la glucosa y algo de lactosa. Entonces, en la secuencia de reacciones glucolíticas, la glucosa se convierte en piruvato, luego el piruvato descarboxilasa convierte el piruvato en acetaldehído y finalmente el alcohol deshidrogenasa convierte el acetaldehído en etanol (Puerta 2010).

Esta fermentación puede representarse por la siguiente ecuación:

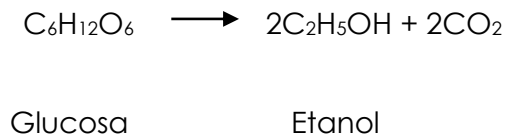


Tabla 2. Tipos de fermentación y sus productos industriales

Tipo de fermentación	Microorganismos fermentadores	Sustratos	Productos
Alcohólica o etanólica	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>S. ellipsoideus</i> , <i>S. anamensis</i> , <i>S. carlsbergensis</i> , <i>Candida pseudotropicalis</i> , <i>Torulopsis spp.</i> , <i>Mucor spp.</i> , <i>Kluyveromyces fragilis</i> , <i>Sarcina ventriculi</i> , <i>Zymomonas mobilis</i>	Trigo, arroz, maíz Malta de cebada, jugo de frutas, caña de azúcar, sorgo, melaza, remolacha, soya, suero de leche etc.	Etanol, vinos, cerveza, licores, bebidas destiladas, pan, salsas
Láctica homofermentativa	<i>Streptococcus thermophilus</i> <i>S. lactis</i> , <i>S. faecalis</i> , <i>Pediococcus cerevisiae</i> y por la mayoría de los <i>Lactobacillus</i> como <i>L. lactis</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. casei</i>	Leche, suero de leche, vegetales, sacarosa	Yogur, suero de leche, quesos, mantequilla, kumis, encurtidos
Láctica heterofermentativa	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Lactobacillus brevis</i> y <i>L. fermenti</i> , <i>Bifidobacterium bifidus</i>	Leche, suero de leche, vegetales, sacarosa	

Fuente: (Puerta, 2010)

2.2.3. Cinética microbiana

Es el aumento del número de células o de la masa celular por unidad, en función del tiempo en una población microbiana. En la curva de crecimiento de un cultivo microbiano, se puede subdividir en cuatro partes distintas denominadas: fase de latencia, fase exponencial, fase estacionaria y fase de muerte (Chicaiza y Parra, 2020).

2.2.3.1. Fase latente

Corresponde a la fase en la que el microorganismo se adapta a las condiciones ambientales antes de reiniciar el ciclo celular, normalmente esta fase puede durar de 12 a 24 horas, tiempo durante el cual las células están en proceso de ajuste metabólico y reparación de las células y por lo tanto no son capaces de reproducirse (Chicaiza y Parra, 2020).

2.2.3.2 Fase exponencial o log

En esta fase, las células microbianas que se han adaptado a las condiciones del medio de fermentación se replican continuamente a un ritmo constante, de modo que cada período de tiempo la población de bacterias crece exponencialmente a

medida que se agotan los nutrientes del medio. Durante este período, se generaron muchas bacterias entre un rango de 1-3 horas (Chicaiza y Parra, 2020).

2.2.3.3. Fase estacionaria

Es el resultado del agotamiento de los nutrientes disponibles o la acumulación de metabolitos tóxicos, con el resultado de que cesa el aumento o disminución netos del número de células. Generalmente no hay crecimiento durante la fase estacionaria, muchas funciones celulares continúan, como el metabolismo energético y algunos procesos biosintéticos, en algunos casos puede ocurrir un crecimiento lento durante esta fase (Chicaiza y Parra, 2020).

2.2.3.4. Fase de muerte

La fase de muerte es el resultado de varios factores ambientales dañinos, uno de los cuales es importante es el agotamiento de las reservas de energía celular y la acumulación de desechos tóxicos. También presenta una función exponencial, que puede ser representada por una disminución en la cantidad y un aumento lineal. Sin embargo, después de una reducción dramática en el número de células viables con el tiempo, la mortalidad puede disminuir (Chicaiza y Parra, 2020).

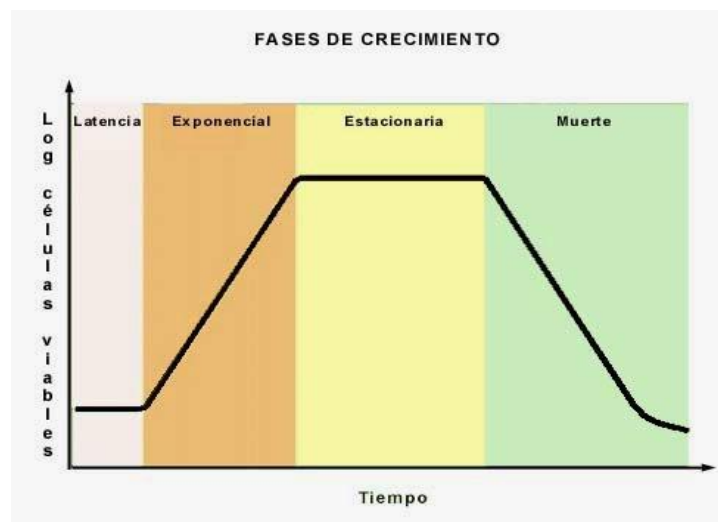


Figura 1. Curva de crecimiento microbiano

Fuente: (López, 2016)

2.2.4. Temperatura de la fermentación

La actividad microbiana depende siempre de la temperatura del medio, un ejemplo es la actividad fermentativa de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Desde un punto de vista metabólico, un rango de temperaturas de 20°C – 25°C es favorable para el desarrollo de la fermentación alcohólica, pero se puede correr el riesgo que el desarrollo de la fermentación sea muy rápido y así reducir la presencia de algunos compuestos. En general las fermentaciones alcohólicas se deben realizar dentro de un intervalo de 15°C – 18°C con el fin de llevar a cabo la fermentación sin ningún problema. Si la temperatura es menor a 10°C se debe utilizar cepas especiales para el desarrollo adecuado de la fermentación, además inhiben el crecimiento y se retrasa el proceso de la fermentación (Werner y Rauhut, 2009) .

2.2.5. Factores que influye en el proceso fermentativo

Varias variables en el proceso de fermentación, como el pH, la temperatura y la disponibilidad de nutrientes, tienen un impacto significativo en el metabolismo y la función de las células de levadura, lo que afecta sus tasas de crecimiento específicas. Por tanto, estos factores deben ser controlados para garantizar el correcto desarrollo de todas las fermentaciones alcohólicas, así como cumplir con las características de calidad estipuladas por la normativa correspondiente (Chicaiza y Parra, 2020).

2.2.5.1. Control de pH

Se implementa antes del desarrollo de los microorganismos para proceder al acondicionamiento del sustrato. Depende del organismo utilizado para la reacción deseada y las condiciones de proceso (Bustamante, 2019).

Es un determinante del crecimiento microbiano y de la producción de ciertos metabolitos. La levadura sobrevive a un pH ligeramente ácido entre 3,5 y 6,0, mientras que las bacterias sobreviven en un rango de pH de 6,5 a 7,5, aunque algo de ácido láctico puede sobrevivir hasta valores de pH cercanos a 2 (Chicaiza y Parra, 2020).

2.2.5.2. Temperatura

La temperatura es uno de los parámetros más importantes en el proceso de fermentación alcohólica. Puede sobrevivir a temperaturas que oscilan entre los 13 y los 35 °C. Dentro de este rango, cuanto mayor sea la temperatura, más rápida será la fermentación. Las temperaturas por debajo o por encima de este rango afectarán

negativamente a la reproducción de la levadura, ralentizará el proceso de fermentación y eventualmente provocará la muerte celular (Chicaiza y Parra, 2020).

La temperatura inicial se da en función a la temperatura del control de pH. Algunos microorganismos pueden tolerar un amplio rango de temperatura y la levadura no puede tolerar temperaturas superiores a 470°C, mientras que *Saccharomyces cerevisiae* crece a 200°C (Bustamante, 2019).

2.2.5.3. Aireación

En muchos procesos la presencia de aire es conveniente si es aeróbico, especialmente en la etapa de eclosión. El organismo presenta una proliferación rápida y hace que la levadura crezca de manera adecuada en condiciones aeróbicas (Bustamante, 2019).

2.2.5.4. Contaminación

La contaminación causada en un proceso de fermentación se ve afectada por la presencia de microorganismo patógenos como son las bacterias, que actúan de manera degenerativa y no contribuyen en el mantenimiento de los valores óptimos de pH (Bustamante, 2019).

2.2.5.5. Concentración de sustrato

La concentración del mosto para la fermentación alcohólica debe estar entre 12 y 22 brix, ya que, si la concentración de brix es baja, el alcohol obtenido será pobre, y por el contrario, si la concentración de brix es alta, la fermentación no procederá. La presión osmótica sobre las levaduras es tan alta que no les permite actuar sobre los azúcares, por lo que este componente es lo que se conoce como sustrato limitante de la tasa de crecimiento (Chicaiza y Parra, 2020).

2.2.5.6. Actividad de agua

Es inversamente proporcional a la presión osmótica, la mayoría de los microorganismos, incluidas las bacterias patógenas, crecen más rápido a niveles de a_w de 0,995-0,980, la mayoría de los medios utilizados en laboratorios tienen a_w de 0,999-0,990, y los valores de a_w son inferiores a estos, la tasa de crecimiento y la población en reposo o la masa celular final disminuyen y la fase de latencia aumenta (Chicaiza y Parra, 2020).

2.2.5.7. Concentración de azúcares

La concentración de azúcar es la que determina de manera fundamental la fase de la multiplicación de las células en la fase estacionaria y la fase de declive, con el fin de que la fermentación se desarrolle en condiciones óptimas y así pueda adquirir un mejor grado de alcohol, esta concentración no debe pasar los 200 g/l de azúcares (Chicaiza y Parra, 2020).

2.2.6 Microorganismos

Los microorganismos se clasifican en: procariotas y eucariotas. Los primeros son las arqueas y las bacterias, y el segundo son los hongos, las algas y los protozoos. La diversidad microbiana se comprende en términos de diversidad estructural y funcional de los microorganismos, altera el tamaño de las células, cambia su morfología, metabolismo y estado físico. En la actualidad la genética de ADN y ARN manifiesta que hay miles de millones de especies microbianas, lo que indica que vivimos en un mundo lleno de patógenos que han existido en la tierra incluso antes que cualquier otro organismo (Montaño Arias et al. 2010).

El análisis microbiológico de alimentos comprende el análisis de especies, familias o tipos de microorganismos cuya presencia incide en las condiciones higiénico-sanitarias de los productos ya sean estos naturales, elaborados artesanalmente o por la industria. Al aplicar distintos métodos se obtiene información que permite conocer las fuentes de contaminación de los alimentos, su calidad higiénica, la manipulación del producto, detectar posible presencia de patógenos, establecer cuando se desarrollan alteraciones con el fin de delimitar el periodo de conservación (Dávila, 2012).

2.2.6.1 Importancia de los microorganismos en una fermentación

Los microorganismos de importancia para el área de la industria de alimentos incluyen la mayoría de las bacterias, levaduras y hongos. Son organismos muy pequeños por lo que causa dificultad su detección, enumeración y es importante su tamaño (Campbell, 2019).

Una característica muy importante que tienen estos microorganismos es su facilidad de crecimiento rápido, su capacidad de formar esporas y en algunos casos como en *Clostridium perfringens* también es capaz de producir enfermedades transmitidas por alimentos (Campbell, 2019).

Los microorganismos que actúan de forma beneficiosa en la fermentación son las bacterias ácido-lácticas, mohos y levaduras; pero su abundante presencia puede provocar daños negativos en los alimentos. En las bebidas fermentadas se puede comparar los microorganismos de forma directa, ya que resultan de la actividad metabólica distintas cepas que brindan características especiales del producto para satisfacer al consumidor (López, 2015).

2.2.6.2 Microorganismos presentes en el maíz

- **Mohos y levaduras**

Existen miles de especies de mohos y levaduras que si no se controlan de una manera adecuada pueden contaminar el alimento. Los mohos y levaduras son aerobios obligados y su rango de pH oscila entre 2 a 9, temperatura entre los 10 y 35°C para facilitar su crecimiento, pocas especies se desarrollan fuera de estos niveles establecidos, y el requerimiento de humedad es muy bajo para los hongos a comparación de las levaduras que requieren grandes cantidades de agua (Dávila, 2012).

Las levaduras son generalmente organismos anaerobios, y la mayoría de las especies se caracterizan por una fermentación preferencial de hexosas y disacáridos, siendo las levaduras los géneros más representativos, generalmente elegidos por su velocidad, eficiencia de fermentación y tolerancia a las concentraciones de azúcar y alcohol. Demuestra una mejor capacidad metabólica en la presencia de glucosa (Chicaiza y Parra, 2020).

En el caso del champús durante su proceso de fermentación de los cereales, se da la presencia de levaduras, como *S. cerevisiae*, *Issatchenkia orientalis*, *Pichia fermentans*, *P. kluyveri* var. *kluyveri*, *Zygosaccharomyces fermentati*, *Torulospora delbrueckii*, *Galactomyces geotrichum* y *Hanseniaspora* spp. Si bien se sabe que existen diferentes grupos bacterianos dentro del proceso de fermentación, no existen reportes a la fecha sobre la identificación y aislamiento de microorganismos del champús (L. S. Guerra et al. 2022)

2.2.7. Método para la identificación de especie de levaduras

2.8.7.1 Aislamiento de levaduras

Idealmente, la taxonomía en cualquier nivel debería ser monofilética (es decir, de un ancestro común) y cualquier sistema de identificación se basa en rastrear la historia filogenética y/o evolutiva. Esta historia es difícil de descubrir utilizando características morfológicas, ya que, como la fisiología, a menudo evoluciona de forma independiente con el tiempo en el mismo organismo. Por otro lado, el procesamiento durante períodos taxonómicos críticos a veces no permite distinguir fácilmente las especies cercanas. En este sentido, la inferencia evolutiva de especies utilizando herramientas moleculares podría respaldar técnicas basadas en ADN de mayor fidelidad para el seguimiento y el mapeo filogenético de especies de levadura (Vásquez, Castrillón, y Monsalve 2016).

2.8.7.2 Caracterización fenotípica

La caracterización fenotípica para la identificación de levaduras según los criterios morfológicos y fisiológicos deben realizarse según descripciones ya propuestas, donde se evalúa la morfología celular, modo de reproducción vegetativa, caracterización fisiológica, la habilidad de fermentar y asimilar glucosa (W. López y Ramírez 2010).

De alguna manera las similitudes fenotípicas indican que las levaduras aisladas pertenecen a una misma especie, las técnicas moleculares proporcionan un mayor nivel de confianza en los resultados cuando se busca caracterizar el nivel de la cepa (Vásquez, Castrillon, y Monsale 2016).

2.2.7.3 Extracción y cuantificación de levaduras

Según la metodología de (W. López y Ramírez 2010) la extracción de ADN de levaduras se realiza usando la metodología establecida para este proceso, su identificación se lleva a cabo mediante PCR-RFLP usando primers ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3'). Para la amplificación, se extrajeron 7 µl (~1 ng/µl) de ADN y se suspendieron en 28 µl de mezcla PCR: ITS1 0,5 µM, ITS4 0,5 µM, dNTPs 10 µM, NH₄⁺ 1X, MgCl₂ 1,5 mM y Taq polimerasa 1U. Las reacciones se realizaron en un termociclador automatizado con las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 min, desnaturalización a 94 °C durante 1 min durante 30 ciclos, hibridación a 55 °C durante

1 min, extensión a 72 °C durante 2 min, y extensión final a 72 °C por 10 min. Los productos de PCR y los fragmentos de restricción se analizaron en un gel de agarosa al 1,5 % en tampón TBE 1X (Tris-Borate, EDTA).

