



REPÚBLICA DEL ECUADOR

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

**PROYECTO DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO PREVIO A LA OBTENCIÓN
DEL TÍTULO DE:**

MAGÍSTER EN QUÍMICA APLICADA

TEMA:

**Aprovechamiento del mucílago de *Theobroma cacao* var. CCN51 y nacional en
la elaboración de una bebida alcohólica utilizando dos tipos de levaduras y
nutrientes**

Autor:

JOSÉ MANUEL AVECILLAS GUZMÁN

Director:

GUSTAVO ELÍAS MARTÍNEZ VALENZUELA

Milagro, 2023

INFORME DEL TUTOR

Milagro, 12 de marzo de 2023

Sr. Ing.
Eduardo Espinoza S., PhD.
Director de Posgrados

De mis consideraciones

Por medio de la presente certifico haber acompañado en el desarrollo del trabajo de Titulación en calidad de **profesor tutor**, al maestrante **JOSÉ MANUEL AVECILLAS GUZMÁN**, con el tema: **“Aprovechamiento del mucílago de Theobroma cacao var. CCN51 y nacional en la elaboración de una bebida alcohólica utilizando dos tipos de levaduras y nutrientes.”** En el cual se realizaron ocho tutorías, las mismas que se encuentran registradas en el Sistema de Gestión Académica.

Además, notifico que el Trabajo de Titulación cumple con los parámetros de calidad y forma requeridos por el programa de maestría en **QUÍMICA APLICADA**, cumpliendo con el porcentaje de originalidad del **0,1%**.

Pongo de manifiesto que autorizo la entrega del documento desarrollado a los entes pertinentes para proceder a la revisión y posterior defensa del Trabajo de Titulación presentado por el maestrante.

Atentamente,



Firmado electrónicamente por:
0922079595
GUSTAVO ELIAS
MARTINEZ
VALENZUELA

Blgo. GUSTAVO MARTÍNEZ VALENZUELA, PhD.
C.I. 0922079595

Declaración de autoría de la investigación

El / la autor/a de esta investigación declara ante el Comité Académico del Programa de Maestría en Gerencia Educativa de la Universidad Estatal de Milagro, que el trabajo presentado de mi propia autoría, no contiene material escrito por otra persona, salvo el que está referenciado debidamente en el texto; parte del presente documento o en su totalidad no ha sido aceptado para el otorgamiento de cualquier otro Título de una institución nacional o extranjera.

Milagro, 1 de abril del 2023



Firmado electrónicamente por:
JOSE MANUEL
AVECILLAS
GUZMAN

FIRMA

C.I. 0923703441

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
DIRECCIÓN DE POSGRADO
CERTIFICACIÓN DE LA DEFENSA

El TRIBUNAL CALIFICADOR previo a la obtención del título de **MAGÍSTER EN QUÍMICA APLICADA**, presentado por **Q.F. AVECILLAS GUZMAN JOSE MANUEL**, otorga al presente proyecto de investigación denominado "APROVECHAMIENTO DEL MUCÍLAGO DE THEOBROMA CACAO VAR. CCN51 Y NACIONAL EN LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA UTILIZANDO DOS TIPOS DE LEVADURAS Y NUTRIENTES", las siguientes calificaciones:

TRABAJO DE TITULACION	60.00
DEFENSA ORAL	38.33
PROMEDIO	98.33
EQUIVALENTE	Excelente



Firmado electrónicamente por:

**JOSE
FRANCISCO
FALCONI
NOVILLO**

**FALCONI NOVILLO JOSE FRANCISCO
PRESIDENTE/A DEL TRIBUNAL**



Firmado electrónicamente por:
**CARMEN SAGRARIO
HERNANDEZ DOMINGUEZ**

**Dr. HERNANDEZ DOMINGUEZ CARMEN SAGRARIO
VOCAL**



Firmado electrónicamente por:
**DENNY WILLIAM
MORENO CASTRO**

**Mgs MORENO CASTRO DENNY WILLIAM
SECRETARIO/A DEL TRIBUNAL**

DEDICATORIA

Dedico este proyecto de investigación a Dios y a todas las personas que han participado en el mismo para que tenga buena viabilidad.

También dedico mi tesis a mis padres, mi pareja y mis seres queridos.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco principalmente a mi tutor por la guía brindada para el desarrollo de esta investigación, también al colegio San Antonio por permitirme sus instalaciones para realizar los análisis respectivos y a todos por cuanto aportaron para el desarrollo de este trabajo.

Cesión de derechos de autor

Sr. Dr.
Jorge Fabricio Guevara Viejó
Rector de la Universidad Estatal de Milagro

Presente.

Mediante el presente documento, libre y voluntariamente procedo a hacer entrega de la Cesión de Derecho del Autor del Trabajo realizado como requisito previo para la obtención de mi Título de Cuarto Nivel, cuyo tema fue Estrategias Motivacionales y su Influencia en el Proceso de Aprendizaje, y que corresponde al Vicerrectorado de Investigación y Posgrado.

Milagro, 12 de marzo del 2023



Firmado electrónicamente por:
**JOSE MANUEL
AVECILLAS
GUZMAN**

FIRMA

C.I. 0923703441

Índice / Sumario

Autorización del tutor	ii
Declaración de autoría	iii
Aprobación del tribunal calificador.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimientos	vi
Lista de Figuras	xiii
Lista de Tablas	xiv
Resumen.....	xv
Abstract.....	xvi
Introducción	1
Capítulo I: El problema de la investigación.....	3
1.1. Planteamiento del problema.....	3
1.2. Delimitación del problema	3
1.3. Formulación del problema.....	4
1.4. Objetivo general.....	4
1.5. Objetivos específicos	4
1.6. Hipótesis	5
1.7. Justificación	5
CAPÍTULO II: Marco teórico referencial	6
2.1. Antecedentes	6

2.2. Contenido teórico.....	8
2.2.1. Bioquímica del cacao.....	8
2.2.2. Mucílago de cacao.....	9
2.2.3. Fermentación de cacao	12
2.2.4. Fermentación del vino.....	14
2.2.5. Condiciones para la fermentación.....	15
2.2.5.1. Temperatura	17
2.2.5.2. Aireación.....	17
2.2.5.3. PH.....	18
2.2.5.4. Nutrientes y activadores	18
2.2.6. Utilización de levaduras en la fermentación.....	18
2.2.7. Sustancias en el proceso de vinificación.....	21
2.2.7.1. Bicarbonato de sodio	21
2.2.7.2. Metabisulfito de potasio	21
2.2.8. Análisis organoléptico del vino.....	22
2.2.8.1. Color	23
2.2.8.2. Sabor.....	23
2.2.8.3. El aroma	23
CAPÍTULO III: Diseño metodológico	24
3.1. Tipo y diseño de investigación	24
3.1.1. Tipo de investigación	24

3.1.2. Localización de la investigación	24
3.1.3. Diseño del experimento	25
3.1.3.1. Análisis de laboratorio	25
3.1.3.2. Análisis organolépticos	26
3.1.3.3. Diseño experimental	26
3.1.3.4. Esquema del experimento	26
3.2. La población y la muestra	28
3.2.1. Características de la población	28
3.2.2. Tipo y tamaño de muestra	28
3.3. Materiales, equipos y reactivos	28
3.3.1. Materia prima	28
3.3.2. Materiales	28
3.3.3. Equipos	28
3.3.4. Reactivos	29
3.3.4.1. Reactivos biológicos	29
3.3.4.2. Reactivos químicos	29
3.4. Los métodos y las técnicas	29
3.4.1. Recolección de la muestra	29
3.4.2. Pasteurización de la muestra	29
3.4.3. Formulación	29
3.4.4. Fermentación del mucílago	32

3.4.5. Clarificado.....	32
3.4.6. Filtrado y envasado.....	32
3.4.7. Determinación del pH	33
3.4.8. Determinación de los grados Brix	33
3.4.9. Determinación de los grados de Alcohol.....	33
3.4.10. Determinación de acidez	33
3.4.11. Determinación del perfil de azúcares mediante HPLC	33
3.4.12. Determinación de las condiciones organolépticas	34
3.5. Análisis estadístico.....	35
CAPÍTULO IV: Análisis y discusión de resultados.....	37
4.1. Diagnóstico inicial de los mucílagos.....	37
4.2. Análisis fisicoquímico	38
4.2.1 Potencial de Hidrogeno (pH)	38
4.2.2 Concentración de grados Brix.....	38
4.2.3 Concentración de Grados Alcohólicos	39
4.2.4 Factor del Tiempo en el PH	40
4.2.5 Factor Tiempo en los grados alcohólicos.....	41
4.2.6 Factor Tiempo en los grados brix.....	42
4.2.7. Análisis sensorial	43
4.2.7.1. OLOR	44
4.2.7.1. A Bebida alcohólica.....	44

4.2.7.2. A Cacao	44
4.2.7.2. COLOR.....	45
4.2.7.2.1. Café	45
4.2.7.3. APARIENCIA.....	46
4.2.7.3.1. Turbidez.....	46
4.2.7.4. SABOR.....	46
4.2.7.4.1. A bebida alcohólica	46
4.2.7.4.2 A cacao	46
4.2.7.5. Textura	47
4.2.7.5.1. Viscosa	47
4.2.7.5.2 Babosidad	47
4.2.7.6. Gusto.....	48
4.2.7.6.1. Dulce.....	48
4.2.7.6.2. Amargura	48
CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones	49
5.1. Conclusiones	49
5.2. Recomendaciones	50
Bibliografía.....	51
Anexos.....	56