Según (Kurtzman y Robnett 1998) los dominios D1/D2 de la subunidad grande del gen ribosómico 26S se secuenciaron para los aislamientos principales y la identificación de sospechosos. Para la amplificación de los dominios D1/D2 se utilizaron los iniciadores NL1 (5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3') y NL4 (5'-GGTCCGTGTTCAAGACGG-3'). Las reacciones se realizaron en un termociclador en las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 94 °C durante 5 min, 30 ciclos de desnaturalización a 94 °C durante 1 min, hibridación a 55 °C durante 30 s, y extensión a 72°C. 1 min, y finalmente se extendió por 10 min a 72 °C (W. López y Ramírez 2010).

2.2.8. Métodos de conservación de alimentos

Los métodos de conservación de los alimentos se efectúan a través de un conjunto de técnicas encargadas de aumentar la vida útil y disposición de los alimentos para consumo humano y animal. El proceso de conservación de alimentos lleva una serie de pasos que son parte de la cadena de producción, transporte, venta y consumo con el objetivo de garantizar la inocuidad del alimento (Colcha, 2011).

2.2.8.1. Métodos de conservación por frío

Este tipo de métodos se caracterizan por la disminución de la temperatura hasta que cese la actividad microbiana y detiene la descomposición de los alimentos, los métodos pueden ser:

- **Refrigeración**

El proceso se lleva a cabo en intervalos desde los 2 y 5°C, lo que mantiene el alimento por debajo de temperaturas de reproducción microbiana, conserva el alimento por un tiempo corto. En este método de conservación las bacterias no se desarrollan, pero tampoco mueren, solamente inhiben su desarrollo (Colcha, 2011).

- **Congelación**

Se exponen los alimentos a temperaturas bajo los cero grados, esta técnica es utilizada para preservar alimentos como carnes, pescados, frutas, verduras entre otros. Cuando se hace uso de esta técnica los alimentos son congelados rápidamente para evitar que se pierda su sabor o exista cambios en su textura, la congelación conserva los alimentos impidiendo el desarrollo de los microorganismos,

pero no destruye a todos debido a que algunos pueden reanimar cuando se descongele el producto (Colcha, 2011).

- **Ultracongelación**

Debe alcanzar temperaturas inferiores a -40°C en un periodo de tiempo no mayor a dos horas, debido a que conserva los alimentos de una manera inalterable y la mayoría de los productos se deben encontrar en perfectas condiciones y se conservan en algunas ocasiones hasta un año (Colcha, 2011).

2.2.8.2. Métodos de conservación por calor

Es un método que ayuda a frenar el crecimiento de los microorganismos patógenos mediante el calor, con el fin de conservar los alimentos, es considerado poco favorable, debido a que no es tan efectivo como los métodos fríos (Colcha, 2011).

- **Deshidratación**

Es un método muy utilizado desde la antigüedad para la conservación de los alimentos, presenta un sistema de protección que ayuda a extraer cierta cantidad de humedad del alimento, con el fin de evitar el posible crecimiento de los microorganismos, y no puedan reproducirse en los alimentos secos (Colcha, 2011).

- **Pasteurización**

Es un método muy aplicado para conservar la leche y evitar que se contamine. Ayuda a mantener elevadas las temperaturas del líquido a 70°C por un tiempo determinado según el alimento, y luego implementa técnicas de enfriamiento para reducir la temperatura en un menor tiempo posible (Colcha, 2011).

- **Esterilización**

Este método hace uso del calor con la finalidad de destruir microorganismos y bacterias en su totalidad, implementando temperaturas de 115 a 130°C por 30 minutos. Si el producto permanece empacado su vida útil se alarga y el calor elimina las bacterias creando un vacío de manera parcial, lo que promueve un sello hermético y evita que se dé una nueva contaminación (Colcha, 2011).

2.2.9. El champús

El champús es una bebida tradicional que se origina en pueblos indígenas de países como Ecuador, Perú y Colombia. Con el paso del tiempo se ha ido incorporando en

el territorio nacional y sus recetas varían dependiendo del gusto o la elaboración de cada persona.

2.2.9.1 Elaboración

Su elaboración es esencialmente a base de maíz molido, panela, canela y varias frutas. Se realiza para la celebración de la fiesta cultural conocida como la "Mama Negra" (Arias, 2015). Como primer paso se remoja la harina con las especias dulces juntamente con la fruta y la hoja de naranja agria, esto se deja en cocción por 45 minutos removiendo de manera constante para evitar que se asiente. Después se endulza y se deja reposar para que tenga una contextura espesa, finalmente se agrega el trigo para hacerla hervir de nuevo y se la envasa en contenedores de plástico (Arias, 2015).

2.2.10. Tiempo de vida útil

Es el tiempo que puede mantener las características fisicoquímicas y sensoriales de un alimento, dentro de un margen que brinde seguridad al consumidor y debe presentar un almacenamiento óptimo bajo las condiciones establecidas que dependen del tipo de alimento (Torres, Romero, y Viteri 2017).

El champús es una bebida fermentada de antaño que ha sido elaborada por diferentes métodos de manera tradicional, su principal problema es la fermentación muy rápida, lo que ocasiona una contaminación y el deterioro del producto después de haber permanecido de 5 a 8 días al aire libre.

2.2.11. Bebidas fermentadas tradicionales

Es un líquido bajo en alcohol que es consumido para calmar la sed. Las bebidas como la cerveza, el vino, los cereales, las verduras y las frutas pueden fermentar de forma natural, su transformación puede ser espontánea o provocada por la aplicación de bacterias y levaduras. El tipo de fermentación depende del alimento, la duración del proceso y la fermentación (Guachamin, 2021).

El proceso de bebidas fermentadas se ha desarrollado desde tiempos inmemorables en las distintas culturas a nivel mundial, usando este método como preservación de alimentos. El hombre aprendió a fermentar el mosto sin conocer la existencia de los microorganismos que se desarrollan en este proceso, pasando así a la destilación de las bebidas para aumentar su concentración alcohólica (Escudero, 2014).

Gran diversidad de pueblos indígenas aún desarrolla esta actividad y consumen alimentos fermentados, debido a las costumbres enseñadas por sus antepasados haciendo que estos conocimientos vayan perdurando con el paso del tiempo y cambios culturales, haciendo que se conozca la importancia de estas creencias y conocimientos (Escudero, 2014).

III. METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

3.1.1. Enfoque

Esta investigación tiene un enfoque cuali-cuantitativo, cuantitativo porque se va a realizar un análisis de laboratorio para la valorización de la temperatura y tiempo óptimos que ayuden al desarrollo microbiológico en la fermentación del maíz molido y para determinar las características fisicoquímicas del champús, y cualitativo por que se realizará un análisis de las características sensoriales y tiempo de vida útil del mejor tratamiento de elaboración del champús.

3.1.2. Tipo de Investigación

Se basará en un estudio experimental, que permitirá determinar el mejor tratamiento para la elaboración del champús, mediante la determinación del tiempo y temperatura más adecuados para el desarrollo de microorganismos en la fermentación del maíz molido y la determinación de características fisicoquímicas, sensoriales y tiempo de vida útil en el champús.

3.2. HIPÓTESIS

Hipótesis (Hi)= Los tipos de microorganismos y la temperatura influyen en el tiempo de fermentación, características fisicoquímicas, sensoriales y tiempo de vida útil del producto

Hipótesis (Ho)= Los tipos de microorganismo y la temperatura no influyen el tiempo de fermentación, características fisicoquímicas, sensoriales y tiempo de vida útil del producto.

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Etapa 1: Elaboración de la muestra madre Variables independientes: Tiempo y formulación del sustrato

Variables dependientes: Características fisicoquímicas y microorganismos

Etapa 2: Elaboración del champús

Variables independientes: Temperatura de fermentación, microorganismos.

Variables dependientes: Tiempo de fermentación, características fisicoquímicas, características sensoriales, tiempo de vida útil.

3.3.1 Operacionalización

Etapa 1: Elaboración de muestra madre

Tabla 3. Variables etapa 1

	Dimensión	Indicadores	Técnica	Instrumento
Variables Independientes				
Tiempo	Horas	24 horas	Actividad fermentativa	Fichas de fermentación
		48 horas		
		72 horas		
Formulación del sustrato	Porcentaje del maíz duro amarillo (Zea mays)	40 %	Gravimetría	Pre-ensayos de laboratorio Formulación base (Chafuelán, 2022)
		50 %		
		60 %		
Variables Dependientes				
Microorganismos	Tipos de microorganismos	Mohos y levaduras	Extracción de ADN en Biología Molecular	PCR
Características fisicoquímicas	Calidad fisicoquímica	pH °Brix	Potenciometría Refractometría	“Evaluación de tres tipos de Maíz (Zea mays) Suave Morado, Suave Dulce Blanco y Suave Dulce Amarillo, en la elaboración de Chicha de Jora” (Anrango, 2013)

Etapa 2: Elaboración del champús

Tabla 4. Variables etapa 2

	Dimensión	Indicadores	Técnica	Instrumento
Variables Independientes				
Fermentación	Temperatura	4 °C (Temperatura de refrigeración) 15 °C - 18 °C (Temperatura ambiente)	Medición cuantitativa (termómetros)	Fichas de control de temperatura "Características organolépticas y determinación de parámetros fisicoquímicos de la chicha de jora preparada por método tradicional y muk'eado" (Ventura, 2017)
Microorganismo	Mejor tratamiento	0.5 ml 1 ml 2 ml	Medios de cultivo	Norma INEN 1529-2
Variables Dependientes				
Características fisicoquímicas	Calidad fisicoquímica	pH °Brix Viscosidad Proteína	Potenciometría Refractometría Viscosimetría Método Kjendahl	Norma INEN 389 Norma INEN 341 Técnicas de viscosimetría Norma INEN 16
Características sensoriales	Aceptación producto del	Color Aroma Sabor Textura	Prueba hedónica.	Norma ISO 13301 Fichas de cata
Vida útil	Tiempo	Por 20 días cada 2 días.	Método directo	Guía para la determinación de la vida útil del producto (Alapont et al. 2020).

3.4. MÉTODOS UTILIZADOS

- **Insumos**

Se utilizó: maíz amarillo, especias (manzanilla, hoja de naranja agria y hierba luisa)

- **Materiales y equipos**

Termómetro, potenciómetro, refractómetro equipo de Kjeldahl, balanza analítica, estufa, autoclave, reómetro Anton-Paar, baño maría, refrigerador, congelador, incubadora, contador de colonias, cámara de flujo laminar y equipo de PCR (Espectrofotómetro, bio termociclador, tanque para electroforesis, tras iluminador).

3.4.1 Formulación base

Para la elaboración del champús de una cantidad de 25 litros primero se debe obtener la materia prima de buena calidad (3295 g maíz). Se muele los granos, se colocan en un recipiente cerrado y se agrega 5 litros de agua a una temperatura de 50°C dejando reposar durante 8 días para que se desarrolle el proceso fermentativo. Se logró identificar que al primer día de fermentación la muestra tiene un pH de 4.66 y brix de 4, mientras que a los ocho días presenta un pH de 4.18 y brix de 5. Después de los 8 días de fermentación se realiza una segunda molienda, la concentración obtenida se mezcla con 20 litros de agua y se procede al colado, con la cantidad del colado obtenida se aplica una tercera molienda y se mezcla con 5 litros de agua para realizar un último proceso de colado, obteniendo una mejor concentración del líquido. Se procede a la cocción en un tiempo de 3 horas a una temperatura de 88 - 91 °C, en el momento de la cocción se agrega las especias (manzanilla, hoja de naranja agria y hierba luisa) por un tiempo de media hora y se extraen, pasado el tiempo de cocción se deja enfriar el producto. Finalmente, se le agrega panela diluida y mote.

3.4.2 Proceso de elaboración del Champús tradicional

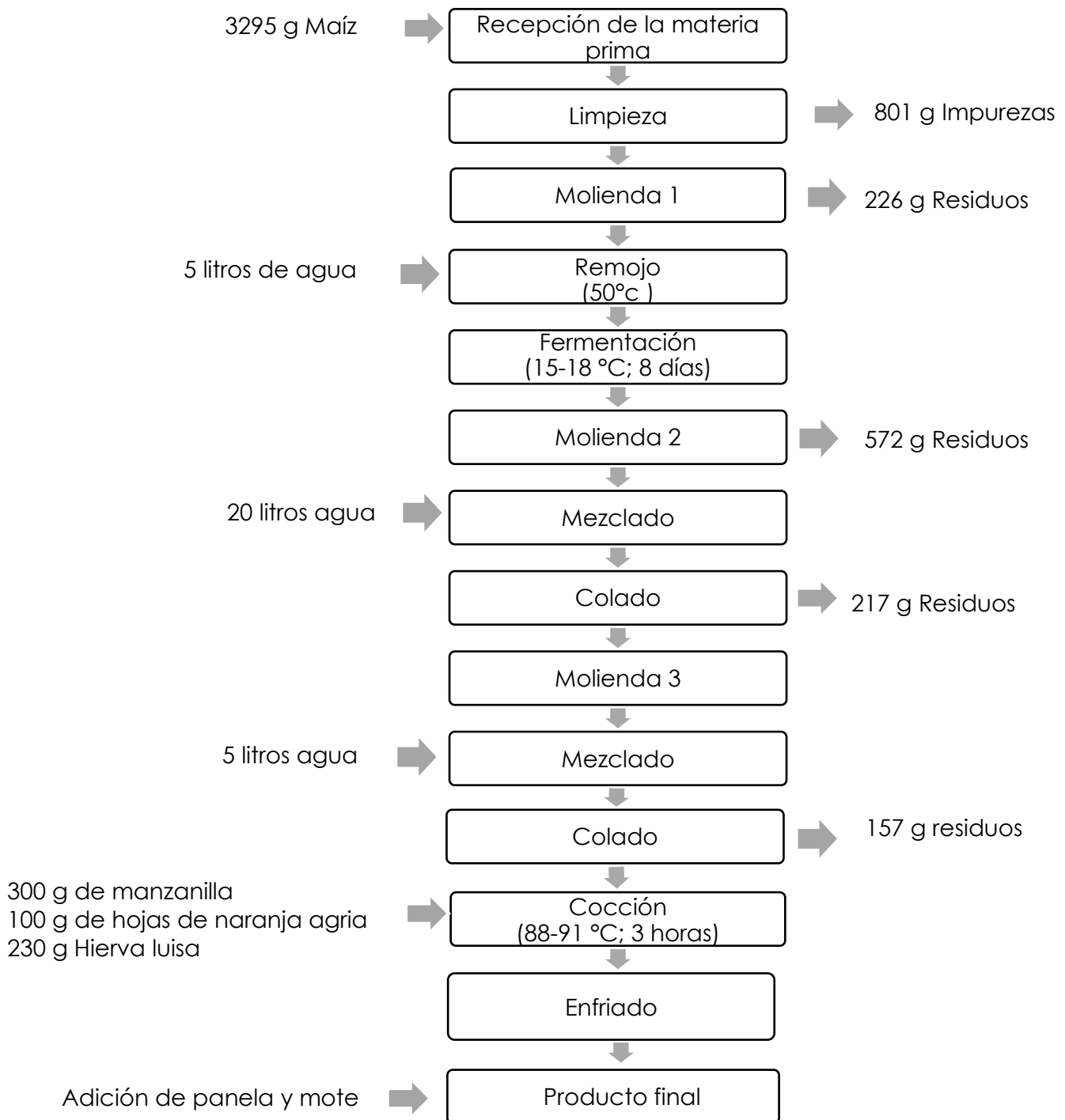


Figura 2. Diagrama de flujo de la elaboración del champús tradicional

3.4.3 Análisis microbiológico de la fermentación del maíz molido

Se realizó una siembra en placas petrifilm, donde se tomó tres parámetros de porcentajes de cantidad del maíz molido (40%, 50%, 60%) con relación a tres intervalos de tiempo (24horas, 48horas, 72 horas) para determinar la cantidad de crecimiento microbiano por medio de tres repeticiones de análisis, de esta manera su promedio será el resultado con mayor validez de datos reduciendo el margen de error.

Para tabular los datos después del conteo se aplicó la siguiente fórmula para obtener el No. de UFC/ml o UFC/g

$$\frac{\text{UFC}}{\text{ml}} = \frac{\text{No. De colonias por placa}}{\text{ml de muestra}} * \text{Factor de dilución}$$

3.4.4. Análisis estadístico del conteo microbiano en la etapa 1

Como comprobación de los resultados de la fórmula del análisis microbiológico de la fermentación del maíz molido se aplicará un diseño experimental completamente al azar (DCA) para la etapa 1 con un arreglo factorial A*B. (Factor A: Tiempo; Factor B: Formulación del sustrato), con tres niveles para el factor A (A1: 24 horas; A2: 48 horas; A3: 72 horas) y tres niveles para el factor B (B1: 40 %; B2: 50 %; B3: 60 %).

Tabla 5. Análisis estadístico del conteo microbiológico en la etapa 1

Nº	Símbolo	Combinación de tratamientos
1	A1B1	24 horas+40 %
2	A1B2	24 horas+50 %
3	A1B3	24 horas+60 %
4	A2B1	48 horas+40 %
5	A2B2	48 horas+50 %
6	A2B3	48 horas+60 %
7	A3B1	72 horas+40 %
8	A3B2	72 horas+50 %
9	A3B3	72 horas+60 %

Nota: A: Tiempo (A1: 24 horas; A2: 48 horas; A3: 72 horas) B: Cantidad del sustrato (B1: 40 %; B2: 50 %; B3: 60 %)

3.4.5. Extracción de ADN por Biología Molecular

- **Medios de crecimiento de levaduras**

Agar PDA

El medio de cultivo Agar de Dextrosa y Papa (PDA) se utilizó para sembrar los microorganismos extraídos directamente del mejor tratamiento luego de realizar las diluciones para obtener colonias puras de las levaduras presentes en la fermentación del maíz molido.

Agar extracto de levadura

El medio de cultivo Agar extracto de levadura es un medio líquido que se utilizó para colocar las colonias puras y obtener más biomasa de la levadura.

Agar Dextrosa Sabouraud con cloranfenicol

El medio de cultivo Agar Dextrosa Sabouraud con cloranfenicol evita el crecimiento de bacterias por lo que se utilizó para descartar que las colonias estén contaminadas.

Agar extracto de malta

El medio de cultivo Agar extracto de malta se utilizó para la siembra de las levaduras puras y realizar evidencias visuales.

- **Aislamiento de levaduras**

Del mejor tratamiento de fermentación de maíz molido para la elaboración del champús se aisló levaduras y se las sembró por estrías en medio de cultivo YPD (4 % de peptona, 2 % extracto de levadura, 4 % de glucosa, 3 % agar-agar). Las placas se incubaron a 25 °C durante 6 a 7 días. Un porcentaje de cada tipo de colonia fue aislado para su posterior identificación.

- **Extracción y cuantificación de ADN**

La técnica utilizada para la extracción de ADN de levaduras por PCR, se realizó mediante la metodología descrita por (Zulkifli y Zakaria, 2017) . Para la cuantificación se utilizó una espectrofotometría a 260nm y se estableció la pureza por medio de la relación espectrofotométrica A260/ A280nm.

- **Identificación molecular de levaduras**

La identificación molecular de las levaduras aisladas fue llevada a cabo por PCR-RFLP de la región ITS1, ITS4, LN1 y LN4 (W. López y Ramírez 2010). Se utilizó los primers ITS1 y ITS4 para la amplificación y la identificación a nivel de género de las levaduras y los primers LN1 y LN4 se usaron para validar lo obtenido con los primers de la región ITS. Los primers fueron sintetizados por Macrogen y sus secuencias se muestran en la siguiente tabla:

Tabla 6. Primers utilizados para la identificación de levaduras presentes en la fermentación del maíz.

Nombre del primer	Secuencia
ITS1	5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3'
ITS4	5'- TCCTCCGCTATTGATATGC -3'
LN1	5'-GCATATCAATAAGCGGAGGAAAAG-3'
LN4	5'-GGTCCGTGTTCAAGACGG-3'

Se utilizó el Kit FastDNA® SPIN de 100 reacciones con sus respectivas instrucciones. La mezcla de reacción para PCR para las levaduras aisladas fue realizada con un volumen total de 50 µL que incluyó 4 µL de ADN, 2,5 µL (10 µM) de cada primer, 25 µL de MASTER MIX FastGene® TAQ ReadyMix PCR Kit y agua libre de nucleasa para completar el volumen de reacción. Las reacciones se llevaron a cabo en un termociclador convencional AllInOneCycler™ marca BiONNER bajo las siguientes condiciones para los dos tipos de primers (ITS Y LN): desnaturalización inicial a 92°C por 4 minutos, 35 ciclos de desnaturalización a 92°C por 40 segundos, apareamiento a 55°C por 1 min 30 segundos, y extensión a 55°C por 2 min, con una extensión final de 5 min a 72°C (Zulkifli & Zakaria, 2017). Los productos de PCR fueron analizados en geles de agarosa al 1,5 %, en buffer TBE 1X X (Tris-Borato,EDTA). Los tamaños de los fragmentos fueron estimados por comparación con un marcador de peso molecular 500 a 600pb.

Los productos de PCR fueron purificados y secuenciados por la empresa BIOSEQUENCE (Quito- ECUADOR) bajo sus condiciones estandarizadas. A los resultados obtenidos luego de la secuenciación se realizó un control de calidad para ser alineados con secuencia de cepas de referencia obtenidas de NCBI (National

Center for Biotechnology Information), sección Nucleotide BLAST (Basic Local Alignment Search Tool), finalmente utilizando la herramienta PHYLOGENY del programa MEGA-X (64 bit for Windows) se realizó el árbol filogenético.

3.4.6. Determinación de calidad e inocuidad

La determinación de calidad e inocuidad del producto final se evaluó por siembra en placas compact Dry y analizando los resultados en base a la norma NTE INEN 1529-7 del control microbiológico de los alimentos sobre "Determinación de microorganismos coliformes, por la técnica de recuento de colonias"

3.4.7. Análisis sensorial

Para la evaluación sensorial de las características del producto se realizó una ficha de evaluación sensorial de escala hedónica a 50 jueces no entrenados, como se muestra a continuación:

Tabla 7. Ficha de evaluación sensorial

Escala	Aceptabilidad
1	Me disgusta mucho
2	Me disgusta
3	Ni me gusta ni me disgusta
4	Me gusta
5	Me gusta mucho

3.4.8. Análisis fisicoquímico

Se realizó la caracterización fisicoquímica de pH y brix en la primera etapa para los tres tratamientos con distinto porcentaje de maíz y temperatura, donde se obtuvo un mejor tratamiento y se llevó a cabo el proceso de inoculación para la elaboración del champús. Mientras que en la segunda etapa se analizó los siguientes parámetros fisicoquímicos: pH, brix, viscosidad y proteína.

- **Potencial de hidrógeno**

Se realizó la medición de pH de los tratamientos con un potenciómetro de marca Mettler Toledo modelo Seven multi.

- **Brix**

Se realizó la medición de grados Brix con un refractómetro digital de marca HANNA HI 96801 en una escala de 0-85 % Brix.

- **Viscosidad**

Se realizó la viscosidad utilizando un reómetro Anton-Paar

- **Proteína**

Para la medición de proteína se aplicó el método de Kjeldahl de la norma NTE INEN 519 sobre "Harinas de origen vegetal, determinación de proteína" utilizando el equipo Heating Digester DK 6 con BOMBA ASP HUMO y un destilador UDK y para su cálculo se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{1.4 \times (V_1 - V_0) \times N}{P}$$
$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times F$$

Donde:

P= peso en ml de la muestra

V_1 = volumen de HCl consumido en la valoración (ml)

N= normalidad de HCl (0,1186)

V_0 = volumen del HCl consumido en la valoración de un blanco expresado en ml

F= factor de conversión para pasar el contenido de nitrógeno a contenido de proteínas. La mayoría de las proteínas contienen un 16% de N₂, de modo que el factor de conversión es 6.25 (100/16 -6.25), pero se han obtenido empíricamente otros factores de conversión en función de la materia prima utilizada.

3.4.9. Determinación del tiempo de vida útil

La determinación del tiempo de vida útil se evaluó cada 2 días midiendo factores fisicoquímicos como el pH, brix y viscosidad a dos temperaturas distintas que fueron a temperatura ambiente (15 °C – 18 °C) y refrigeración (4 °C).

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

4.1.1. Análisis microbiológico del conteo de colonias de la fermentación del maíz molido en la etapa 1

En la Tabla 8 se observa el conteo de mohos y levaduras, que da a conocer el tratamiento con mayor número de crecimiento de colonias en la fermentación del maíz molido, que es el del 60 % a las 72 horas, con una temperatura estándar de 25°C por lo que se tomó como mejor tratamiento para realizar la genotipificación de los microorganismos presentes en el proceso de fermentación para la elaboración del champús.

Tabla 8. Recuento de mohos y levaduras

% Maíz	Tiempo		
	24 horas	48 horas	72 horas
40 %	0,3 X 10 ¹ UFC/g	6,2 X 10 ¹ UFC/g	1,0 X 10 ² UFC/g
50 %	3,1 X 10 ¹ UFC/g	1,8 X 10 ² UFC/g	1,9 X 10 ² UFC/g
60 %	1,2 X 10 ³ UFC/g	7,5 X 10 ³ UFC/g	7,6 X 10 ³ UFC/g

Terminado el conteo, se aplicó la siguiente fórmula para obtener el No. de UFC/ml o UFC/g

$$\frac{\text{UFC}}{\text{g}} = \frac{\text{No. De colonias por placa}}{\text{ml de muestra}} * \text{Factor de dilución}$$

- Al 40 % a las 24 horas

$$\text{UFC/g} = \frac{3}{1 \text{ ml}} * 10^3 = 3,0 \times 10^3 \text{ UFC/g}$$

- Al 40 % a las 48 horas

$$\text{UFC/g} = \frac{62}{1 \text{ ml}} * 10^3 = 6,2 \times 10^4 \text{ UFC/g}$$

- Al 40 % a las 72 horas

$$\text{UFC/g} = \frac{102}{1 \text{ ml}} * 10^3 = 1,0 \times 10^5 \text{ UFC/g}$$

- Al 50 % a las 24 horas

$$\text{UFC/g} = \frac{31}{1 \text{ ml}} * 10^3 = 3,1 \times 10^4 \text{ UFC/g}$$

- Al 50 % a las 48 horas

$$\text{UFC/g} = \frac{189}{1 \text{ ml}} * 10^3 = 1,8 \times 10^5 \text{ UFC/g}$$

- Al 50 % a las 72 horas

$$\text{UFC/g} = \frac{192}{1 \text{ ml}} * 10^3 = 1,9 \times 10^5 \text{ UFC/g}$$

- Al 60 % a las 24 horas

$$\text{UFC/g} = \frac{1240}{1 \text{ ml}} * 10^3 = 1,2 \times 10^6 \text{ UFC/g}$$

- Al 60 % a las 48 horas

$$\text{UFC/g} = \frac{7560}{1 \text{ ml}} * 10^3 = 7,5 \times 10^6 \text{ UFC/g}$$

- Al 60 % a las 72 horas

$$\text{UFC/g} = \frac{7680}{1 \text{ ml}} * 10^3 = 7,6 \times 10^6 \text{ UFC/g}$$

4.1.2 Análisis estadístico del conteo de colonias de la fermentación del maíz molido en la etapa 1

Se realizó la prueba de análisis de varianza "ANOVA" para el conteo de colonias, en función a la concentración de maíz molido (40%, 50%, 60%) y el tiempo (24 horas, 48 horas, 72 horas) en el proceso de fermentación, con un nivel de confianza del 95%, como se observa en la Tabla 9.

Tabla 9. Análisis estadístico del conteo de colonias de la fermentación de maíz molido

% Maíz	24 horas (UFC/g)	48 horas (UFC/g)	72 horas (UFC/g)
40 %	0,2 X 10 ¹ ± 0.58 A	6,2 X 10 ¹ ± 1 A	1,0 X 10 ² ± 1 A
50 %	3,1 X 10 ¹ ± 1 B	1,8 X 10 ² ± 1 B	1,9 X 10 ² ± 1 B
60 %	1,2 X 10 ³ ± 1 C	7,5 X 10 ³ ± 1 C	7,6 X 10 ³ ± 1 C

Las medias corresponden al resultado del crecimiento microbiano en las tres concentraciones de maíz molido, sus valores son representados como la media ± la desviación estándar en función al tiempo. Las letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 %.

4.1.3. Análisis fisicoquímico de la fermentación del maíz molido en la etapa 1

En la Tabla 10 se detalla los resultados fisicoquímicos, mismos que han sido obtenidos del promedio de tres repeticiones, con el fin de generar mayor validez a los resultados, dentro del análisis se consideraron aspectos como: pH y Brix. Se puede observar que el mejor tratamiento con 60 % de maíz molido, 40 % de agua y a las 72 horas tiene un brix de 4,67 y un pH 4,2 similar a la muestra base con un brix de 5 y un pH de 4.18 además que se obtuvo en este tratamiento el mayor número de crecimiento de microorganismos.

Este análisis se realizó a las tres muestras con distintos porcentajes de maíz y tiempos para poder obtener un mejor tratamiento.

Tabla 10. Resultado del análisis fisicoquímico de la fermentación del maíz en la etapa 1.

% Maíz	24 horas		48 horas		72 horas	
	pH	Brix	pH	Brix	pH	Brix
40 %	2,3	6,1	2,7	4,44	2,8	4,26
50 %	2,8	5,7	2,9	4,45	3,3	4,36
60 %	3	5,3	3,2	4,72	4,2	4,67

4.1.4. Análisis estadístico de los aspectos fisicoquímicos de la fermentación del maíz molido en la etapa 1

Se realizó la prueba de análisis de varianza "ANOVA" para determinar los aspectos fisicoquímicos con la medición del pH y brix en el proceso de fermentación, en función a la concentración de maíz molido (40 %, 50 %, 60 %) y el tiempo (24 horas, 48 horas, 72 horas), con un nivel de confianza del 95 %, como se observa en la Tabla 11.

Tabla 11. Análisis estadístico de los aspectos fisicoquímicos de la fermentación del maíz molido

% Maíz	24 horas		48 horas		72 horas	
	pH	Brix	pH	Brix	pH	Brix
40 %	2,6 ± 0,1 A	5,03 ± 0,5 A	3,1 ± 0,1 A	4,9 ± 0,02 A	3,47 ± 0,1 A	4,8 ± 0,02 A
50 %	2,8 ± 0,1 B	5,8 ± 0,1 B	3 ± 0,2 B	4,6 ± 0,03 B	3,3 ± 0,1 B	4,39 ± 0,01 B
60 %	3,1 ± 0,1 C	5,15 ± 0,1 C	3,23 ± 0,1 C	4,36 ± 0,01 C	4,8 ± 0,1 C	4,33 ± 0,01 C

Las medias corresponden a los valores obtenidos de pH y brix en función a las tres concentraciones de maíz molido, sus valores son representados como la media ± la desviación estándar en función al tiempo. Las letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 %

4.1.5. Detección e identificación molecular de las levaduras en la fermentación del maíz molido.

Mediante las evidencias visuales que se muestran en las siguientes figuras se obtuvo un total de 7 levaduras.