Lista de Figuras

Figura 1: Mucílago de cacao.....	10
Figura 2: Proceso de vinificación	15
Figura 3: Reacción química de la fermentación alcohólica	16
Figura 4: Estructura microscópica de <i>Sacharomyces Cerevisiae</i>	19
Figura 5: Proceso de catación del chocolate	22
Figura 6: Proceso de catación del chocolate	31

Lista de Tablas

Tabla 1: Composición bioquímica del cacao	8
Tabla 2: Composición bioquímica del cacao	8
Tabla 3: Parámetros del mucílago de cacao.....	11
Tabla 4: Condiciones adecuadas para la fermentación	15
Tabla 5: Localización de la investigación.....	24
Tabla 6: Diseño del experimento	25
Tabla 7: Esquema del experimento.....	27
Tabla 8: Formulación	30
Tabla 9: Determinación de las condiciones organolépticas	34
Tabla 10: Análisis estadístico	36
Tabla 11: Parámetros fisicoquímicos de la bebida alcohólica	37
Tabla 12: Diagnóstico inicial de mucílagos.....	37
Tabla 13: Factor del Tiempo en el pH	40
Tabla 14: Factor Tiempo en los grados alcohólicos	41
Tabla 15: Factor Tiempo en los grados brix	42
Tabla 16: Análisis sensorial	43

Resumen

Se realizó un estudio experimental de corte longitudinal con el objetivo de elaborar bebidas alcohólicas a partir del mucílago de *Theobroma cacao* var. CCN51 y nacional mediante fermentación alcohólica y su correlación con factores de calidad como el pH, grados brix y grados alcohólicos en muestras de mucílago de 2 regiones de la provincia del Guayas. Se utilizó un diseño experimental con 8 tratamientos distintos donde las variables fueron el tipo de cacao, tipo de levadura y tipo de nutriente, se analizaron parámetros fisicoquímicos de calidad a la materia prima como pH, grados brix, acidez titulable y perfil de azúcares, mientras que a las bebidas alcohólicas se analizó el pH, grados brix, grados de alcohol y la influencia del tiempo de la fermentación en estos parámetros. Además, se realizó un análisis organoléptico (n=10) donde se obtenía información sensorial del olor, sabor, textura y apariencia de los tratamientos. El análisis estadístico en los parámetros de calidad fue mediado por ANOVA mediante la prueba de Tukey ($p < 0,05$), mientras que el análisis sensorial se trató mediante la prueba de Kruskal-Wallis. Los resultados más relevantes fueron la diferencia de azúcares entre el cacao nacional y CCN51 que permitió diferencias en los grados brix, grados alcohólicos y en la percepción de los catadores en el análisis sensorial, también fue relevante la diferencia que hubo entre los tipos de levaduras experimentadas.

Palabras clave: *Theobroma cacao*, Bebidas alcohólicas, producción, mucílago

Abstract

A longitudinal experimental study was carried out with the aim of producing alcoholic beverages from *Theobroma cacao* var. CCN51 and national through alcoholic fermentation and its correlation with quality factors such as pH, brix degrees and alcoholic degrees in mucilage samples from 2 regions of the Guayas province. An experimental design was produced with 8 different treatments where the variables were the type of cocoa, type of yeast and type of nutrient, physicochemical quality parameters of the raw material such as pH, brix degrees, titratable acidity and sugar profile were analyzed, while that alcoholic beverages were analyzed for pH, brix degrees, alcohol degrees and the influence of fermentation time on these parameters, in addition an organoleptic analysis was performed (n=10) where sensory information on smell, flavor, taste was obtained, texture and appearance of the treatments. Statistical analysis on quality parameters was mediated by ANOVA using the 5% Tukey test, while sensory analysis was treated using the Kruskal-Wallis test. The most relevant results were the difference in sugars between the national cocoa and CCN51, which found differences in the brix degrees, alcoholic degrees and in the perception of the tasters in the sensory analysis, the difference between the types of yeasts experimented was also relevant. In conclusion, all the treatments complied with the quality parameters, it was possible to find differences between the analyzed trials, a production solution was given for an agricultural design such as cocoa mucilage and in general the tasters indicated that the alcoholic beverages of more agrado were those made by cacao CCN51.

Keywords: *Theobroma cacao*, alcoholic beverages, production, mucilage

Introducción

El cacao es uno de los productos agrícolas ecuatorianos más importantes a nivel nacional, haciendo a la nación como el país más competitivo de América Latina. La Organización Internacional del Cacao (ICCO) por sus siglas en inglés estableció que Ecuador representa el 7% de la producción mundial de cacao. (Fernández et al, 2021)

ANECACAO es la Asociación Nacional de Exportadores de Cacao la misma que ha sondeado a nivel nacional el comportamiento de la producción del cacao en el que se determinó que el 70% de la oferta son pequeños productores, el 20% producción mediana y solo el 10% lo generan grandes productores. El estudio de Lema (2021) relaciona las exportaciones de cacao CCN51 con el PIB del país estableciendo que estas exportaciones generan un impacto importante en la economía del Ecuador.

Según datos del INEC (Instituto Nacional de Estadísticas y Censos) indica que en 2019 existían 601.954 hectáreas de sembríos de cacao, de los cuales casi su totalidad van a entidades de exportación. (INEC, 2020)

En el proceso de cosecha del cacao, existen varios pasos, uno de ellos es quitar la mazorca para obtener el grano de cacao que posteriormente se desecará, como se puede ver, todo el proceso posterior va en función del grano del cacao desperdiciando de esta forma elementos como la corteza de la mazorca y el mucílago.

Así como existe gran producción de cacao en el país, lo hay en desechos, por lo que se busca generar una solución para aprovechar estos desechos y convertirlos en productos funcionales para la población.

En el primer capítulo se planteará la problemática sobre el aprovechamiento de los residuos de cacao para elaborar subproductos, se determinarán los objetivos de la investigación cuyo objetivo principal es elaborar bebidas alcohólicas a partir del mucílago de *Theobroma cacao* var. CCN51 y nacional mediante fermentación alcohólica, además de justificar la importancia de esta investigación.

En el capítulo 2 se establecen las bases teóricas de la investigación, los apartados más importantes son la bioquímica del cacao y el mucílago, la fermentación alcohólica, los parámetros necesarios para el control de fermentación, las sustancias necesarias para la elaboración de vino y su efecto, las características del análisis organoléptico, entre otros.

En el capítulo 3 se destaca la metodología aplicada en la investigación, se delimita el área geográfica, el tamaño de la muestra, el tipo de muestra, los procedimientos llevados a cabo como la determinación de los parámetros fisicoquímicos (pH, grados brix, grados alcohólicos) perfil de azúcares, el procedimiento del análisis sensorial y el propio diseño de la investigación.

En el cuarto capítulo se relatan los resultados de la investigación desde los parámetros fisicoquímicos de los mucílagos de cacao CCN51 y nacional, los resultados de los parámetros fisicoquímicos de los tratamientos experimentados, la influencia del tiempo en estos factores y los resultados del análisis sensorial.

Por último, en el capítulo 5 se enlistan las conclusiones y recomendaciones fruto del desarrollo de esta investigación y en concordancia con los objetivos planteados.

Capítulo I: El problema de la investigación

1.1. Planteamiento del problema

En la actualidad, los procesos agrícolas e industriales utilizan principalmente la semilla de cacao, lo que genera un gran desperdicio de la fruta restante (90%), lo que genera un problema ambiental. El mucílago de semilla de cacao, también llamado pulpa o saliva, es parte de los desechos que podrían ser aprovechados por los productores de cacao y dinamizar su economía (Romero, 2003).

Por lo tanto, actualmente se están realizando investigaciones en Ecuador con el objetivo de traer costos adicionales al proceso de producción de chocolate y una ventaja económica para el productor mediante la explotación de las propiedades del exceso de limo. Este excedente ya ha sido utilizado en diferentes áreas como Brasil, Malasia, Cuba, Ghana y Costa Rica para producir mermelada, alcohol, vinagre, crema y pulpa procesada, entre otros (Pacheco, 2020).

A través de esta investigación se pretende realizar bebidas alcohólicas a partir de la recolección de los residuos resultantes de la fermentación espontánea del cacao, en particular el exudado del mucílago, que surge en gran parte durante todo el proceso de sustracción. de la almendra fresca. Aunque se necesita el limo para la fermentación, por lo general hay mucho más que lo esencial. Por esta razón hemos tratado de utilizar este líquido para reducir el impacto ambiental y como un costo adicional para contribuir a la productividad de la industria del cacao (Escobar et al, 2021).

1.2. Delimitación del problema

Ecuador actualmente es uno de los mayores exportadores de la región, sin embargo, exporta para que otros países procesen la materia prima y vendan productos procesados, lo mismo sucede con el cacao. Entonces, porque no optimizar todos los recursos que da el cacao y sacarles provecho en la elaboración de subproductos de cacao que tengan un potencial comercial y pueda producirse en pequeña y gran escala como la elaboración de bebidas alcohólicas a base de cacao.

En Ecuador existen a gran cantidad 2 variedades de cacao, la CCN51 y el cacao nacional o fino de aroma y aunque las dos plantas son cacao, la composición entre las dos varía notablemente por lo que se pueden generar diferencias notables en sus productos elaborados.