Figura 3. Especie de levadura 1 aislada a 25°C por 7 días

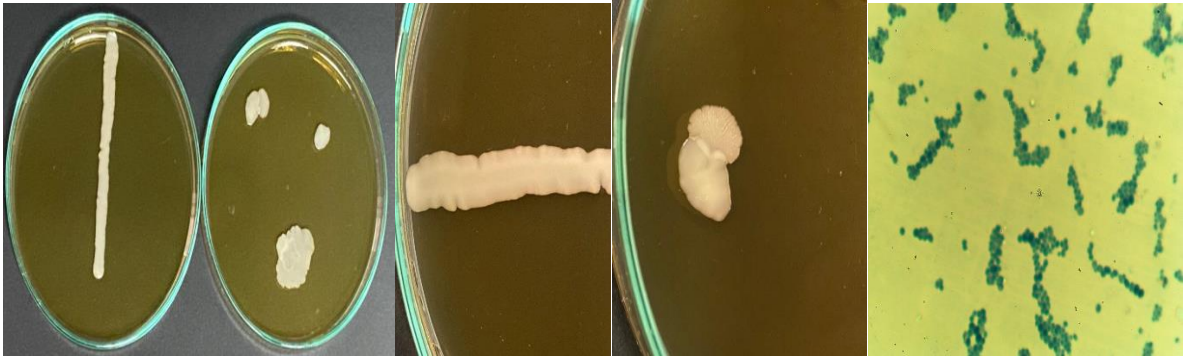


Figura 4. Especie de levadura 2 aislada a 25 °C por 7 días

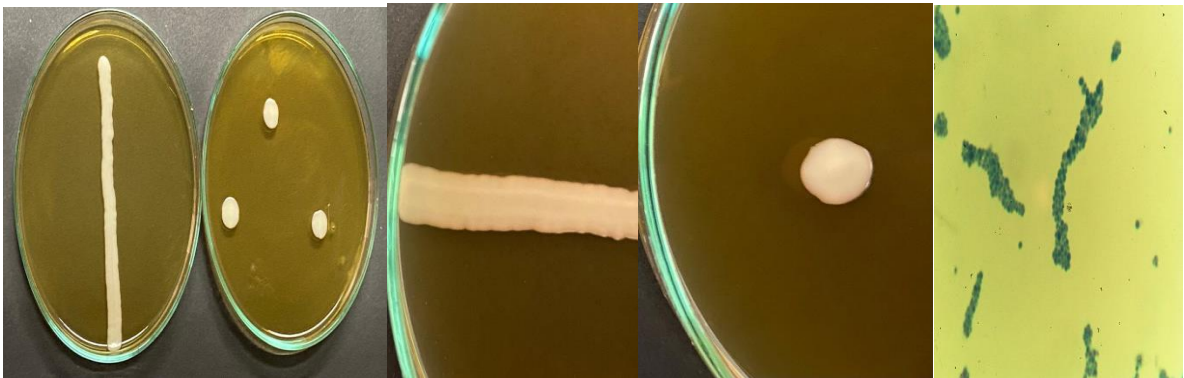


Figura 5. Especie de levadura 3 aislada a 25 °C por 7 días



Figura 6. Especie de levadura 4 aislada a 25 °C por 7 días

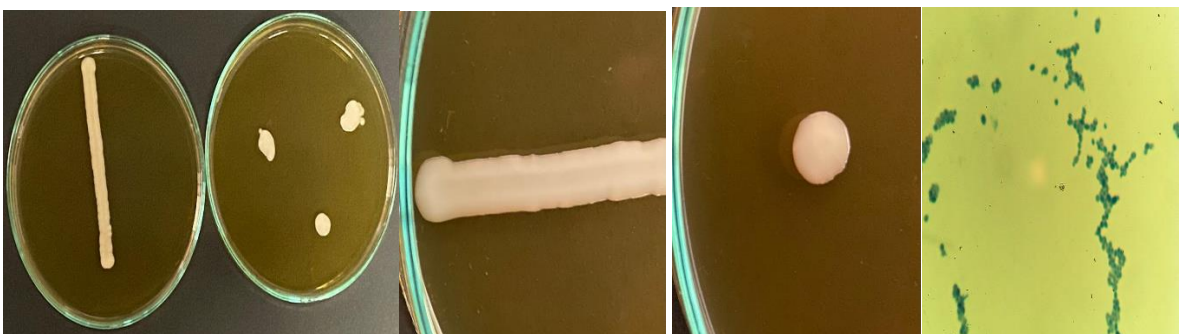


Figura 7. Especie de levadura 5 aislada a 25 °C por 7 días



Figura 8. Especie de levadura 6 aislada a 25 °C por 7 días

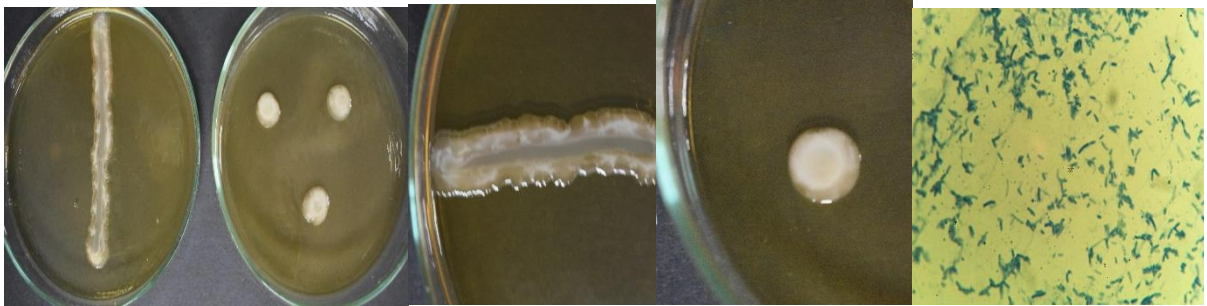


Figura 9. Especie de levadura 7 aislada a 25 °C por 7 días

A continuación, se muestran los medios visuales del proceso de electroforesis del producto de PCR de las regiones ITS y LN como se muestran en las figuras 10 y 11 respectivamente.

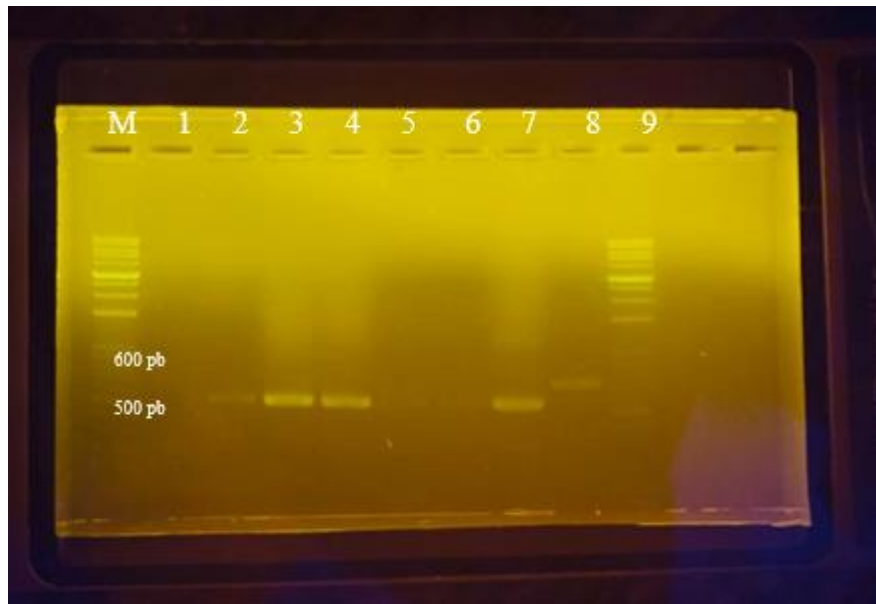


Figura 10. Electroforesis en gel de agarosa del producto de PCR de la región ITS1-ITS4 de aislados presuntivos de levaduras, Línea 2 a línea 8, aislados M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7; línea 1 control negativo; línea 9 y M marcador de peso molecular 1Kb.



Figura 11. Electroforesis en gel de agarosa del producto de PCR de la región LN1-LN4 de aislados presuntivos de levaduras, Línea 2 a línea 8, aislados M1, M2, M3, M4, M5, M6, M7; línea 1 control negativo; línea 9 y M marcador de peso molecular 1Kb.

En las figuras de los árboles filogenéticos obtenidos se muestra la secuenciación de las levaduras extraídas por PCR, resultados que fueron analizados en el NCBI (National Center for Biotechnology Information) para determinar el nombre de las levaduras. Según (Vu et al. 2016) para las regiones secuenciadas por ITS el nivel de significancia debe ser superior a 99,6 % y para LN según (Kurtzman y Robnett 2015) el nivel de significancia deberá ser mayor a 99 % para indicar que las levaduras tienen similitud. Los porcentajes que presenta cada rama de los árboles filogenéticos indican el valor de confianza de las levaduras que están presentes en la fermentación del maíz molido.

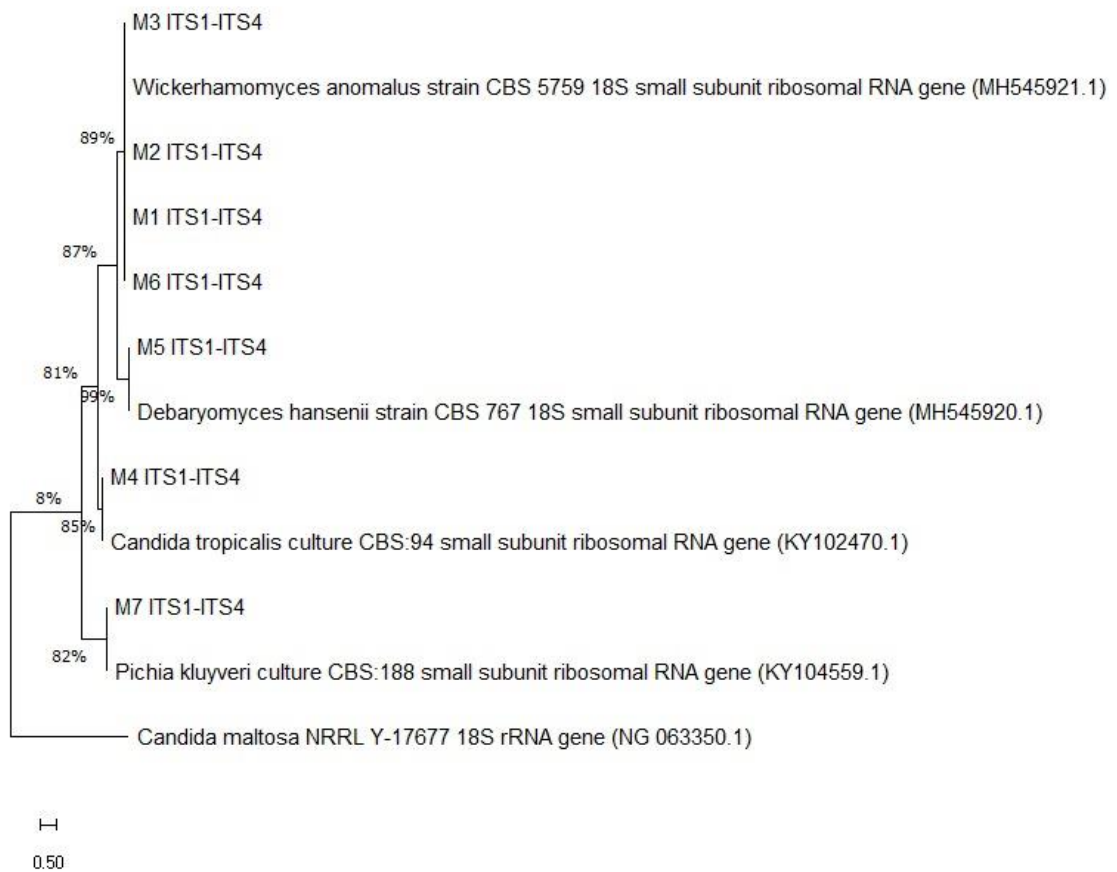


Figura 12. Árbol filogenético basado en el método de Neighbor Joining de las secuencias obtenidas para la región ITS1-ITS4 de aislados de especies de levaduras obtenidas en la fermentación del maíz molido para la elaboración del champús y de cepas de referencia de NCBI. *Candida maltosa* fue utilizada como outgroup.

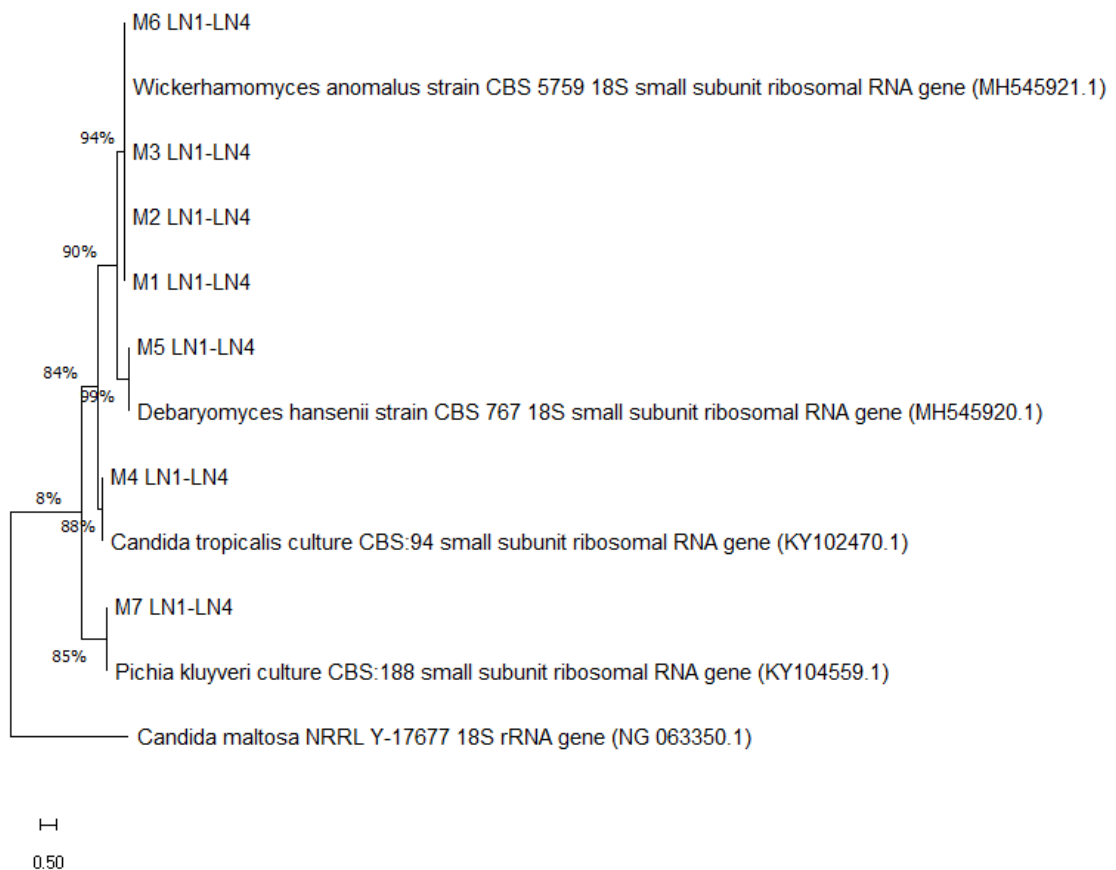


Figura 13. Árbol filogenético basado en el método de Neighbor Joining de las secuencias obtenidas para la región LN1-LN4 de aislados de especies de levaduras obtenidas en la fermentación del maíz molido para la elaboración del champús y de cepas de referencia de NCBI. *Candida maltosa* fue utilizada como outgroup.

De las levaduras obtenidas se detalla a continuación su importancia en la fermentación de alimentos, sobre todo en bebidas.

- ***Wickerhamomyces anomalus strain***

Hoy en día presenta una gran importancia en la industria vinifica, debido a que sus características metabólicas y fisiológicas son aprovechadas potencialmente, a pesar de que su crecimiento en el trayecto de la fermentación se lo vea como un riesgo sin control. Esta levadura es muy amplia en la naturaleza y ha sido aislada en varios ambientes, lo que nos da a conocer que es una excelente productora de enzimas no solo en vinificación, sino en la fermentación de la uva en vinos, sidra de manzana, fermentaciones cerveceras y pan (Padilla, Gil, y Manzanares 2018).