La presente investigación se desarrollará en dos fincas de la provincia del Guayas, la finca "Avecillas" y la finca "3 hermanos" ubicados en las parroquias de Mariscal Sucre y Taura respectivamente, los ensayos fisicoquímicos se desarrollaron en el laboratorio de la Unidad Educativa Franciscana "San Antonio" y los ensayos externos fueron desarrollados en Laboratorios AVVE del Ecuador. El análisis sensorial se llevará a cabo con personas residentes de la ciudad de Milagro.

1.3. Formulación del problema

¿Se podrá aprovechar el mucílago de *Theobroma cacao* en la elaboración de una bebida alcohólica que sea sensorialmente aceptable por el consumidor y que cumpla con los requisitos técnicos establecidos en la norma legal vigente?

1.4. Objetivo general

Evaluar la influencia de dos tipos de levaduras y nutrientes en la elaboración de una bebida alcohólica aprovechando el mucílago de *Theobroma cacao* var. CCN51 y nacional.

1.5. Objetivos específicos

1. Caracterizar el mucílago del cacao var. CCN51 y nacional mediante parámetros fisicoquímicos (PH, acidez titulable, grados brix, contenido de azúcares)
2. Analizar la calidad fisicoquímica (PH, grados brix y grados alcohólicos) del mosto durante la fermentación, para cada uno de los tratamientos establecidos.
3. Determinar el tratamiento de mayor aceptación sensorial en base a un criterio hedónico mediante un panel de jueces no entrenados.

1.6. Hipótesis

Al menos uno de los tratamientos planteados en la elaboración de la bebida alcohólica de mucílago de cacao tendrá una buena aceptación sensorial (color, olor, sabor, textura) por parte del panel de jueces.

1.7. Justificación

El objetivo de esta investigación es aprovechar el mucílago de cacao (baba o exudado de cacao), sin contaminar el medio ambiente y, por ende, darle valor agregado a dicho desperdicio. Con la obtención de una bebida alcohólica, a partir de un subproducto derivado del cacao, brindará una nueva alternativa de comercialización y generará ingresos económicos a los productores, aportando mayor ingreso a las familias dedicadas a la producción de cacao y la generación de empleo en la zona. Por lo tanto, con ello se contribuiría al desarrollo cacaotero, ya que la sociedad podría potenciar su imagen como una organización ambientalmente responsable, que hace uso adecuado de sus recursos y trabaja en la reducción del impacto ambiental (Linares, 2008).

La economía circular es un concepto que cada día cobra más sentido y la química aplicada ayuda a hacerlo realidad, el transformar materia que usualmente se la trata como desecho o como un residuo sin ningún fin en un producto que pueda generar algo más de ingresos es una alternativa muy atractiva y rentable.

Ecuador es uno de los países líderes en exportación de cacao a nivel mundial, esto implica que existen una gran cantidad de sembríos de cacao en el país, además generalmente la cosecha de cacao se la realiza semanal o quincenalmente, por lo que en todo ese tiempo se está derrochando cientos de miles de litros de mucílago de cacao a la semana, ese mismo residuo que se desecha se podría convertir en una bebida alcohólica como vino para obtener una ganancia extra.

1.8. Alcance y limitaciones

1.8.1. Alcance

Se analizará la materia prima (mucílago de cacao) tanto de la variedad CCN51 como del Nacional.

Se realizarán tratamientos específicos con variables en el tipo de cacao, tipo de levadura y tipo de nutrientes para determinar la mejor bebida alcohólica.

Se realizará un análisis sensorial mediante la técnica hedónica para evaluar las características organolépticas de los tratamientos y definir el mejor.

Se dará una solución a la problemática mediante el aprovechamiento del mucílago del cacao en la elaboración de bebidas alcohólicas.

1.8.2. Limitaciones

La investigación se enfocará únicamente en los mucílagos de cacao de los sectores antes mencionados, la misma también está limitada a las variables definidas con respecto a tipos de cacao CCN51 y Nacional, tipos de levadura FERMIVIN 7013 y FERMIVIN 4F9 y tipos de nutrientes Fermaid K y Maxaferm.

CAPÍTULO II: Marco teórico referencial

2.1. Antecedentes

Una publicación de Goya (2013) obtuvo una bebida alcohólica a partir del mucílago del cacao mediante fermentación anaerobia en diferentes tiempos de inoculación, en el que pudo determinar las características fisicoquímicas del mucílago del cacao, valorar las características fisicoquímicas y organolépticas de la bebida alcohólica obtenida y efectuar el análisis económico mediante la relación beneficio/costo.

Él utilizó un modelo trifactorial cuyas variables eran el tiempo de fermentación, cantidad de metabisulfito potásico y porcentajes de levadura usados, se realizaron 12 tratamientos de los cuales se analizaron factores fisicoquímicos como pH, acidez, grados brix, grados alcohólicos. El pH menor lo obtuvo T1 (4.10), el mayor tratamiento para grados brix fue T9 (9.00) mientras que el tratamiento con mayor grado alcohólico fue T12 (15.15).

Según Paz (2012) durante la fermentación el mucílago o pulpa se descompone en sustancias líquidas. Los carbohidratos de la pulpa se convierten primero en alcohol y luego en ácido acético. Una porción significativa de la pulpa se drena como exudado. La concentración de alcohol en el lixiviado es de aproximadamente 2-3 % y la concentración de ácido acético es de 2,5 %. El exudado tiene un contenido de materia seca total de aproximadamente un 8% y un contenido de proteína bruta de aproximadamente un 20%.

En el artículo de Quimbita y Rodríguez (2003) se determinaron las mejores condiciones de operación para la producción de néctar y bebida alcohólica a partir de los residuos que se obtienen en la extracción de los granos de cacao en términos de caracterización y estabilización de los productos obtenidos. Para el subproducto del vino se realizaron 9 tratamientos de los cuales los mejores dispuestos por análisis sensorial fueron el que contenía dilución 1:1 a 26°Brix y pH de 3.6, también la dilución 1:2 a 26°Brix y pH de 3.4 y por último, la dilución 1:3 a 26°Brix y pH de 3.6

La tesis de Rojas-Sosa y Rojas-Manayay (2017) describe la biotransformación de mucílago de cacao para la obtención de una bebida no alcohólica en el cual, el 72% de su procesamiento estuvo en la utilización de la cáscara, de esta manera pudieron aprovechar esa parte generalmente ineficiente del cacao. En el que se pudo obtener la fórmula más adecuada con 0,1 % de estabilizante, 11,5° Brix, en una dilución de 1:2, la misma obtuvo un puntaje de aceptación de 7,5/9 en el análisis organoléptico. Esta bebida presentó los siguientes parámetros: 94,71% en humedad, 0,08% en proteínas totales, 0,028% en grasas, 4,95% en carbohidratos, 0,05 % de fibra, 0,23% en cenizas, un pH de 3,95, la acidez titulable en un 0,31%, grados brix a 13,4% y sólidos totales 5,34%.

Oliverio et al, (2021) evaluó el efecto de la maceración de residuos de almendras de cacao nacional en alcohol etílico rectificado para la obtención de licor añejo, haciendo que las almendras que no pasan por el control de calidad para la exportación no se pierdan y se obtenga un producto a partir de ese rechazo. En su investigación obtuvo un licor sin alcoholes superiores ni furfural, mientras que la cantidad de aldehídos, ésteres y metanol fueron acorde a la normativa INEN 1837. El tratamiento más preferente fue el T2 cuyos parámetros fueron cacao nacional tostado 500 g en 4 L de alcohol rectificado y con dilución hasta alcanzar los 24,6°GL y 6,22 °Brix.

Por otro lado, Rey (2018) elaboró vino a partir de desechos del cacao, el mismo que fue muy aceptado por la población catadora. El vino que se produjo fue de 14° Brix y todos sus parámetros cumplían dentro de la norma INEN 341 aplicado para su determinación de la calidad.

Vera, Cedeño y Mera (2020) elaboraron vinagre de vino a partir del mucílago y exudado de cacao criollo para convertir las grandes cantidades de residuos de las cosechas de cacao en un producto con grandes salidas comerciales mediante diferentes métodos que dan solución en contribuir de forma positiva con el medio ambiente. En esta investigación los autores identifican la existencia de una fermentación de origen natural adaptada al mucílago, esto se genera gracias a las levaduras propias del medio, así mismo los parámetros físicos y químicos y las condiciones que limitan su crecimiento.

2.2. Contenido teórico

2.2.1. El cacao

El cacao es un fruto de origen tropical, obtenido del árbol del cacao, conocido científicamente como *Theobroma cacao*, que en griego significa "alimento de los dioses". El cacao es un árbol originario de las Américas, que da el fruto del mismo nombre, que puede ser utilizado como materia prima para la elaboración de productos alimenticios, incluido el chocolate. Su uso se remonta a la época de los mayas, aztecas e incas, y desde entonces se ha utilizado tanto en la alimentación como en la medicina.

- ✓ El árbol del cacao tiene las siguientes características:
- ✓ Altura de 4 a 8 m.
- ✓ Su fruto es una baya oblonga que contiene de 30 a 40 semillas en el interior, de color marrón rojizo en el exterior y cubierto de una pulpa blanca dulce y comestible.
- ✓ Su hábitat natural son las selvas tropicales subtropicales (1, 6)
- ✓ Después de 5 a 6 años dará el primer fruto, 6 meses después de la maduración.

El alcance de la producción de cacao depende de las condiciones ecológicas del área de cultivo. Necesita la temperatura y la humedad adecuadas para crecer y, a menudo, necesita árboles de hoja caduca u otros árboles de "sombra" para protegerse del sol. Se les llama la "madre del cacao".

2.2.2. Tipos de cacao

Cacao CCN-51: Variedad de alto rendimiento, resistente a enfermedades, cultivada para la producción de chocolate de calidad comercial. Algunos productores que se encuentran en áreas dañadas por escobas de brujas están sujetos a estas características debido a su igualdad comercial.

Cacao delicado o nacional: se caracterizan por una multitud de aromas que combinan notas frutales, florales, herbales y amaderadas con una base de chocolate fuerte y equilibrada.

Cacao Criollo: Este es el cacao que comían los mayas. Se considera el más delicioso y tiene un sabor distintivo.

Cacao Forastero: Es un cacao criollo silvestre, originario de la selva amazónica. Tiene un sabor más ácido y es el tipo de cacao más común: el 90% del cacao que se cultiva en la tierra hoy en día es este.

Cacao Trinitario: Este es el resultado de la polinización cruzada entre árboles Criollo y Forastero que ocurrió espontáneamente alrededor de 1730 en la isla de Trinidad. Combina el sabor distintivo del cacao Criollo con la durabilidad del Forastero.

2.2.3. Bioquímica del cacao

Pilligua et al (2021) indican que para apreciar el significado de los resultados obtenidos por los investigadores que han estudiado la cura del cacao, para comprender la naturaleza de los problemas involucrados, es necesario saber algo acerca de la composición de la almendra de cacao y de las propiedades y reacciones de sus principales componentes. La composición aproximada de las diferentes partes de la almendra de cacao forastero típico se indica en la tabla 1.

Tabla 1: Composición bioquímica del cacao

	(Porcentaje del peso fresco)		
	Cotiledones	Pulpa	Testa
Agua	35.0	84.5	9.4
Celulosa (fibra)	3.2	-----	13.8
Almidón	4.5	-----	46.0
Pentosana	4.9	2.7	-----
Sucrosa	-----	0.7	-----
Glucosa, fructosa	1.1	10.0	-----
Grasa	31.3	-----	3.8
Proteína	8.4	0.6	18.0
Teobromina	2.4	-----	-----
Cafeína	0.8	-----	-----
Polifenoles	5.2	-----	0.8
Ácidos	0.6	0.7	-----
Sales inorgánicas	2.6	0.8	8.2
	-----	-----	-----
	100.0	100.0	100.0

Fuente: Hernández, C. H. (2019). Análisis de la composición química del cacao, extracción y estudio de compuestos antioxidantes en genotipos del banco de germoplasma de México (Doctoral dissertation, Universidad de Sevilla).

1. Grasa (Mantequilla de cacao): Esta es una sustancia amarilla, cristalina, quebradiza que se derrite por completo a una temperatura entre 32° y 35°C (90° y 95°F), que es apenas inferior a la temperatura del cuerpo humano. Consiste de glicéridos mezclados de dos

ácidos grasos saturados (esteárico y palmítico) y un ácido graso no saturado (oleico). Es, por lo tanto, una grasa escasamente no saturada. La grasa de los cotiledones contiene de 0.3 a 0.8% de teoesteroles, y la grasa de testa contiene de 0.8 a 10.0%. Los teoesteroles son los precursores de la vitamina antirraquítica (Vitamina D), que se produce cuando los teoesteroles son irradiados. También contiene del 0.5 al 0.9% de lecitina, la cual aumenta la movilidad de la grasa de cacao derretida.

Los principales sustitutos de la grasa de cacao que se usan en la manufactura de chocolates, son sebo de borneo, derivado de los frutos de especies de *Shorea* y *Palaquium*, y sebo chino, derivado de los frutos de *Stillingia sebifera*.

2. Teobromina (3,7 – dimetilxantina): No es un verdadero alcaloide, sino que, como la cafeína en el café y el té, es en realidad una base purina. Cristaliza en forma de agujas blancas y se volatiliza calentándola a 290°C.

Es soluble en agua caliente y en alcohol, pero no en gasolina. Es de sabor amargo.

3. Proteína: No se sabe mucho acerca de las proteínas del cacao y sus derivados, excepto que la pulpa contiene pequeñas cantidades de ácido glutámico y aspártico y de asparagina.

4. Acido: La pulpa fresca contiene ácido cítrico, pero fuera de este, ninguno otro ácido frutal. Este imparte un pH 3.9 a las primeras exudaciones, las cuales contienen 0.3 gr. de ácido cítrico por cada 100ml (García, 2013).

2.2.4. Mucílago de cacao

Los mucílagos son fibras solubles, con la propiedad de hincharse con el agua y formar disoluciones coloidales o geles, característica ésta a la que deben la mayoría de sus propiedades y aplicaciones. En las plantas funciona como depósitos de agua gracias a su capacidad de retención, evitando así la deshidratación y favoreciendo la germinación. Cuando son muy abundantes, pueden fluir al exterior y por desecación en contacto con el aire se forman gomas.

Por lo tanto, se considera que la diferencia está en que los mucílagos son constituyentes normales de las plantas, mientras que las gomas son productos que se forman en

determinadas circunstancias, mediante la destrucción de membranas celulares y la exudación. Son muy variables en cuanto a su composición, pero como constituyentes más extendidos, destacan la glucosa, la arabinosa, la xilosa y el ácido galacturónico. (Suarez, 2010)

Pérez (2004) describe que el mucílago es una sustancia viscosa, generalmente hialina, que contiene el cacao. Es un producto orgánico de origen vegetal, de peso molecular elevado, superior a 200.000 g/mol, cuya estructura molecular completa es desconocida. Están conformados por polisacáridos celulósicos que contienen el mismo número de azúcares que las gomas y pectinas. Los mucílago se suelen confundir con las gomas y pectinas, diferenciándose de estas sólo en las propiedades físicas.

Mientras que las gomas y pectinas se hinchan en el agua para dar dispersiones coloidales gruesas y las pectinas se gelifican; los mucílago producen coloides muy poco viscosos, que presentan actividad óptica y pueden ser hidrolizados y fermentados. Se forma en el interior de las plantas durante su crecimiento. En la ilustración 1 se puede observar cómo luce el mucílago extraído de las mazorcas de cacao.

Figura 1: Mucílago de cacao



Fuente: Torres, C. A. V., Ocampo, R. D., Rodríguez, W. M., Velasco, R. S., Chang, J. F. V., & Cedeño, C. B. (2016). Utilización del mucílago de cacao, tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea. Revista ESPAMCIENCIA ISSN 1390-8103, 7(1), 51-58.

Mientras que López et al. (1997) comentan que el mucílago es un medio rico para el desarrollo microbiano, este contiene de alrededor de 14 - 15 % de azúcares, dentro de los cuales el 60% de sacarosa y 39% de una mezcla de glucosa y fructosa, además de contener alrededor de 80 – 90% de agua, 2 – 3% de pectina y alrededor del 1% de sales minerales.

Por otra parte, Braudeau (2001) menciona que la pulpa fresca de cacao está compuesta por el 80 % de agua, de 10 al 15 % de glucosa y fructosa, hasta el 0.5 % de ácidos no volátiles, en su mayor parte cítricos y cantidades pequeñas de almidón, ácidos volátiles y sales.

En un principio la pulpa es estéril, pero la presencia de azúcar y la adecuada acidez (pH 3.5), proporcionan excelentes condiciones para el desarrollo de microorganismos, una vez que la mazorca se abre. Braudeau (2001) manifiesta que las semillas de cacao están rodeadas de un mucílago que contiene de 10 a 15 % de azúcar, 1% de pectinas y 1.5 % de ácido cítrico. Parte de este mucílago o pulpa es necesaria para la producción de alcohol y ácido acético en la fermentación de las almendras, pero de 5% a 7% drena como exudado.

Según el Fondo Nacional de Investigaciones Agropecuarias [FONAIAP] (2000) describe que el mucílago es originario del cacao nacional fino de aroma. Los frutos provenientes de esta planta neotropical “cacao” se conoce como "mazorca o baya" formada por una cáscara en cuyo interior se encuentran las almendras rodeadas de un mucílago o pulpa de sabor dulce y ácido. El mucílago provee las condiciones adecuadas para el proceso de fermentación y para la formación de las sustancias precursoras del sabor y aroma, además con su jugo se pueden elaborar mermeladas y otros productos más.

También nos comenta Braudeau (2001) que la pulpa cuyo pH ácido es debido a la presencia de ácido cítrico, constituye un medio favorable para las levaduras, su contaminación por numerosos microorganismos se inicia rápidamente una vez que las habas han sido extraídas de las mazorcas ya sea por el simple contacto con las manos de los trabajadores o con el material utilizado para el transporte y el tratamiento del cacao, esto debido a los insectos atraídos por el mucílago azucarado. En la tabla 3 se evidencian los parámetros fisicoquímicos del mucílago de cacao.