- ***Debaryomyces hansenii***

Es una levadura que tiene una extrema capacidad para sintetizar, acumular y almacenar lípidos y podría ser ventajosa para la producción de biotecnología de productos tanto naturales como artificiales. Es un especie altamente heterogénea y por lo tanto muy versátil para asimilar y fermentar diversas fuentes de carbono. Es capaz de sintetizar o tolerar varias toxinas, y en lo general se considera que no es patógena. Su osmotolerancia es muy ventajosa para algunas aplicaciones biotecnológicas porque permite una producción casi no estéril y altas concentraciones de producto/educto, condiciones que deberían reducir los costes de producción (Breuer y Harms 2006).

La presencia de esta levadura en el proceso fermentativo de alimentos crea efectos favorables, debido a que está presente en el proceso de maduración y produce dióxido de carbono, etanol y varios compuestos volátiles, entre ellos cetonas, alcoholes, azufrados, ésteres, aldehídos que ayudan a mantener el sabor y olor característico del alimento. Por otro lado, su crecimiento excesivo puede ocasionar cambios sensoriales desagradables en el aroma y sabor (Cano 2014).

- ***Candida tropicalis***

Es utilizada como adyuvante en la producción de quesos y como indicador para la fermentación en el proceso de café, vino, vegetales, cacao, cerveza y carne. Pueden utilizar varias fuentes de carbono y producir ácidos, enzimas y subproductos, es muy común su implementación en los estados de maduración de cerezas, fresas, frambuesas y arándanos, por otro lado, para su uso es recomendable realizar una evaluación de seguridad al momento de aplicar esta levadura en el ámbito alimentario (De Melo Pereira et al. 2022).

- ***Pichia kluyveri***

Es una levadura del grupo perteneciente a las no *Saccharomyces* que ayudan a mejorar las características organolépticas de bebidas fermentadas, posee un metabolismo que permite incrementar la concentración de moléculas volátiles como los ésteres afrutados y florales que son compuestos aromáticos que permiten mejorar de manera significativa la calidad de vinos varietales. Esta levadura es considerada de bajo poder fermentativo ya que solo puede fermentar hasta un 5 % (v/v) de

etanol, y no considerable para la producción de vinos regulares o espumosos. Sin embargo, se la puede emplear para la producción de bebidas fermentadas como la sidra y cerveza, además, tiene la capacidad de ser un agente biocontrolador que inhibe el crecimiento de levaduras que deterioran bebidas fermentadas derivadas de frutas (Riquelme 2023).

4.1.6 Formulación estandarizada

Para el proceso de estandarización del Champús en una cantidad de 25 litros, primero se debe realizar la fermentación por 72 horas para obtener el cultivo madre, con una materia prima de buena calidad (250 g maíz) a una concentración del 60% de maíz ,40% agua, con un brix de 4,67 y un pH 4,2. Después de este proceso se recepta la materia prima para la cantidad de champús que se desea realizar, en este caso utilizamos 3000 g de maíz de buena calidad, se muele y se agrega 5 litros de agua a una temperatura de 50°C, esto se inocula al 1 % de la muestra madre para dejar fermentar durante 72 horas. Luego del proceso de fermentación se realiza la segunda molienda, el producto obtenido se mezcla con 25 litros de agua y se procede al colado, el colado es sometido a un proceso de cocción por un tiempo de 3 horas a una temperatura de 88 - 91 °C, en el momento de la cocción se agrega las especias (manzanilla, hoja de naranja agria y hierba luisa) por un tiempo de media hora y se extraen, pasado el tiempo de cocción se realiza un choque térmico para enfriar el producto y reducir los tiempos, añadimos 3000 ml de panela diluida en la concentración final y colocamos en envases de vidrio de 200ml una cantidad de 170 ml del champús y 30 g de mote.

4.1.7. Estandarización del proceso de elaboración del Champús

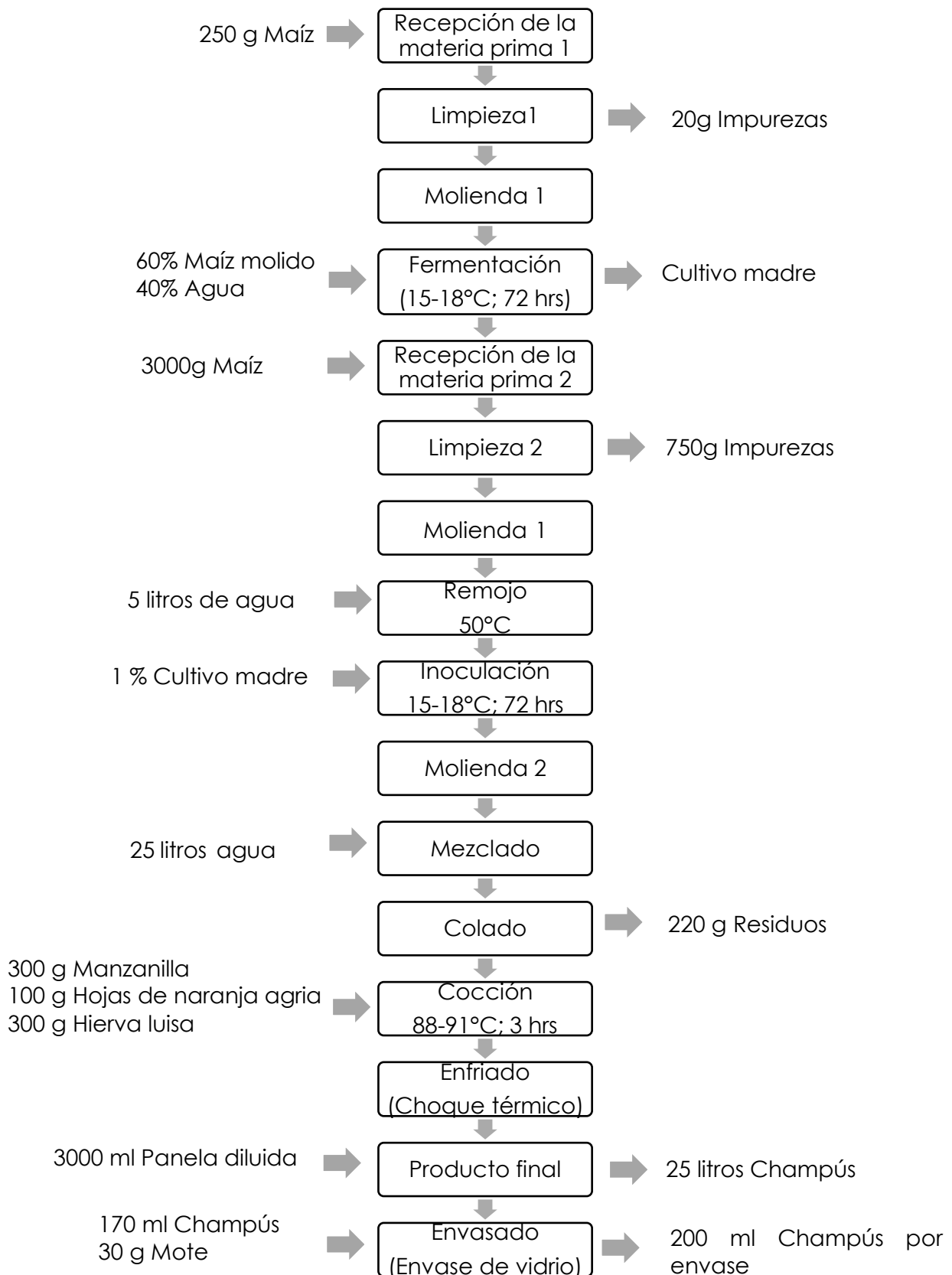


Figura 14. Diagrama de flujo de la estandarización del Champús

4.1.8. Análisis microbiológico de calidad e inocuidad de la bebida fermentada champús

En la Tabla 12 se muestran los resultados microbiológicos de calidad e inocuidad que se realizó al mejor tratamiento del champús, donde se puede observar que el producto es libre de contaminación basándose en la norma NTE INEN 1529-7 del control microbiológico de los alimentos sobre “Determinación de microorganismos coliformes, por la técnica de recuento de colonias”

Tabla 12: Resultados del análisis microbiológico de calidad e inocuidad del champús

Parámetro	Unidad	Resultado	Método de ensayo
Recuento de Coliformes totales	UFC/g	<10	NTE INEN 1529-7
Recuento de Escherichia Coli	UFC/g	<10	

4.1.9. Análisis sensorial del Champús

El análisis sensorial fue realizado a un grupo de 50 jueces no entrenados bajo la utilización de una escala hedónica del 1 al 5, donde 1 es el valor más bajo y 5 el más alto, tomando en cuenta atributos sensoriales como: color, aroma, sabor y textura.

Color

En el atributo sensorial del color se indica el mayor porcentaje de aceptación que es del 37% en el tratamiento dos, como se indica en la Figura 15.

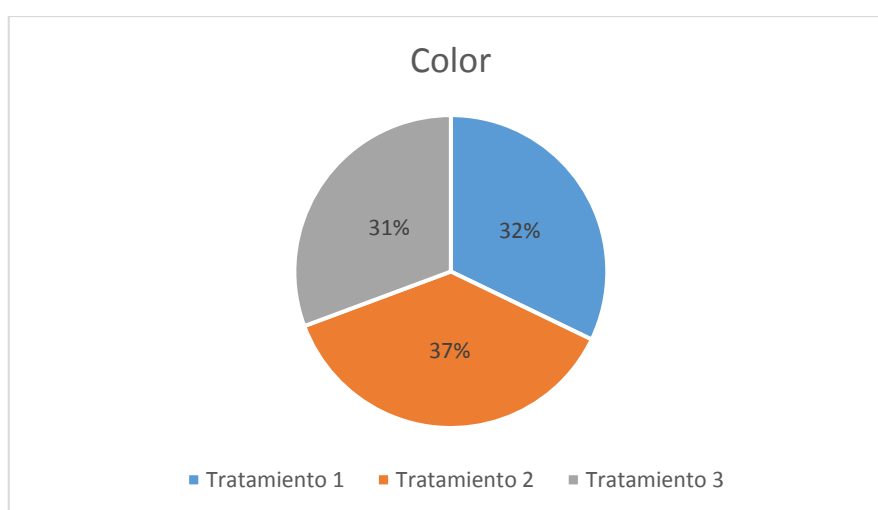


Figura 15. Análisis sensorial del atributo color

- **Aroma**

En el atributo sensorial de aroma se indica el mayor porcentaje de aceptación que es del 35% en el tratamiento dos, debido a que tiene un aroma más determinante por la fragancia que otorgo la mezcla de las especias aromáticas como se muestra en la Figura 16.

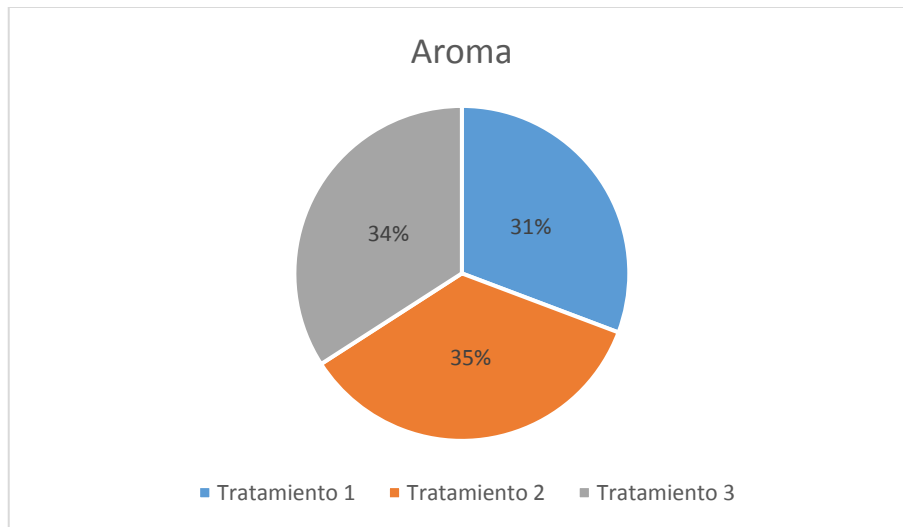


Figura 16. Análisis sensorial del atributo aroma

- **Sabor**

En el atributo sensorial de sabor se indica el mayor porcentaje de aceptación que es del 38% en el tratamiento dos, como se muestra en la Figura 17.

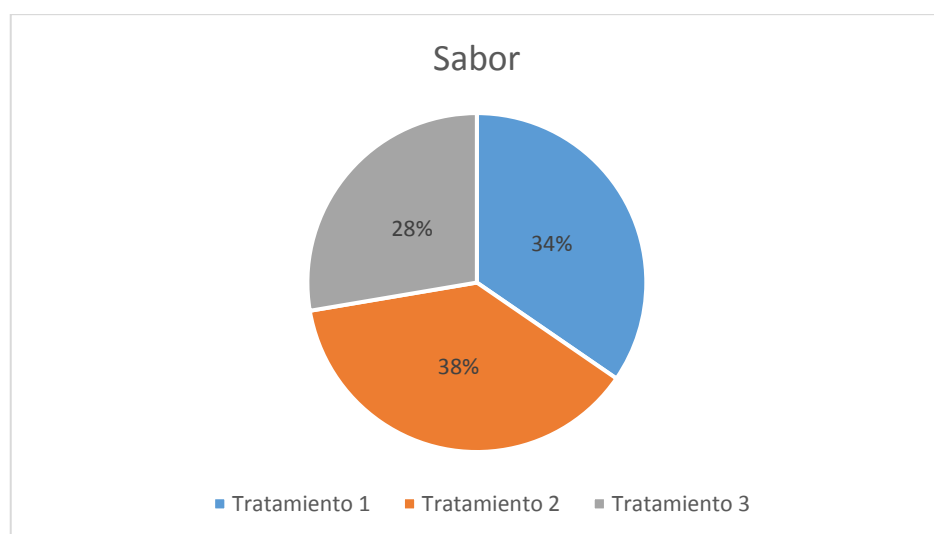


Figura 17. Análisis sensorial del atributo sabor

- **Textura**

En el atributo sensorial de textura se indica el mayor porcentaje de aceptación que es del 35% en el tratamiento dos, como se muestra en la Figura 18.

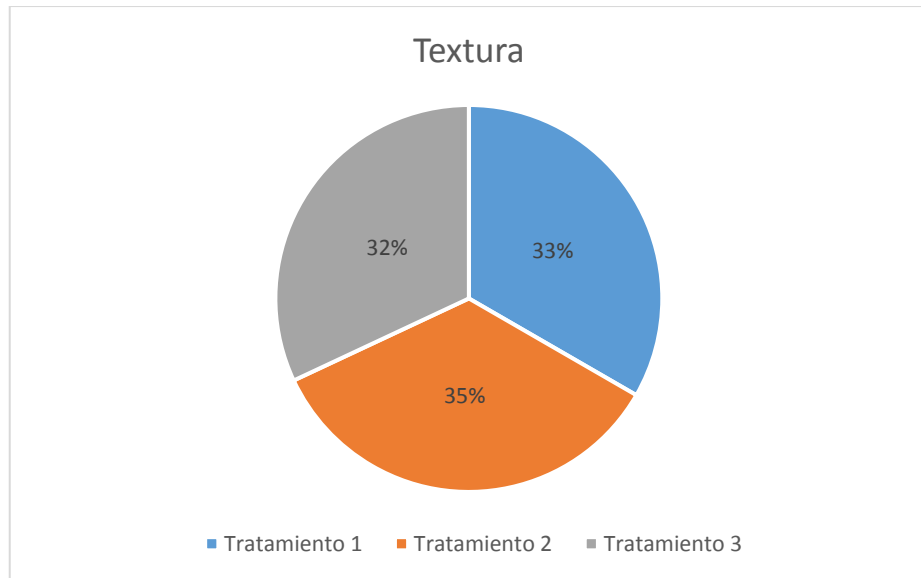


Figura 18. Análisis sensorial del atributo textura

Se puede concluir que el tratamiento número 2 es el mejor en todos los atributos sensoriales determinados como se muestra en la Figura 19.

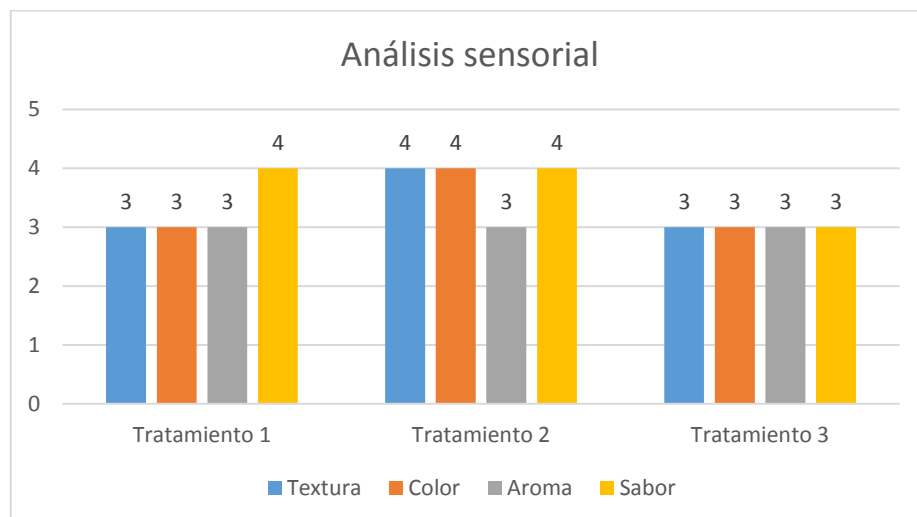


Figura 19. Análisis sensorial del champús

Además, al analizar las medias estadísticas obtenidas mediante una prueba de Tukey realizado en el programa estadístico InfoStat, se puede evidenciar que el tratamiento

con mayor aceptación por el panel de los catadores es la muestra número dos (762) correspondiente al 1 % de inoculación. Detallando que su valor de las medias estadísticas en los atributos como color, aroma, sabor y textura es 4, que en la escala de aceptación es "me gusta". Mientras que el tratamiento con menor aceptabilidad es la muestra tres (522), con una calificación de 3 en todos sus atributos, que significa ni me gusta ni me disgusta. Como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 13: Análisis estadístico de la evaluación sensorial del Champús

TRATAMIENTOS	COLOR	AROMA	SABOR	TEXTURA
T1 (778)	3 B	3 B	4 A	3 B
T2 (762)	4 A	3 B	4 A	4 A
T3 (522)	3 B	3 B	3 B	3 B

4.1.10. Análisis fisicoquímico del champús en la etapa 2

En la Tabla 14 podemos observar los resultados fisicoquímicos del champús a temperatura ambiente y de refrigeración, luego de determinar el mejor tratamiento que fue el de 60 % de maíz y 40 % de agua a las 72 horas, dentro del análisis se consideró los siguientes parámetros: pH, brix, viscosidad y proteína.

Tabla 14. Resultados del análisis fisicoquímico del champús

Temperatura	Tiempo	Parámetros		
		pH	°Brix	Viscosidad
Temperatura ambiente	Día 1	4,85	11,8	199,9 mPa's
	Día 3	4,74	13,1	193,7 mPa's
	Día 5	4,67	13,4	193 mPa's
Temperatura de refrigeración	Día 1	4,73	12,5	230,4 mPa's
	Día 3	4,76	12,3	225,2 mPa's
	Día 5	4,83	11,8	208,5 mPa's
	Día 7	4,9	11,6	196 mPa's
	Día 9	4,95	11,2	191,8 mPa's
	Día 11	5,1	10,9	190,8 mPa's
	Día 13	5,25	10,7	190,4 mPa's

4.1.11. Análisis estadístico de los aspectos fisicoquímicos del champús en la etapa 2

Se realizó la prueba de análisis de varianza “ANOVA” para determinar los aspectos fisicoquímicos con la medición del pH, brix y viscosidad del champús en función a los días y temperaturas del mejor tratamiento con un nivel de confianza del 95%, como se observa en la Tabla 15.

Tabla 15. Análisis estadístico de los aspectos fisicoquímicos del champús

Temperatura	Tiempo	Parámetros		
		pH	°Brix	Viscosidad
Temperatura ambiente	Día 1	4,85 ± 0,01 A	11,8 ± 0,01 A	199,9 mPa´s ± 0,01
	Día 3	4,74 ± 0,01 B	13,2 ± 0,1 B	193,7 mPa´s ± 0,1
	Día 5	4,67 ± 0,01 C	13,4 ± 0,1 C	193,1 mPa´s ± 0,1
Temperatura de refrigeración	Día 1	4,73 ± 0,01 A	12,5 ± 0,1 A	230,4 mPa´s ± 0,1
	Día 3	4,76 ± 0,01 B	12,3 ± 0,1 B	225,2 mPa´s ± 0,1
	Día 5	4,83 ± 0,01 C	11,8 ± 0,1 C	208,5 mPa´s ± 0,1
	Día 7	4,8 ± 0,1 D	11,6 ± 0,1 D	197 mPa´s ± 1
	Día 9	4,95 ± 0,005 E	11,2 ± 0,1 E	191,8 mPa´s ± 0,1
	Día 11	5,15 ± 0,05 F	10,61 ± 0,42 F	190,70 mPa´s ± 0,1
	Día 13	5,25 ± 0,01 G	10,7 ± 0,1 G	190,4 mPa´s ± 0,1

Las medias corresponden a los resultados obtenido de pH, brix y viscosidad del champús, sus valores son representados como la media ± la desviación estándar en función a los días y temperaturas. Las letras diferentes en una misma columna indican diferencia significativa a un nivel de confianza del 95 %

- **Proteína**

El resultado de proteína del mejor tratamiento obtenido se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{1.4 \times (V_1 - V_0) \times N}{P}$$

$$\% \text{ Proteína} = \% \text{ Nitrógeno} \times F$$

Y se obtuvo como resultado:

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{1.4 \times (2,3) \times 0,1186}{5}$$

$$\% \text{ Proteína} = 0,0763 \times 100$$

$$\% \text{ Proteína} = 0,0763 \times 6,25$$

$$\text{Proteína} = 0,476 \%$$

4.1.12. Tiempo de vida útil del producto final

En la Tabla 14 se puede observar los análisis fisicoquímicos del champús, donde se determina que a temperatura ambiente su vida útil es de 5 días y a temperatura de refrigeración es de 13 días, lo que establece que a temperatura de refrigeración el producto terminado aumenta su vida útil.

4.2.DISCUSIÓN

4.2.1. Análisis microbiológico del conteo de colonias de la fermentación del maíz molido en la etapa 1

Se aplicó un análisis de varianza "ANOVA" para el conteo de colonia, donde se obtuvo diferentes valores de medias al aplicar una prueba Tukey, que nos da como resultado que el tratamiento con mayor crecimiento de colonias en la fermentación del maíz molido fue el de 60 % a las 72 horas, utilizando una temperatura estándar de 25°C se concluye que a mayor tiempo aumenta el crecimiento microbiano.

Resultados similares obtuvo (Pomasqui, 2012) en su investigación "Parámetros óptimos en la fermentación alcohólica para industrializar la chicha de jora en la procesadora de alimentos y bebidas kutacachi sara mama", donde manifiesta que la fermentación incrementa de manera rápida al aumentar la temperatura con un rango de 15 a 30°C, y que al reducir las temperaturas aumentan la duración del proceso de fermentación, lo que genera una disminución de velocidad en el crecimiento de las levaduras.

Resultados similares obtuvo (Velasco, 2016) en su investigación "Caracterización de microorganismos con capacidad fermentativa en el proceso de elaboración de la chicha de uva", donde detalla el proceso de fermentación de dicha bebida, indicando un crecimiento de adaptación para las levaduras con un total de 6.3 log UFC/ml en el primer día y al tercer día considerándose el mayor día de fermentación se obtuvo un total de 7.7 log UFC/ml, determinando que dicho valor podría estar relacionado con los grados de fermentación alcohólica.

4.2.2. Análisis fisicoquímico de la fermentación del maíz en la etapa 1

El mejor tratamiento T3, perteneciente al 60% de maíz molido, con un 40% de agua a las 72 horas presenta un brix de 4,67 y un pH 4,2 similar a la muestra base con un brix de 5 y un pH de 4.18, con una cantidad elevada del crecimiento de microorganismos a diferencia de los demás, detallando en la tabla que conforme pasan los días el pH aumenta y los brix disminuyen.

Resultados similares obtuvo (Yanchapanta y Sarango, 2019) en su investigación "Cinética del crecimiento de microorganismos durante el proceso de fermentación de tres bebidas ancestrales a partir de yuca (manihot esculenta)", donde da a conocer los valores de sus análisis físicos químicos para los diferentes tipos de bebidas ancestrales: chicha blanca con pH de 4.7, chicha wiwis con pH de 4.7 y la chicha negra con pH de 5.85 a una temperatura de 25 °C a 25.2 °C.

Resultados similares se obtuvieron en la investigación de (Yanchapanta y Sarango 2019) donde el análisis comparativo de los resultados establece que el proceso de fermentación del maíz produce cambios importantes, entre los cuales: los grados brix en este proceso va desde 8,13% a 1,4%, al respecto también expresa que tras los procesos bioquímicos que tiene lugar en el proceso de fermentación, se observa el incremento notable de las actividades enzimáticas, lo que origina la hidrólisis parcial

del almidón, un aumento considerable de los azúcares libres y solubilización parcial de las proteínas, valores que sugieren una adecuada germinación del maíz.

4.2.3. Detección e identificación molecular de las levaduras en la fermentación del maíz molido

Como se puede observar en las figuras de los árboles filogenéticos las levaduras identificadas del maíz molido para la elaboración del champús mediante biología molecular realizada con los primers ITS1-ITS4, confirmando los resultados con los primers LN1-LN4 y comparando las secuencias en la base de datos de NCBI (National Center for Biotechnology Information) se obtuvo los siguientes tipos de levaduras: *Wickerhamomyces anomalus*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida tropicalis* y *Pichia kluyveri*, utilizando como outgroup la *Candida maltosa*.

- ***Wickerhamomyces anomalus***

Resultados similares obtuvo (Matallana, 2019) en su investigación "Caracterización bioquímica y tecnológica de levaduras aisladas en bebidas fermentadas tradicionales de Ecuador", donde nos da a conocer que se aislaron varios tipos de levadura no convencionales en la fermentación de bioetanol de dichas bebidas fermentadas, entre ellas la levadura *W. anomalus* y *P. kudriavzevii* con alta tolerancia a las concentraciones de etanol. En la caña de azúcar y remolacha azucarera, el sustrato más utilizado para la producción de su biomasa en levaduras es la melaza, por su disponibilidad, economía, perfil nutricional y ausencia de sustancias tóxicas, estableciendo así la capacidad de tolerancia al estrés del género y especie *Saccharomyces* y levaduras no *Saccharomyces* incluidas cepas de *T. delbrueckii*, cepas de *Candida*, *Wickerhamomyces anomalus* y *Kodamaea ohmeri*. Las dos últimas cepas tuvieron tasas de crecimiento elevadas, posiblemente debido al mayor tamaño de las células.

- ***Debaryomyces hansenii***

Resultados similares se obtuvo (Alvarado, 2018) en su investigación "Caracterización del proceso de elaboración artesanal y en planta de una bebida fermentada tradicional a base de maíz (*Zea mays* L.)", donde se presentan algunas de las especies encontradas en alimentos fermentados realizados a base de cereales alrededor del mundo. Las levaduras más distintivas dentro de la fermentación de alimentos se encuentran en el género *Saccharomyces*, aunque se han identificado otros géneros en alimentos fermentados a base de cereales como *Candida*,

Torulaspota, *Debaryomyce hansenii*, *Dekkera*, *Kluyveromyce* y se caracterizan por su tolerancia a ambientes ácidos, con un pH menor a 5. En (Cabeza, 2006) establece que las levaduras de los géneros *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*, *S. boulardii*), *Cándida* (*C. utilis*), *Debaryomyces* y *Kluyveromyces* (*K. fragilis*) para cervecería, vinificación, destilería, panificación y elaboración de alimentos orientales a base de cereales (arroz y soja) se adaptan muy bien a las condiciones medioambientales que ofrece el sustrato y son capaces de controlar la microbiota de los productos. Producen una fermentación de forma viable y estable durante su almacenamiento.

Resultados similares obtuvo (Maturano et al. 2009) en su investigación "Estudio cualitativo de actividades enzimáticas y fenómeno killer en levaduras vínicas", donde la levadura del género *Debaryomyces* tiene un rol importante en la elaboración de vinos por el desarrollo de glucosidasas microbianas, el potencial de estas enzimas libera compuesto flavor a partir de los precursores glicosidados no volátiles, característica de gran relevancia en la industria vitivinícola.

- ***Candida tropicalis***

Resultados similares obtuvo (Martínez y Paredes, 2019) en su investigación "Aislamiento e identificación de microorganismos fermentadores de dos tipos de bebidas ancestrales fermentadas a partir de yuca (manihot esculenta)", donde se identificó a *Candida tropicalis* en la bebida fermentada denominada "chicha negra", las unidades formadoras de colonias presentan un color crema amarillo, con textura pastosa y una superficie convexa, mismos resultados se obtuvieron en esta investigación.

En la investigación de (De Melo Pereira et al. 2022) denominada "¿ Qué está haciendo *Candida* en mi comida? Una revisión y alerta de seguridad sobre su uso como cultivos iniciadores en alimentos fermentados" establece que la presencia de esta levadura aumenta el contenido de compuestos aromáticos en el vino y la leche fermentada, contribuye a la molienda de granos de cacao y café, y también juega un papel auxiliar en la producción de queso. Métodos metagenómicos recientes también han confirmado la presencia de *Candida* durante la fermentación natural, pero rara vez son dominantes. De hecho, otros grupos de microorganismos, incluidos *Saccharomyces cerevisiae* y bacterias del ácido láctico, inician el crecimiento y acumulan subproductos (etanol y ácido láctico, respectivamente), lo que inhibe el crecimiento de *Candida*

- **Pichia Kluyveri**

Estudios similares de *Pichia kluyveri* y *Candida tropicalis* se encontraron en (García, 2023) en su investigación "Desarrollo y caracterización de un proceso de fermentación de maíz (zea mays) germinado para la obtención de una bebida con características probióticas", donde indica la presencia de *P. kluyveri* y *C. tropicalis* en alimentos fermentados a base maíz y se aprecia que en su mayoría se trata de bebidas elaboradas a base de este cereal en América Latina y África. Estos microorganismos son reportados de fermentaciones espontaneas en los alimentos que se elaboran con fines domésticos, medicinales y ceremonias religiosas, estas bebidas son importantes desde el punto de vista tradicional, nutricional y comercial.

En la investigación de (L. S. Guerra et al. 2022) sobre "Alimentos Fermentados Tradicionales de Ecuador: Una Revisión con Enfoque en la Diversidad Microbiana", detalla el champús como una bebida tradicional de Colombia, Ecuador y Perú que empieza con la molienda y mezcla de distintos cereales como trigo, centeno y maíz, durante este proceso fermentativo se encontró la presencia de levaduras como *S. cerevisiae* , *Issatchenkia orientalis* , *Pichia fermentans* , *Zygosaccharomyces fermentati* *Torulospora delbrueckii* , *Galactomyces geotrichum*, *Hanseniaspora spp* y *P. kluyveri*, y establece que si bien se sabe que existen diferentes grupos bacterianos dentro del proceso de fermentación, no existen reportes a la fecha sobre la identificación y aislamiento de microorganismos del champús.

4.2.4. Análisis microbiológico de calidad e inocuidad del champús

Al aplicar un análisis microbiológico de calidad e inocuidad con el fin de asegurar la salud del consumidor, se obtuvo como resultado que el producto final es libre de contaminación, cumpliendo los estándares de la norma la norma NTE INEN 1529-7.

NTE INENE 1529-7 (1990) en la Norma del control microbiológico de los alimentos, "Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de recuento de colonias" nos da a conocer que el recuento estimado de coliformes totales debe ser menor a 1 y multiplicado por su factor de dilución, con el objetivo de evitar riesgos en la salud del consumidor.