Tabla 3: Parámetros del mucílago de cacao

Componentes	Porcentaje en base húmeda
Agua	79,20 – 84,20
Proteína cruda	0,09 - 0,11
Azúcares	12,50 – 15,90
Glucosa	11,60 – 15,32
Sacarosa	0,11 - 0,90
Pectinas	0,90 - 1,19
Ácido cítrico	0,77 - 1,52
Cenizas	0,40 - 0,50

Fuente: Torres, C. A. V., Ocampo, R. D., Rodríguez, W. M., Velasco, R. S., Chang, J. F. V., & Cedeño, C. B. (2016). Utilización del mucílago de cacao, tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea. Revista ESPAMCIENCIA ISSN 1390-8103, 7(1), 51-58.

2.2.5. Fermentación de cacao

Según Hernández (2010) la fermentación es un proceso básico, para la obtención de productos finales, este proceso ocurre en el interior del haba gracias a los azúcares que contiene la pulpa. Esta operación tiene una duración entre cinco y siete días, dependiendo de varios factores como la variedad de cacao, como es el caso de las semillas cacao criollo en los que el proceso es más rápido que la fermentación de las semillas de cacao forastero.

Cros (2004) menciona que la fermentación microbiana que contribuye a la eliminación de la pulpa mucilaginoso que rodea las almendras. Esta última conduce a la modificación de la composición química y formación de los precursores del aroma. También comenta Amores (2009) que la fermentación es un aspecto clave en la construcción de la calidad del cacao al ejercer una influencia directa sobre su perfil sensorial.

Con la fermentación la pulpa desaparece, los azúcares presentes en ella se transforman en alcohol, casi simultáneamente el alcohol se convierte en ácido acético, penetra en los cotiledones, la elevación de la temperatura combinada con la muerte de acidez causa la muerte del embrión, las membranas celulares se desintegran a morir la almendra y gran

parte de los polifenoles fluyen (este flujo se conoce como “agua sangra”) hacia afuera, las proteínas se desdoblán en aminoácidos y péptidos también se generan azúcares reductores.

Enríquez (2008) recomienda de preferencia, para fabricar las cajas de fermentación, usar maderas blancas y sin sustancias como taninos o resinas, un buen material es el laurel. Las cajas deben ser “curadas”, es decir que las primeras fermentaciones, el proceso final quizá no sea muy bueno, por lo tanto, hay que esperar a la segunda o tercera ocasión para ir estudiando la calidad de las almendras.

Wacher (2007) comenta que las levaduras contienen enzimas del tipo “pectinolítico”, lo que les permite hidrolizar las pectinas, ocasionando una disminución de la viscosidad de la pulpa de mucílago y favoreciendo la entrada de aire. Con este ambiente aerobio y menos ácido -debido al consumo de ácido cítrico- se favorece el desarrollo de bacterias acéticas. Las levaduras llevan a cabo el proceso de fermentación, transformando los azúcares sencillos del mucílago o pulpa en etanol, degradando la pectina, lo que modifica la textura del grano y elimina el ácido cítrico, lo que trae como consecuencia una disminución de la acidez.

Durante la fermentación los microorganismos juegan papeles muy importantes: las levaduras eliminan la pulpa que rodea a los granos de cacao frescos, despolimerizando o rompiendo la pectina y en las condiciones anaeróbicas (sin oxígeno) que imperan en el ambiente, llevando a cabo la fermentación de los azúcares para producir etanol. Las bacterias lácticas fermentan los azúcares y producen ácido láctico, ácido acético y manitol. Ambos tipos de microorganismos (Wacher, 2007).

Hernández (2010) comenta que durante la fermentación hay que cumplir con varios objetivos:

- Impedir que el haba germine
- Retirar la pulpa del haba, la cual se transforma en un líquido y se elimina
- Destruir las antocianinas produciendo taninos, es decir convertir el color púrpura del haba en un marrón o canela, este último característico del cacao fermentado

- Producir aminoácidos, que tienen que ver con el flavor del producto final.
- Eliminar sustancias de sabor y aroma naturales que son desagradables como lo es la astringencia.

Los mismos autores expresan que las reacciones antes señaladas son inducidas por elevación de la temperatura de la masa de cacao durante la fermentación y migración del ácido acético de la pulpa hacia el interior de los cotiledones. Ambos fenómenos combinados suprimen el poder germinativo del embrión. Ramos (2004) indica que la fermentación es la acción combinada y balanceada de temperatura, alcoholes, ácidos, pH y humedad. Este proceso disminuye el sabor amargo por la pérdida de teobromina y facilita el sacado.

El tiempo de fermentación depende del tipo de cacao, es decir de la variedad. Cada grupo genético tiene su período característico de fermentación y dentro de ese período, si se acorta el tiempo de fermentación, mayor será la sensación de acidez, astringencia y amargor que permanece al final del proceso (Jiménez, 2000).

Sobre el mismo tema, Pérez (2006) menciona que la acidez de la variedad Nacional es menor que la del clon CCN-51, aunque la introducción de la técnica del pre-secado en la fermentación de este último, permitir reducir en exceso de acidez sensorial.

2.2.6. Fermentación del vino

Según Álvarez, (2011) comenta que la fermentación del vino es de las más conocidas y estudiadas por afectar a una industria tan extendida y con gran éxito. En el caso del vino las levaduras responsables de la vinificación son unos hongos microscópicos que se encuentran de forma natural en los hollejos de las uvas (generalmente en una capa en forma de polvo blanco fino que recubre la piel de las uvas, que se denomina "pruina") y que se encuentran en los suelos del viñedo).

Este es un proceso mediante el cual los azúcares contenidos en el mosto se transforman en alcohol, principalmente, junto con otros compuestos orgánicos. Aproximadamente se produce 1º alcohólico por cada 17 gr. de azúcar contenidos en el mosto. Así, un mosto con 221 gr/litro daría lugar a un vino con 13 grados alcohólicos (13º) (Álvarez, 2011).

La elaboración del vino pasa por una fermentación alcohólica de la fruta de la vid en unos recipientes (hoy en día elaborados en acero inoxidable) en lo que se denomina fermentación tumultuosa debido a gran ebullición que produce durante un periodo de 10 días aproximadamente (llegando hasta aproximadamente unas dos semanas). Tras esta fermentación 'principal' en la industria del vino se suele hacer referencia a una fermentación secundaria que se produce en otros contenedores empleados en el trasiego del vino joven (tal y como puede ser en las botellas de vino).

El final de la fermentación se produce de forma espontánea cuando el contenido de azúcar en el mosto (azúcar residual) no sobrepasa los 4 o 5 gramos por litro. De esta forma se habrá obtenido un vino seco. Cuando la intención es producir vinos semisecos o dulces, hay que detener la fermentación por medios químicos (adicción de anhídrido sulfuroso) o físicos (enfriamiento o sobrecalentamiento) en el momento que el contenido de azúcar residual es el adecuado para el vino que se quiere obtener (Álvarez, 2011). En la ilustración 2 se puede observar el proceso de elaboración de vino.

Figura 2: Proceso de vinificación



Fuente: Martín García, L. (2017). Procesos de vinificación de vinos tintos y rosados. Factores de interés.

2.2.7. Condiciones para la fermentación

Tabla 4: Condiciones adecuadas para la fermentación

Parámetro	Indicador
Concentración de azúcares	10 – 18%
pH	4 – 4.5
Microorganismo	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Oxigenación	Ausencia
Fosforilación	Presencia
Temperatura de fermentación	15 – 25 °C

Fuente: Vargas, V., Soto, J., & Enríquez, G. (1989). Métodos de fermentación de cacao para pequeños productores en seis localidades de Costa Rica. Pruebas de calidad. Memoria. Seminario regional sobre tecnología post cosecha y calidad mejorada del cacao. Turrialba. Costa Rica, 147-161.

Elaborado por: Autor

Según Vásquez (2007) menciona que en esta fermentación a partir de la glucosa y con la participación de diferentes enzimas, se origina el ácido pirúvico, el cual es descarboxilado hasta CO₂ y acetaldehído y este último reducido por la acción de la deshidrogenada hasta alcohol etílico. En la tabla 4 se establecen las condiciones adecuadas para la fermentación.

El oxígeno es el desencadenante inicial de la fermentación, ya que las levaduras lo van a necesitar en su fase de crecimiento. Sin embargo, al final de la fermentación conviene que la presencia de oxígeno sea pequeña para evitar la pérdida de etanol y la aparición en su lugar de ácido acético. La fermentación alcohólica es un proceso exotérmico, es decir, se desprende energía en forma de calor.

y de los utensilios, suelen ser hongos entre los que destacan *Penicillium*, *Aspergillus*, *Oídium* (Vásquez, 2007).

2.2.7.1. Temperatura

Las levaduras son microorganismos mesófilos, esto hace que la fermentación pueda tener lugar en un rango de temperaturas desde los 13-14°C hasta los 33-35°C. Dentro de este intervalo, cuanto mayor sea la temperatura mayor será la velocidad del proceso fermentativo siendo también mayor la proporción de productos secundarios. Sin embargo, a menor temperatura es más fácil conseguir un mayor grado alcohólico, ya que parece que las altas temperaturas que hacen fermentar más rápido a las levaduras llegan a agotarlas antes Collado (2001).