4.2.5. Análisis sensorial

Los resultados estadísticos de una prueba Tukey realizada en el programa InfoStat, dan a conocer que el tratamiento con mayor aceptación por los catadores es la muestra número 2, con una codificación de 762, correspondiente al 1% de inoculación. Obteniendo un nivel de aceptación de 4 (Me gusta) para los atributos de color, aroma, sabor y textura.

Resultados similares obtuvo (Dávila, 2012) en su investigación, "Elaboración de chicha de jora y establecer un tipo de envase para promover su consumo en restaurantes de la ciudad de Riobamba 2012", donde detalla que luego de su fermentación por 8 días al realizar la chicha de jora y aplicar el análisis sensorial se obtiene como resultados que no se genera ninguna variación en el color, mientras que al pasar los días el aroma es más fuerte, debido a la fermentación en proceso, el sabor se vuelve agrídulce y la textura es menos viscosa debido a que los sólidos de la bebida al estar en reposo se van sedimentando.

4.2.6. Análisis fisicoquímicos del champús

- **pH**

En los resultados de pH se puede observar que a medida que pasan los días el pH disminuye debido al incremento de la temperatura, esto se da en la conservación a temperatura ambiente y en conservación a refrigeración el pH aumenta debido a que tiene una temperatura baja.

Obtuvo estudios similares (Shuña, 2019) donde en su investigación "Elaboración de chicha de maíz amarillo duro utilizando diferentes proporciones de levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) en Pucallpa - Ucayali ", donde indica que la concentración de microorganismos en este caso *Saccharomyces cerevisiae* influyen en la disminución del pH en la chicha de maíz, esto debido a que los azúcares se desdoblaron para formar alcohol. En esta investigación, el champús a temperatura ambiente disminuye sus niveles de pH, debido al mayor número de crecimiento microbiano, mientras que a temperatura de refrigeración el pH aumenta, porque las bajas temperaturas impiden el desarrollo de microorganismos.

Resultados similares obtuvo (Pomasqui, 2012), donde manifiesta que un aumento de temperatura acelerará la fermentación, esto se debe a que todo organismo tiene un rango de pH en el que es posible el crecimiento y por lo general tiene un pH óptimo

definido, se menciona que en la levadura el pH es de 3 a 6, el crecimiento y la actividad fermentativa favorecen la mayor parte del tiempo y la actividad fermentativa a valores de pH más altos caen significativamente a un pH de 3 a 4.

- **°Brix**

En los resultados se determinó que a temperatura ambiente los brix aumentan, esto se debe a que el aumento de temperatura acelera la fermentación, por lo que se desarrolla mayor cantidad de microorganismos que hace que los azúcares generen una fermentación alcohólica, mientras que en la temperatura de refrigeración los brix disminuyen debido a que la presencia de temperatura es baja y el desarrollo de los microorganismos es lento, lo que hace que los azúcares se degraden de una manera lenta y el producto final tenga más tiempo de vida útil.

Resultados similares obtuvo (Pomasqui, 2012) en su investigación, en la cual da a conocer que el mosto de jora es un medio favorable para los microorganismos naturales presentes en la fermentación, y a medida que avanza el proceso, la levadura consume el azúcar, realizando la actividad fermentativa hasta que carezca azúcar como nutriente y forme etanol, lo que hace que la población deje de aumentar.

- **Viscosidad**

En los resultados se determina que la viscosidad disminuye conforme pasan los días, ya sea a temperatura ambiente y en refrigeración, esto se da debido a que mientras va pasando el tiempo la concentración del almidón de maíz en esta bebida se vuelve más líquida, lo que quiere decir que su viscosidad disminuye de manera significativa, dando una aceptación en el consumidor.

Resultados similares obtuvo (Soria et al. 2017) en su investigación "Elaboración de yogurt a base de soya enriquecido con quinua y camote", donde manifiesta que, al añadir quinua y camote al yogurt, le ayuda a mejorar sus características reológicas y fisicoquímicas debido a la elevada presencia de almidones a diferencia de un yogurt comercial, la adición de estos alimentos generó una gelificación en la bebida, brindando una viscosidad óptima.

- **Proteína**

El contenido de proteína de esta investigación es de 0,476% casi similar a los resultados obtenidos en (Lluglla, 2020) en su investigación sobre " Desarrollo de una bebida a base de harina de caña de maíz (*Zea mays*) y salvado de arroz (*Oryza sativa*) con doble fermentación." en la cual el contenido de proteína del mejor tratamiento es de 0.714 %, también, en la investigación de (Alvarado, 2018) sobre "Caracterización del proceso de elaboración artesanal y en planta de una bebida fermentada tradicional a base de maíz (*Zea mays* L.)" en la cual el contenido de proteína del producto final es de 0,36 %.

4.2.7 Tiempo de vida útil

Al observar los aspectos fisicoquímicos del mejor tratamiento de la evaluación sensorial donde al colocar el champús en envases de vidrio a temperatura ambiente y de refrigeración, se obtuvo como resultado que a temperatura ambiente tiene una duración de 5 días, mientras que a refrigeración duró 13 días, después de este límite el producto genera contaminación y no es apto para el consumo humano.

Resultados similares obtuvo (Dávila, 2012) en su investigación, en la cual utiliza dos tipos de envases para la conservación de la chicha de jora, obteniendo como resultados que en el envase de vidrio el producto presenta un tiempo de vida útil más extenso a comparación del envase de plástico que se deteriora a corto plazo.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Con base a una investigación exhaustiva se determinó cantidades y porcentajes de la formulación base para la elaboración del champús tradicional y se tomó como punto de partida para trabajar en el proceso de estandarización del champús.
- Al aplicar un análisis de identificación molecular en la fermentación del maíz molido para la elaboración del champús se obtuvo como resultado que las levaduras presentes en este proceso fermentativo son: *Wickerhamomyces anomalus*, *Debaryomyces hansenii*, *Candida tropicalis* y *Pichia kluyveri*, la caracterización fenotípica y genotípica se realizaron con primers ITS1- ITS4 y LN1-LN4 que confirman los resultados, dichos datos fueron comparados en la base de datos NCBI y se evidenció con análisis investigativos que estas levaduras son favorables en el proceso de fermentación ayudando a mantener el color, aroma, sabor y textura característico de este producto.
- Con el análisis sensorial se pudo determinar que el tratamiento con mayor aceptación por el panel de jueces no entrenados fue el tratamiento T2 con una inoculación del 1 % de la muestra madre, debido a que presentó los atributos de color, aroma, sabor y textura adecuados para el paladar de los jueces en el producto. Por otra parte, al convertir la formulación tradicional en una formulación técnica, se pudo estudiar los análisis fisicoquímicos del mejor tratamiento, donde se determinó los valores óptimos para el desarrollo adecuado de este producto, como el pH que debe mantenerse a 4,83, los brix a 10,3, la viscosidad a 190,4 mPa's y la proteína a 0,476 %.
- El tiempo de vida útil del mejor tratamiento del champús a una temperatura de refrigeración (4°C) fue de 13 días, ya que después de este tiempo el producto excedió los límites microbiológicos establecidos en la norma NTE INEN 1529-7 del control microbiológico de los alimentos.

5.2.RECOMENDACIONES

- Investigar sobre tipos y cantidades de conservantes a utilizar en bebidas fermentadas, específicamente en el champús con el objetivo de alargar el tiempo de vida útil del producto.
- Desarrollar un envase óptimo para conservar el producto final, sin que este sufra cambios fisicoquímicos y sensoriales, en caso de ser comercializado.
- Realizar estudios que puedan reemplazar el maíz amarillo por otro tipo de maíz y evaluar los efectos que podrían causar en sus atributos sensoriales.
- Realizar estudios de la bebida fermentada champús con la finalidad de aumentar proyectos de investigación y datos importantes de la misma, dando realce a esta bebida ancestral que hoy en día se está perdiendo.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abarca, Roberto Maldonado. 2021. «BEBIDA NUTRICIONAL A PARTIR DE LA MEZCLA FERMENTADA MAIZ-SOYA.» *Nuevos sistemas de comunicación e información* (82): 2013-15.
- Alvarado, Lucia. 2018. *Caracterización del proceso de elaboración artesanal y en planta de una bebida fermentada tradicional a base de maíz (Zea mays L.)*.
- Arias, Morillo Carlos Andrés. 2015. «CARACTERIZACIÓN MICROBIOLÓGICA Y FÍSICO QUÍMICA DE LAS BEBIDAS FERMENTADAS REPRESENTATIVAS DE LA PROVINCIA DE COTOPAXI - ECUADOR».
- Azanza, Carla, y David Chacon. 2018. *Análisis Cultural y Sensorial de la chicha de jora elaborada en la sierra norte ecuatoriana (Imbabura y Pichincha)* Carla Sofía Azanza Castillo Carla Sofía Azanza Castillo David Alejandro Chacón Velasco. <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/7335/1/138692.pdf>.
- Bolaños, Vaca Joshua Guillermo. 2020. «Elaboración de una bebida fermentada tipo yogurt a base de morocho». *SELL Journal* 5(1): 55.
- Breuer, Uta, y Hauke Harms. 2006. «Debaryomyces hansenii - An extremophilic yeast with biotechnological potential». *Yeast* 23(6): 415-37.
- Bustamante, Alexander. 2019. «Influencia de la temperatura de fermentación en las características físicoquímicas de la chicha de jora, evaluados en dos variedades de germinados de maíz (Zea mayz L.), INIA 603 Y MARGINAL 28.» *Facultad De Ciencias Agrarias Escuela Académico Profesional De Industrias Alimentarias* 3(3-24).
- Cabeza, Enrique. 2006. «Cultivos Estárter: Seguridad, funcionalidad y propiedades tecnológicas». <https://www.researchgate.net/publication/264762462>.
- Cabrera, Francisco. 2012. «Bebidas fermentadas». *Universidad Nacional Abierta y A Distancia UNAD, Tesis Doctoral* (1): 297.

- Camacho, Lizbeth. 2016. «Evaluación del Efecto de la Ozonización en la Vida Útil de Chicha de Jora Envasada». : 112.
- Campbell, Platt. G. 2019. *Ciencia y Tecnología de los alimentos*.
- Cano, Liliana. 2014. «CANO - Selección de levaduras de *Debaryomyces hansenii* y determinación de su efecto en la calidad...»
- Chicaiza, María, y Patricio Fernando Parra. 2020. «Universidad técnica de cotopaxi». *Universidad técnica de cotopaxi* 1: 101.
- Colcha, Javier. 2011. «“EVALUACIÓN SOBRE BUENAS PRÁCTICAS DE MANIPULACIÓN Y CONSERVACIÓN DE ALIMENTOS AL PERSONAL QUE LABORA EN EL ÁREA DE COCINA DEL HOSPITAL GENERAL DEL CANTÓN COLTA PROVINCIA DE CHIMBORAZO 2010” TESIS». *Biomédica* 31(sup3.2).
- Dávila, Amanda. 2012. «"Elaboración De Chicha De Jora Y Establecer Un Tipo De Envase Para Promover Su Consumo En Restaurantes De La Ciudad De Riobamba 2012"». *Biomédica* 31(sup3.2): 103.
- Díaz, Edulgerio. 2015. «“UCV-HACER” Revista de Investigación La chicha, una refrescante tradición peruana Chicha, A refreshing Peruvian tradition». *Filial Chiclayo* 4(1): 2305-8552. <https://www.redalyc.org/pdf/5217/521751973013.pdf>.
- Escudero, Vásconez Bruna Micaela. 2014. «Caracterización Físico-Química Y Microbiológica De Las Principales Bebidas Fermentadas Tradicionales De La Provincia De Bolívar – Ecuador Trabajo». : 148.
- De Florio Ramírez, Enrique. 2008. «ELABORACION TRADICIONAL DE CHICHA DE JORA». 16(3): 403-4.
- Galecio, Galo, y Cristian Haro. 2012. *BEBIDAS FERMENTADAS EN BASE A “MAÍZ NEGRO” ZEA MAYS L. POACEAE; CON EL ECO TIPO “RACIMO DE UVA” Y LA VARIEDAD “MISHCA” DE LA SERRANÍA ECUATORIANA*.
- García, Iris. 2023. *DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE UN PROCESO DE FERMENTACIÓN DE MAÍZ (Zea mays) GERMINADO PARA LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA CON CARACTERÍSTICAS PROBIÓTICAS*.

- Guachamin, Juan Carlos Chimbo. 2021. «Elaboración de Bebida Fermentada Tradicional de la Sierra Norte Ecuatoriana a base de maíz (Jora), utilizando métodos de conservación para incrementar su tiempo de vida útil.» *Nuevos sistemas de comunicación e información*: 2013-15.
- Guerra, Luis Santiago, Juan Manuel Cevallos-Cevallos, Stefan Weckx, y Jenny Ruales. 2022. «Traditional Fermented Foods from Ecuador: A Review with a Focus on Microbial Diversity». *Foods* 11(13).
- Guerra, Nancy. 2017. *Evaluación de características físicas de granos de maíz Carhuay (Zea mays Amylacea) por calentamiento microondas a diferentes tiempos y potencias*. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/12675/1/T-UCE-0004-39-2017.pdf>.
- Guerrero, Dante et al. 2012. «Diseño De Un Sistema De Producción Y Embotellado De Chicha De Jora». *Repositorio institucional PIRHUA*: 119. [https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/2347/PYT Informe Final DSPEC v1.pdf?sequence=1](https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/2347/PYT%20Informe%20Final%20DSPEC%20v1.pdf?sequence=1).
- Innovación, Tecnología. 2021. «1 er Simposio Ecuatoriano del Maíz».
- Kurtzman, Cletus P, y Christie J Robnett. 1998. 73 Antonie van Leeuwenhoek *Identification and phylogeny of ascomycetous yeasts from analysis of nuclear large subunit (26S) ribosomal DNA partial sequences*.
- Kurtzman, Cletus P., y Christie J. Robnett. 2015. «Occultifur kilbournensis f.a. sp. nov., a new member of the Cystobasidiales associated with maize (Zea mays) cultivation». *Antonie van Leeuwenhoek, International Journal of General and Molecular Microbiology* 107(5): 1323-29.
- L. Paliwal, Ripusudan. 2001. «EL MAÍZ EN LOS TRÓPICOS: Mejoramiento y producción». *Fao*: 392. <http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s00.htm>.
- Lluglla, Juan. 2020. *Desarrollo de una bebida a base de harina de caña de maíz (Zea mays) y salvado de arroz (Oryza sativa) con doble fermentación*.
- Lopez, Evelin. 2015. «Caracterización Físico - Química Y Microbiológica De Las Bebidas Fermentadas De La Provincia De Santo Domingo De Los Tsáchilas». : 128. http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5402/1/59994_1.pdf.

- López, Liz. 2016. «Curva de crecimiento bacteriano en la producción de proteínas recombinantes». *Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud Universidad Nacional de Asunción* I(Curva de crecimiento bacteriano): 8-15. https://goo.gl/ULrF6t%0Ahttps://www.conacyt.gov.py/sites/default/files/Transferencia_de_conocimientos_Liz_Lopez_2015.pdf.
- López, W., y M. Ramírez. 2010. «Diversidad de levaduras asociadas a chichas tradicionales de Colombia». *Rev. colomb. biotecnol* XII(2): 176-86.
- Maldonado, P. A. 2011. «Estudio de la gastronomía de la provincia de Imbabura». : 191.
- Martínez, Carlos, y Henry Paredes. 2019. «AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS FERMENTADORES DE DOS TIPOS DE BEBIDAS ANCESTRALES FERMENTADAS A PARTIR DE YUCA (*Manihot esculenta*)».
- Matallana, Emilia. 2019. *CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA Y TECNOLÓGICA DE*.
- Maturano, Paola, Eugenia Toro, Castellanos de Figueroa, Lucía Figueroa Lucía I, y Fabio Vázquez. 2009. *ESTUDIO CUALITATIVO DE ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS Y FENÓMENO KILLER EN LEVADURAS VÍNICAS*.
- De Melo Pereira, Gilberto Vinícius et al. 2022. «What Is Candida Doing in My Food? A Review and Safety Alert on Its Use as Starter Cultures in Fermented Foods». *Microorganisms* 10(9).
- de Melo Pereira, Gilberto Vinícius et al. 2022. «What Is Candida Doing in My Food? A Review and Safety Alert on Its Use as Starter Cultures in Fermented Foods». *Microorganisms* 10(9).
- MINAGRI. 2015. «Manual de Abonamiento con Guano de las Islas». *Manual de Abonamiento con Guano de las Islas* 3: 23-24. https://www.agrorural.gob.pe/wp-content/uploads/transparencia/dab/material/MANUAL_DE_ABONAMIENTO_CON_G.I..pdf.
- Montaño Arias, Noé Manuel, Ana Libia Sandoval Pérez, Sara Lucía Camargo Ricalde, y Juan Manuel Sánchez Yáñez. 2010. «Los microorganismos : pequeños gigantes.» *Revista Ciencia y cultura elementos* 77(0187-9073): 15-23. <https://www.redalyc.org/pdf/294/29411989003.pdf>.
- Ojeda, Ana, y Blanca Ubillús. 2015. «Formulación y obtención de champús deshidratado, a base de maíz (*Zea mays*) y harina de quinoa (*Chenopodium quinoa wild*)». (1).