La temperatura más adecuada para realizar la fermentación alcohólica se sitúa entre los 18-23°C y es la que se emplea generalmente en la elaboración de vinos blancos. Sin embargo, para elaborar vinos tintos es necesaria una maceración de los hollejos (y pepitas) de las uvas con el fin de extraer antocianinas y taninos principalmente, de forma que se fermenta a temperaturas más elevadas (24-31°C) para buscar una mayor extracción de estos compuestos (Collado, 2001).

2.2.7.2. Aireación

Collado (2001) indica que una aireación sumamente excesiva es totalmente absurda ya que, entre otras consecuencias en el vino, no obtendríamos alcohol sino agua y anhídrido carbónico. Debido a que las levaduras, cuando viven en condiciones aeróbicas, no utilizan los azúcares por vía fermentativa sino oxidativa, para obtener con ello mucha más energía.

2.2.7.3. PH

El pH del vino no es el más adecuado para la vida de las levaduras, menos para la de las bacterias, prefiriendo convivir con valores más elevados. Cuanto menor es el pH peor lo tendrán las levaduras para fermentar, aunque más protegido se encuentra el vino ante posibles ataques bacterianos (Collado, 2001).

2.2.7.4. Nutrientes y activadores

Collado (2001) menciona que las levaduras fermentativas necesitan los azúcares para su catabolismo, es decir para obtener la energía necesaria para sus procesos vitales, pero además necesitan otros substratos para su anabolismo como son nitrógeno, fósforo, carbono, azufre, potasio, magnesio, calcio y vitaminas, especialmente tiamina (vitamina B1). Por ello es de vital importancia que el medio disponga de una base nutricional adecuada para poder llevar a cabo la fermentación alcohólica.

La presencia de esteroides y ácidos grasos insaturados es también necesaria obteniéndolos inicialmente del mosto y posteriormente de las células madres. Esteroides y ácidos grasos insaturados de cadena larga son necesarios fundamentalmente para que sus membranas celulares puedan ser funcionales.

2.2.8. Utilización de levaduras en la fermentación

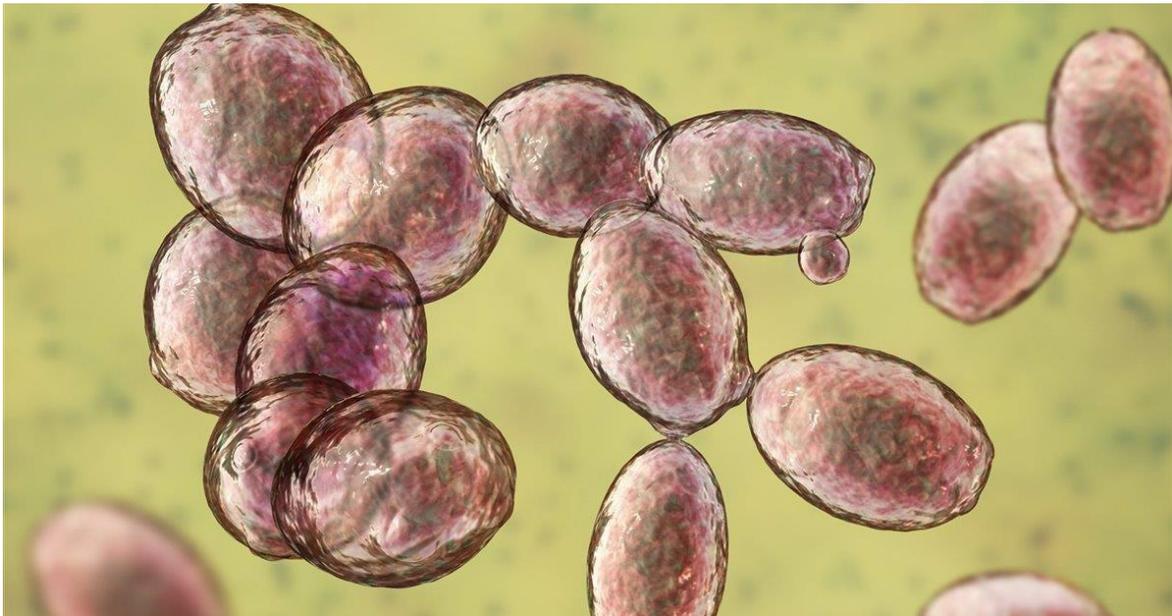
Ferrer (2009) menciona que las levaduras son organismos pertenecientes al reino de los hongos: Como tales, son organismos heterotróficos por el hecho de que solo pueden alimentarse de materia ya preformada (como nosotros los mamíferos), al contrario que las plantas, que son organismos autotróficos y que al estar dotadas de clorofila pueden utilizar la energía del sol juntamente con el aire y el agua para obtener todos los nutrientes. Las levaduras están distribuidas en casi todos los hábitats naturales.

Pero para Verónica (2008) las levaduras se han definido como hongos microscópicos, unicelulares, la mayoría se multiplican por gemación y algunas por escisión. Este grupo de microorganismos comprende alrededor de 60 géneros y unas 500 especies. Históricamente, los estudios sobre microbiología enológica se han centrado en las levaduras pertenecientes al género *Saccharomyces*, que son las responsables de la fermentación alcohólica.

Las levaduras son los agentes de la fermentación y se encuentran naturalmente en la superficie de las plantas, el suelo es su principal hábitat encontrándose en invierno en la capa superficial de la tierra.

Martínez (2012) comenta que las levaduras son pequeños microorganismos que existen en todas partes de la naturaleza. Pertenecen al mundo de los hongos, y a la fecha se han catalogado unas 1,500 especies de levadura en la naturaleza. Estos pequeños seres vivos son unicelulares, y se reproducen por mitosis, que es cuando una célula se convierte en dos iguales. En la figura 4 se puede observar la estructura microscópica de las levaduras responsables de la vinificación.

Figura 4 Estructura microscópica de *Sacharomyces cerevisiae*



Fuente: Smith, A. E., Zhang, Z., Thomas, C. R., Moxham, K. E., & Middelberg, A. P. (2000). The mechanical properties of *Saccharomyces cerevisiae*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(18), 9871-9874.

La levadura consigue su energía a través de carbohidratos y azúcares, sin necesitar la luz de sol para reproducirse, y puede vivir en un estado inactivo hasta poder conseguir la azúcar para alimentarse. Un ejemplo de este estado es cuando se puede observar un polvo blanco en la cáscara de las uvas o peras. Ese polvo es levadura que por naturaleza propia se junta en lugares con altos contenidos de azúcar, como el jugo de la fruta (Martínez, 2012).

Ya que existe en la naturaleza, muchas veces no se necesita agregar nada a alimentos para que empiecen a fermentar. Esto es más evidente en los “lambicales”, lo cuales son

cervezas que se fermentan con levaduras de la naturaleza en vez de levaduras agregadas por el productor (Martínez, 2012).

Una levadura conocida como *Saccharomyces cerevisiae* es la responsable de la transformación del azúcar en alcohol, el fenómeno más trascendental en la producción de vinos. Esta levadura se encuentra en forma salvaje en la naturaleza y, generalmente, sobre el hollejo de la uva en unas especies de oasis que se llaman estomates y que están llenos de pequeñísimas gotitas de jugo de uva. En ese medio con demasiado oxígeno esta levadura no puede desarrollarse ni hacer su trabajo. Es en el mosto en donde ella puede comenzar a transformar el azúcar en alcohol, pero aún necesita de ciertas condiciones ambientales Collado, (2001).

Una levadura puede resistir temperaturas muy bajas. Sólo permanece estable, dormida. El calor excesivo, sin embargo, las mata. Un mosto que supera los 35 grados es un ambiente aniquilador de *Saccharomyces cerevisiae*. Si la temperatura comienza a aumentar, la actividad de las levaduras se vuelve más y más lenta y lo que se debe hacer es tratar de bajar lentamente porque *cerevisiae* no sólo odia el calor sino aborrece los cambios bruscos de temperatura. A unos 18 grados esta levadura puede hacer muy bien su trabajo (Collado, 2001).

Tal como los seres humanos, *Saccharomyces cerevisiae* necesita oxígeno para poder vivir y multiplicarse, pero a diferencia de nosotros, ella puede estar sin él por un tiempo razonable (puede, en el fondo, trabajar en medios anaeróbicos). Una aireación al comienzo de la fermentación en blanco asegura una buena cantidad de levaduras que se multiplicarán y harán bien su trabajo cuando el aire falte. Esporádicas aireaciones en los tintos más la suma de levaduras externas, si es necesario, tendrán el mismo resultado (Collado, 2001).

Saccharomyces cerevisiae puede trabajar bien en medios alcohólicos como lo son los mostos transformándose en vino, aunque no resiste extremos. Más allá de los 14 grados de alcohol, su trabajo se hace muy lento (Collado, 2001).

El Anhídrido sulfuroso es importantísimo para hacer un buen vino, algunas de sus propiedades son un alto poder antiséptico, antioxidante y macerativo. A dosis controladas,

Saccharomyces cerevisiae no tiene problemas. Las que sí tienen problemas son las bacterias que se mueren a su alrededor (Collado, 2001).

2.2.8.1. Levadura FERMIVIN 7013

Fermivin 7013 es apto para la elaboración de todo tipo de vinos, incluidos vinos de frutas y aguardientes base para destilación (baja producción de aguardientes y acetaldehído). Durante la producción de vino tinto, la mezcla de Fermivin 7013 con la enzima de remojo Rapidase Extra Fruit optimiza la sustracción y estabiliza el color del vino terminado debido a la formación de piranantocianinas.

Fermivin 7013 proporciona una sorprendente conversión de azúcares en etanol y una fermentación rápida y completa sin la formación de metabolitos indeseables. La cepa 7013 fue seleccionada y aprobada por el INRA (Instituto Nacional Francés de Investigación Agrícola) en 1970 en la región de Corbières (Languedoc, Francia). Se comercializa como LSA (Levadura Seca Activa) en 1977.

Fermivin 7013 contiene más de 10 mil millones de células secas activas por gramo. Dosis recomendada: 20 g/hl. Guárdelo en su envase original, sin abrir, en un lugar fresco y seco (entre 5 y 15 °C).

2.2.8.2. Levadura FERMIWIN 4F9

Fermivin 4F9 es útil para producir vinos con aromas profundos, principalmente frutas exóticas. Libera la cantidad justa de polisacáridos, por eso está específicamente indicado para la elaboración de vinos blancos para vinos de buena crianza para vinólogos que quieren dar un empujón a sus vinos, con más sabor y volumen. Fermivin 4F9 se puede utilizar para la fermentación secundaria en tanques cerrados (método Sharma).

Su fermentabilidad se puede mejorar mejorando la nutrición con nitrógeno. La presencia del autoprobiótico Natuferm contribuye a la producción de ésteres enzimáticos. El medio completo Maxaferm también proporciona una mejor resistencia a las condiciones extremas de fermentación.

Fermivin 4F9 es una excelente levadura capaz de liberar y convertir tiol en derivado de acetato (3MHA). Ideal para elaborar vinos blancos con aromas a frutas tropicales (guayaba, maracuyá) y flores. En boca, aromas intensos y persistentes de guayaba o maracuyá a precursores de tioles. Sabores fermentados como ésteres y terpenos para cepas como Chardonnay. Bien equilibrado y redondo en boca después de elaborar cerveza sobre un suave glaseado.

La cepa 4F9 fue seleccionada y validada por el IFV (Instituto Nacional Francés de Investigación Agrícola) en el Valle del Loira (Muscadet, Francia). Fermivin 4F9 contiene más de 10 mil millones de células secas activas por gramo. Dosis recomendada: 20 g/hl. Guárdelo en su envase original, sin abrir, en un lugar fresco y seco (entre 5 y 15 °C).

2.2.9. Sustancias en el proceso de vinificación

2.2.9.1. Bicarbonato de sodio

El bicarbonato de sodio (también llamado carbonato sódico o hidrogeno carbonato de sodio o carbonato ácido de sodio) es un compuesto sólido cristalino de color blanco muy soluble en agua, con un ligero sabor alcalino parecido al del carbonato de sodio, de fórmula NaHCO_3 .

La reacción de ácidos con bicarbonato es un método común para neutralizar derrames ácidos. Se usa a menudo para aumentar el pH y, por tanto, la alcalinidad total del agua de piscinas y spas. El bicarbonato se puede agregar como una simple solución que restaura el balance de pH en aguas con altos niveles de cloro. El bicarbonato neutraliza el ácido de las baterías (Amores, 2009).

2.2.9.2. Metabisulfito de potasio

Según Guevara (2003) señala que el metabisulfito de potasio es un conservante de alimentos, el cual preserva el color natural de la comida y la protege contra las bacterias. Los fabricantes de vinos también utilizan el metabisulfito de potasio para preservar los vinos embotellados. La industria manufacturera utiliza el metabisulfito de potasio como un tinte y agente de impresión, en el proceso del oro y en el revelado de fotografías.

Mientras que Cubero et al. (2003) también describe que el metabisulfito de potasio es un polvo blanco y cristalino que tiene un fuerte olor a sulfuro. Adicionalmente, el metabisulfito de potasio es un disulfito y tiene un punto de derretimiento de 374 grados F (190° C).

Algunos peligros asociados con la exposición a esta sustancia incluyen quemaduras severas y daños a los ojos, irritación y enrojecimiento de la piel y dificultad para respirar. Si has sido expuesto a la forma cruda y sin procesar del metabisulfito de potasio, debes buscar atención médica inmediatamente. Lava tus ojos con agua por 15 minutos y utiliza agua para quitar cualquier sustancia de tu piel.

2.2.9.3. Carragenina

La carragenina es un agente que permite la clarificación de la cerveza sin interferir con su sabor, olor o textura. El uso típico es de 7 gramos por cada 100 litros

2.2.9.4. Nutrientes

2.2.9.4.1. Fermaid K

Es una mezcla de sales de amonio (DAP), aminoácidos libres (nitrógeno orgánico de levadura inactivada), esteroides, ácidos grasos insaturados y macronutrientes (sulfato de magnesio, tiamina, ácido fólico, niacina, biotina, pantotenato de calcio) y la levadura está inactiva.

Este nutriente es adecuado para su uso en la fermentación alcohólica de uvas, pulpa de frutas o pulpa de semillas. Para asegurar una fermentación adecuada y una cinética adecuada, se debe maximizar la producción de biomasa en el jugo, minimizando el riesgo de ralentizar o detener la fermentación. La dosis recomendada por el fabricante es de 20-40 g/hl para asegurar una fermentación completa y una velocidad de reacción constante.

2.2.9.4.2. Maxaferm

Es un auxiliar de fermentación que favorece la levadura y facilita la fermentación inmediata y completa del azúcar presente en el mosto. Por cierto, MAXAFERM permite que la levadura resista las duras condiciones de fermentación (alta temperatura, liberación de

metabolitos tóxicos, alto contenido de alcohol). También proporciona todos los nutrientes necesarios para el crecimiento y la supervivencia de la levadura, incluida la fermentación completa de los azúcares. De esta forma, MAXAFERM evita la liberación de metabolitos no deseados como SO₂, H₂S o ácidos volátiles, ayudando a producir vinos aromáticos limpios. Sus características más importantes son:

- ✓ Eliminar la deficiencia de nitrógeno en el mástil.
- ✓ Promueve el crecimiento celular y previene la fermentación lenta y estancada.
- ✓ Ayuda a la levadura a soportar condiciones difíciles de fermentación (frío, alcohol).
- ✓ Asegura la viabilidad de la levadura en las últimas etapas de la fermentación y evita el riesgo de parada de la fermentación cuando se han consumido los azúcares.

La dosis recomendada es de 20-60 g/hl en función del contenido inicial de nitrógeno en el mosto. Dosis máxima (UE): 60 g/hl. Antes de solidificar y remover el vino durante el bombeo, se recomienda remojar el vino en 10 veces su volumen de agua (airear para promover el crecimiento de la levadura, usar una bomba si es posible).

2.2.10. Análisis organoléptico del vino

El análisis sensorial de los vinos consiste en la descripción de estos en función de las propiedades organolépticas que los caracterizan. Dicho análisis permite evaluar los distintos tipos de vino, así como apreciar ciertos matices de algunas características dentro de la cata. La evaluación sensorial de los vinos a través de sesiones de cata es el método universalmente aceptado para definir su calidad.

El evaluador es un verdadero aparato de medida, y uno de ellos es una repetición. Pese a la inherente subjetividad del análisis, este puede tener determinado efecto en el posicionamiento y comercialización del vino (Ramos, 2013). En la figura 5 se puede evidenciar un cotidiano proceso de análisis organoléptico o catación.



Figura 5: Proceso de catación del chocolate

Fuente: Ramos, G., González, N., Zambrano, A., & Gómez, Á. (2013). Olores y sabores de cacao (*Theobroma cacao* check for this species in other resources L.) venezolanos obtenidos usando un panel de catación entrenado. *Revista científica UDO agrícola*, 13(1), 114-127.

Las pruebas descriptivas o de perfil sensorial son las más comunes y permiten describir las diferentes sensaciones de los vinos, calificándolos a través de una escala. La técnica descriptiva con consenso de los evaluadores es la más utilizada. Se pueden utilizar escalas ordenadas de acuerdo con el orden lógico de degustación: primero la vista, luego el olfato y, finalmente, el gusto; aunque hay quienes prefieren no estructurarlas de esta manera. Puerta et al, (2015) describen que el éxito de este análisis está ligado al entrenamiento de los evaluadores, con referencias base que permitan desarrollar una terminología dentro del panel.

2.2.8.1. Color

En este punto es clave definir el color que se percibe a través de la vista. Detectar como la combinación del mosto junto con el tratamiento que se le haya dado ha conseguido darle unos tonos distintos. La edad del vino, el tiempo de fermentación y envejecimiento puede afectar a la pigmentación de éste (Pacheco, 2020).

2.2.8.2. Sabor

El sabor puede ser modificado dependiendo del tratamiento que se le haya dado al zumo de uva. Además, el espacio y el tiempo donde coloques el vino puede añadirle un toque distinto. Los vinos jóvenes tienen un sabor afrutado, fresco, ligeramente ácido, dulces y con un toque a madera de la barrica. En el caso de los vinos viejos, los sabores se intensifican y el toque a madera se acentúa (López, 2018).

2.2.8.3. El aroma

El aroma es una característica fundamental en la cata de vinos. La fragancia variará dependiendo del tiempo de crianza, el tratamiento y del lugar donde se haya colocado el vino. Los vinos jóvenes suelen tener un olor más afrutado, floral, vegetal. En los vinos sometidos a un periodo de crianza más largo, los aromas suelen acentuarse y pueden oler a: frutos secos, especias que se hayan añadido, hierbas, minerales y el olor a madera donde se haya almacenado el líquido (Pacheco, 2020).