<http://repositorio.unprg.edu.pe/bitstream/handle/UNPRG/159/BC-TES-3892.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

- Padilla, Beatriz, Jose V. Gil, y Paloma Manzanares. 2018. «Challenges of the non-conventional yeast *wickerhamomyces anomalus* in winemaking». *Fermentation* 4(3).
- Paredes Parra, Gabriela Anabel. 2019. «“El Packaging en la consolidación de identidad cultural de las bebidas ancestrales de la ciudad de Ambato”».
- Pomasqui, Karina. 2012. *ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE CIENCIAS TESIS DE GRADO PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO PRESENTADO POR.*
- Puerta, Quintero Gloria Inés. 2010. «FUNDAMENTOS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN EN EL BENEFICIO DEL CAFÉ». *Federeacion Nacional de Cafeteros de Colombia*: 12.
- Riquelme, Francisca. 2023. «Escrito Tesis Riquelme Francisca 2023».
- Shuña, Carlos. 2019. *Elaboración de chicha de maíz amarillo duro utilizando diferentes proporciones de levadura comercial (Saccharomyces cerevisiae) en Pucallpa - Ucayali.*
- Soria, M, B Bravo, E Cermeño, y A Ruiz. 2017. *2 ELABORACIÓN DE YOGURT A BASE DE SOYA ENRIQUECIDO CON QUINOA Y CAMOTE.*
- Suarez Ventura, Paul Sebastián. 2017. «Características organolépticas y determinación de parámetros físico-químicos de la chicha de jora preparada por método tradicional y muk'eado». *Universidad César Vallejo.*
- Torres, Francisco, Josué Romero, y María Fernanda Viteri. 2017. «Diversidad gastronómica y su aporte a la identidad cultural / Gastronomic diversity and its contribution to cultural identity». *Revista de Comunicación de la SEECI* 0(44): 1.
- Urango, Luz. 2014. «Componentes del maíz en la nutrición humana». *Algunos componentes generales, particulares y singulares del maíz en Colombia y México*: 185-209.
- Vásquez, J., M. Castrillon, y Z. Monsale. 2016. «Actualización en caracterización molecular de levaduras de interés industrial». *Revista Colombiana de Biotecnología* 18(2): 129.

- Velasco, Santiago. 2016. *UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA E INDUSTRIAS CARRERA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS CON CAPACIDAD FERMENTATIVA EN EL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA CHICHA DE UVA TRABAJO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO DE ALIMENTOS.*
- Vu, D. et al. 2016. «DNA barcoding analysis of more than 9 000 yeast isolates contributes to quantitative thresholds for yeast species and genera delimitation». *Studies in Mycology* 85: 91-105.
- Werner, Maik, y Doris Rauhut. 2009. «Buenas prácticas vitivinícolas ecológicas». *Viticultura y Enología* N° 12/2(2006): 1-3.
- Yanchapanta, Robert, y Nixol Sarango. 2019. *CINÉTICA DEL CRECIMIENTO DE MICROORGANISMOS DURANTE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE TRES BEBIDAS ANCESTRALES A PARTIR DE YUCA (Manihot esculenta).*
- Yáñez, Carlos., José. Zambrano, Marlon. Caicedo, y Jorge. Heredia. 2013. «Guía de producción de maíz para pequeños agricultores y agricultoras». (96): 24-32. <http://repositorio.iniap.gob.ec/handle/41000/2435>.
- Zulkifli, Noor Atiqah, y Latiffah Zakaria. 2017. «Morphological and Molecular Diversity of Aspergillus From Corn Grain Used as Livestock Feed». *HAYATI Journal of Biosciences* 24(1): 26-34.

VII. ANEXOS

Anexo 1. Acta de la sustentación de Predefensa del TIC



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI

FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE ALIMENTOS

ACTA

DE LA SUSTENTACIÓN ORAL DE LA PREDEFENSA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR



ESTUDIANTE:	NICOLE GEOVANNA MORALES PÉREZ	CÉDULA DE IDENTIDAD:	.0401832894
PERIODO ACADÉMICO:	2023A		
PRESIDENTE TRIBUNAL	MSC. MIGUEL ANGEL ANCHUNDIA LUCAS	DOCENTE TUTOR:	MSC. CARLOS ALBERTO RIVAS ROSERO
DOCENTE:	MSC. FREDDY GIOVANNY TORRES MAYANQUER		
TEMA DEL TIC: "Estandarización del proceso de elaboración del champús y tiempo de vida útil"			
No.	CATEGORÍA	Evaluación cuantitativa	OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES
1	PROBLEMA - OBJETIVOS	8,00	Corregir en base al objetivo general, haciendo énfasis en la estandarización del proceso de elaboración del champús.
2	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	9,00	
3	METODOLOGÍA	8,67	Revisar la operacionalización de las variables.
4	RESULTADOS	8,00	Colocar el diagrama de flujo de su propuesta, corregir resultados microbiológicos, evaluación sensorial, todos los resultados deben llevar análisis estadísticos.
5	DISCUSIÓN	8,00	Justificar la presencia de Candida tropicales en su bebida.
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	8,00	Revisar las conclusiones, la primera conclusión no hace referencia a ningún objetivo propuesto.
7	DEFENSA, ARGUMENTACIÓN Y VOCABULARIO PROFESIONAL	9,00	
8	FORMATO, ORGANIZACIÓN Y CALIDAD DE LA INFORMACIÓN	8,00	Revisar faltas ortográficas, revisar unidades que están en mayúscula, norma APA.

Obteniendo una nota de: **8,27** Por lo tanto, **APRUEBA** ; debiendo el o los investigadores acatar el siguiente artículo:

Art. 36.- De los estudiantes que aprueban el informe final del TIC con observaciones.- Los estudiantes tendrán el plazo de 10 días para proceder a corregir su informe final del TIC de conformidad a las observaciones y recomendaciones realizadas por los miembros del Tribunal de sustentación de la pre-defensa.

Para constancia del presente, firman en la ciudad de Tulcán el **miércoles, 19 de julio de 2023**


MSC. MIGUEL ANGEL ANCHUNDIA LUCAS
PRESIDENTE TRIBUNAL


MSC. FREDDY GIOVANNY TORRES MAYANQUER
DOCENTE


MSC. CARLOS ALBERTO RIVAS ROSERO
DOCENTE TUTOR



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE ALIMENTOS

ACTA


DE LA SUSTENTACIÓN ORAL DE LA PREDEFENSA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

ESTUDIANTE:	FÁTIMA MAGALY PERALTA MÉNDEZ	CÉDULA DE IDENTIDAD:	.0401832894
PERIODO ACADÉMICO:	2023A		
PRESIDENTE TRIBUNAL	MSC. MIGUEL ANGEL ANCHUNDIA LUCAS	DOCENTE TUTOR:	MSC. CARLOS ALBERTO RIVAS ROSERO
DOCENTE:	MSC. FREDDY GIOVANNY TORRES MAYANQUER		
TEMA DEL TIC:	"Estandarización del proceso de elaboración del champús y tiempo de vida útil"		
No.	CATEGORÍA	Evaluación cuantitativa	OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES
1	PROBLEMA - OBJETIVOS	8,00	Corregir en base al objetivo general, haciendo énfasis en la estandarización del proceso de elaboración del champús.
2	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	9,00	
3	METODOLOGÍA	8,67	Revisar la operacionalización de las variables.
4	RESULTADOS	8,00	Colocar el diagrama de flujo de su propuesta, corregir resultados microbiológicos, evaluación sensorial, todos los resultados deben llevar análisis estadísticos
5	DISCUSIÓN	8,00	Justificar la presencia de Candida tropicales en su bebida.
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	8,00	Revisar las conclusiones, la primera conclusión no hace referencia a ningún objetivo propuesto.
7	DEFENSA, ARGUMENTACIÓN Y VOCABULARIO PROFESIONAL	9,00	
8	FORMATO, ORGANIZACIÓN Y CALIDAD DE LA INFORMACIÓN	8,00	Revisar faltas ortográficas, revisar unidades que están en mayúscula, norma APA.

Obteniendo una nota de: **8,27** Por lo tanto, **APRUEBA** : debiendo el o los investigadores acatar el siguiente artículo:

Art. 36.- De los estudiantes que aprueban el informe final del TIC con observaciones.- Los estudiantes tendrán el plazo de 10 días para proceder a corregir su informe final del TIC de conformidad a las observaciones y recomendaciones realizadas por los miembros del Tribunal de sustentación de la pre-defensa.

Para constancia del presente, firman en la ciudad de Tulcán el **miércoles, 19 de julio de 2023**


MSC. MIGUEL ANGEL ANCHUNDIA LUCAS
PRESIDENTE TRIBUNAL


MSC. CARLOS ALBERTO RIVAS ROSERO
DOCENTE TUTOR


MSC. FREDDY GIOVANNY TORRES MAYANQUER
DOCENTE

Anexo 2. Certificado del abstract por parte de idiomas



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI
FOREIGN AND NATIVE LANGUAGE CENTER**

ABSTRACT- EVALUATION SHEET				
NAME: Morales Pérez Nicole Geovanna y Peralta Méndez Fátima Magaly				
DATE: 26 de julio de 2023				
TOPIC: "Estandarización del proceso de elaboración del champús y tiempo de vida útil "				
MARKS AWARDED		QUANTITATIVE AND QUALITATIVE		
VOCABULARY AND WORD USE	Use new learnt vocabulary and precise words related to the topic	Use a little new vocabulary and some appropriate words related to the topic	Use basic vocabulary and simplistic words related to the topic	Limited vocabulary and inadequate words related to the topic
	EXCELLENT: 2 <input checked="" type="checkbox"/>	GOOD: 1 Vera Játiva Edwin Andrés,5 <input type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
WRITING COHESION	Clear and logical progression of ideas and supporting paragraphs.	Adequate progression of ideas and supporting paragraphs.	Some progression of ideas and supporting paragraphs.	Inadequate ideas and supporting paragraphs.
	EXCELLENT: 2 <input checked="" type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
ARGUMENT	The message has been communicated very well and identify the type of text	The message has been communicated appropriately and identify the type of text	Some of the message has been communicated and the type of text is little confusing	The message hasn't been communicated and the type of text is inadequate
	EXCELLENT: 2 <input checked="" type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
CREATIVITY	Outstanding flow of ideas and events	Good flow of ideas and events	Average flow of ideas and events	Poor flow of ideas and events
	EXCELLENT: 2 <input type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input checked="" type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
SCIENTIFIC SUSTAINABILITY	Reasonable, specific and supportable opinion or thesis statement	Minor errors when supporting the thesis statement	Some errors when supporting the thesis statement	Lots of errors when supporting the thesis statement
	EXCELLENT: 2 <input type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input checked="" type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
TOTAL/AVERAGE	9 - 10: EXCELLENT 7 - 8,9: GOOD 5 - 6,9: AVERAGE 0 - 4,9: LIMITED	TOTAL 9,5		



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL
CARCHI FOREIGN AND NATIVE LANGUAGE
CENTER**

Informe sobre el Abstract de Artículo Científico o Investigación.

Autor: Morales Pérez Nicole Geovanna y Peralta Méndez Fátima Magaly

Fecha de recepción del abstract: 25 de julio de 2023

Fecha de entrega del informe: 26 de julio de 2023

El presente informe validará la traducción del idioma español al inglés si alcanza un porcentaje de: 9 – 10 Excelente.

Si la traducción no está dentro de los parámetros de 9 – 10, el autor deberá realizar las observaciones presentadas en el ABSTRACT, para su posterior presentación y aprobación.

Observaciones:

Después de realizar la revisión del presente abstract, éste presenta una apropiada traducción sobre el tema planteado en el idioma Inglés. Según los rubrics de evaluación de la traducción en Inglés, ésta alcanza un valor de 9 por lo cual se valida dicho trabajo.

Atentamente



Firmado digitalmente por:
EDISON BOANERGES
PENAFIEL ARCOS

Ing. Edison Peñafiel Arcos MSc
Coordinador del CIDEN

Anexo 3. Informe anti plagio

Tesis Nicole y Fatima

INFORME DE ORIGINALIDAD

9%

INDICE DE SIMILITUD

10%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.utc.edu.ec Fuente de Internet	3%
2	www.scielo.org.co Fuente de Internet	1%
3	dspace.esPOCH.edu.ec Fuente de Internet	1%
4	vdocuments.es Fuente de Internet	1%
5	Submitted to Instituto Politecnico Nacional Trabajo del estudiante	1%
6	docplayer.es Fuente de Internet	1%
7	repositorio.ucv.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	repositorio.upec.edu.ec Fuente de Internet	1%
9	repositorio.minagri.gob.pe Fuente de Internet	<1%

10

revistas.unal.edu.co
Fuente de Internet

<1%

Excluir citas Activo
Excluir bibliografía Activo

Excluir coincidencias < 75 words

Anexo 4. Aplicación de la encuesta



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES.

CARRERA DE ALIMENTOS

HOJA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

Fecha: _____ Edad: _____ Género: M F

Hoja de cata para la evaluación sensorial de aceptabilidad:

Tema: "Estandarización del proceso de elaboración del champús y tiempo de vida útil."

Instrucciones

- Enjuague su paladar con agua antes y después de evaluar cada muestra.
- Califique el nivel de aceptación de cada atributo (Color, aroma, sabor y textura) mediante una escala hedónica de 5 puntos.
- Realice la catación de las muestras en orden secuencial

Tabla 1. Escala de valores para aceptabilidad.

Escala	Aceptabilidad
1	Me disgusta mucho
2	Me disgusta
3	Ni me gusta ni me disgusta
4	Me gusta
5	Me gusta mucho

Tabla 2. Atributos de los tratamientos de elaboración del champús

Atributo	Muestras		
	778	762	522
Color			
Aroma			
Sabor			
Textura			

Recomendaciones:

Gracias por su colaboración.

Anexo 5. Proceso de la fermentación del maíz molido para la elaboración del champús



Figura 20. Pesado del maíz



Figura 21. Molienda del maíz



Figura 22. Proceso de fermentación a diferentes porcentajes



Figura 23. Crecimiento de microorganismos en el maíz fermentado



Figura 24. Inoculación de la muestra madre

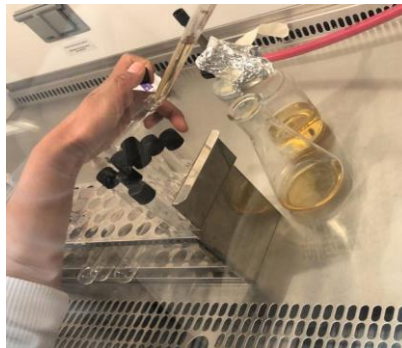


Figura 25. Análisis microbiológico



Figura 26. Recuento de mohos y levaduras



Figura 27. Medición de pH



Figura 28. Medición de brix



Figura 29. Medición de viscosidad



Figura 30. Medición de proteína