CAPÍTULO III: Diseño metodológico

3.1. Tipo y diseño de investigación

3.1.1. Tipo de investigación

La presente investigación es de carácter aplicado, exploratorio – correlacional ya que describe el proceso mediante el cual se obtienen bebidas alcohólicas a partir de residuos del cacao como lo es el mucílago en el que se miden los cambios causados por las variables (tipo de cacao, tipo de levadura y tipo de nutriente) y sus interacciones estadísticas, donde se aplican variables de campo y de laboratorio. Presenta un enfoque experimental de carácter longitudinal de tipo cuantitativo.

3.1.2. Localización de la investigación:

La especie de *Theobroma cacao* var. CCN51 fue recolectada en la finca “Avecillas” ubicada en el sector Venecia de la parroquia Mariscal Sucre perteneciente al cantón Milagro con coordenadas -2.134, -79.5941 cuyas condiciones meteorológicas se presentan en la tabla 5.

Mientras que, la especie de *Theobroma cacao* var. Nacional fue recolectada en la finca “3 hermanos” ubicada Enel sector “La puntilla” perteneciente a la parroquia Taura del cantón Naranjal con coordenadas -2.6736, -79.6183. Las condiciones meteorológicas se presentaron en la tabla anterior.

Tabla 5: Localización de la investigación

<u>Finca “Avecillas”</u>		<u>Finca “3 Hermanos”</u>	
Parámetros	Valores	Parámetros	Valores
meteorológicos		meteorológicos	
Temperatura	25.6° C	Temperatura	24.3° C
Humedad relativa		Humedad relativa	
Precipitaciones	127.4 mm/mes	Precipitaciones	82.5 mm/mes
Velocidad del viento	4.8 Km/h	Velocidad del viento	4.2 Km/h
Presión del aire	930,25 hPa	Presión del aire	851,4 hPa
Nivel del mar	14 m	Nivel del mar	25m

Fuente: Avecillas, 2023

3.1.3. Diseño del experimento

Para la presente investigación se usarán diversos tratamientos, los mismos que se describirán en la tabla 6 conforme a las siguientes variables:

A: variedad de cacao

A1: CCN 51

A2: Nacional

B: Tipo de levadura

B1: FERMIVIN 7013

B2: FERMIVIN 4F9

C: Tipo de nutriente

C1: MAXAFERM

C2: FERMAID K

Tabla 6: Diseño del experimento

<u>Tratamiento</u>	<u>Código</u>	<u>Tipo de cacao</u>	<u>Tipo de levadura</u>	<u>Tipo de nutriente</u>
1	A1.B1.C1	CCN51	FERMIVIN 7013	MAXAFERM
2	A1.B1.C2	CCN51	FERMIVIN 7013	FERMAID K
3	A1.B2.C1	CCN51	FERMIVIN 4F9	MAXAFERM
4	A1.B2.C2	CCN51	FERMIVIN 4F9	FERMAID K
5	A2.B1.C1	NACIONAL	FERMIVIN 7013	MAXAFERM
6	A2.B1.C2	NACIONAL	FERMIVIN 7013	FERMAID K
7	A2.B2.C1	NACIONAL	FERMIVIN 4F9	MAXAFERM
8	A2.B2.C2	NACIONAL	FERMIVIN 4F9	FERMAID K

Fuentes: Avecillas, 2023

3.1.3.1. Análisis de laboratorio

Primero se analizó la muestra en fresco tanto de cacao CCN51 como de cacao Nacional y se determinó lo siguiente:

- Grados brix
- pH
- Perfil de azúcares
- Grados alcohólicos

Seguidamente, durante el proceso de fermentación, a cada tratamiento se tomaban lecturas cada 2 días con 3 réplicas y a las bebidas alcohólicas finales según los parámetros de:

- pH
- Grados Brix
- Grados alcohólicos

3.1.3.2. Análisis organolépticos

Para este análisis se tomaron en cuenta factores como: Apariencia, Olor, Color, Sabor, Textura y Gusto.

3.1.3.3. Diseño experimental

Se utilizó un diseño completamente al azar (D.C.A.) con arreglo trifactorial $A \times B \times C$ con 8 tratamientos y 3 repeticiones para los parámetros fisicoquímicos. Para los análisis se usó un procedimiento de los modelos lineales generales. Se utilizó el mucílago fresco de cacao CCN51 y nacional, para la obtención de una bebida alcohólica. Mientras que para el análisis sensorial se utilizó un diseño de bloques completamente al azar (D.B.C.A).

3.1.3.4. Esquema del experimento

Se tomaron muestras para los análisis a los 3 días ya envasadas en las botellas después del tiempo de fermentación.

El análisis organoléptico se lo realizó a los 5 días después del tiempo de fermentación realizado, a continuación, se muestra cómo se diseñó el esquema del experimento.

Tabla 7: Esquema del experimento

<u>Tratamiento</u>	<u>Código</u>	<u>Rep</u>	<u>TUE (L)</u>			
			<u>Elab.</u>	<u>Análisis</u>	<u>Elab.</u>	<u>Análisis</u>
Bebida fermentada de cacao CCN51 con levadura FERMITIN 7013 y nutriente MAXAFERM	T1	3	5	3	5	3
Bebida fermentada de cacao CCN51 con levadura FERMITIN 7013 y nutriente FERMAID K	T2	3	5	3	5	3
Bebida fermentada de cacao CCN51 con levadura FERMITIN 4F9 y nutriente MAXAFERM	T3	3	5	3	5	3
Bebida fermentada de cacao CCN51 con levadura FERMITIN 4F9 y nutriente FERMAID K	T4	3	5	3	5	3
Bebida fermentada de cacao NACIONAL con levadura FERMITIN 7013 y nutriente MAXAFERM	T5	3	5	3	5	3
Bebida fermentada de cacao NACIONAL con levadura FERMITIN 7013 y nutriente FERMAID K	T6	3	5	3	5	3
Bebida fermentada de cacao NACIONAL con levadura FERMITIN 4F9 y nutriente MAXAFERM	T7	3	5	3	5	3
Bebida fermentada de cacao NACIONAL con levadura FERMITIN 4F9 y nutriente FERMAID K	T8	3	5	3	5	3

Fuentes: Avecillas, 2023

Para todos los tratamientos se utilizaron 5 litros para la elaboración de la bebida alcohólica, para los análisis respectivos se utilizó 3 litros contando las repeticiones necesarias para los estadísticos.

3.2. La población y la muestra

3.2.1. Características de la población

La población respecto a la materia prima fue la cosecha de cacao CCN51 de la finca “Avecillas” y la cosecha de cacao nacional de la finca “3 hermanos”. Se utilizaron mucílagos a partir de mazorcas de cacao sanas sin evidencia de monillas u otras enfermedades propias del cultivo.

3.2.2. Tipo y tamaño de muestra

Para la parte experimental se recolectaron 40 litros de mucílagos de cacao nacional y 40 litros de mucílagos de cacao CCN51. Mientras que para el análisis sensorial se encuestaron a 10 habitantes de la ciudad de Milagro.

3.3. Materiales, equipos y reactivos

3.3.1. Materia prima

Theobroma cacao var. CCN51

Theobroma cacao var. Nacional

3.3.2. Materiales

Balde para desgrane

Sacos negros de polipropileno

Balde comercial 8 L con llave

Caneca 20 L

Ollas de 5 L

Balanza digital

Espátula

Refractómetro

Probeta de 250 ml

Airlock de doble burbuja

3.3.3. Equipos

Balanza analítica

Termómetro

Refractómetro

pH metro

Alcoholímetro

HPLC

3.3.4. Reactivos

3.3.4.1. Reactivos biológicos

Levadura 1: FERMITIN 7013

Levadura 2: FERMITIN 4F9

Nutriente 1: MAXAFERM

Nutriente 2: FERMAID K

3.3.4.2. Reactivos químicos

Sacarosa

Bicarbonato de sodio

Sorbato de potasio

Carragenina

3.4. Los métodos y las técnicas

3.4.1. Recolección de la muestra

Para los dos tipos de muestras (cacao CCN51 y cacao Nacional) se recolectó en semana de cosecha, se procedió a ensacar el cacao en baba y disponerlo en tachos café B-1 sin tapa para conseguir el filtrado del mucílago del cacao, se dejó por 24 horas. Acto seguido, se procedió a filtrar lo recolectado y coleccionar el mucílago filtrado en canecas de 20 L. Se recolectó 40 L de cada tipo de cacao.

3.4.2. Pasteurización de la muestra

Una vez transportado el cacao en las canecas se procedió a pasteurizar los mucílagos en ollas de acero inoxidable, controlando una temperatura de 63°C por 20 minutos. Después de la pasteurización se procede a almacenar los mucílagos en recipientes de plástico de 8 L. Lo que serían los fermentadores.

3.4.3. Formulación

Para la elaboración de la bebida alcohólica se realizó mediante 2 tipos de cacao, dos tipos de levadura y dos tipos de nutrientes con un total de 5 litros de bebida alcohólica con 8 tratamientos.

Se tomaron 0,5 L de muestra por cada tratamiento para los análisis del experimento que se realizó con la formulación que a continuación se detalla en la tabla 8.

Tabla 8: Formulación

Ingredientes	<u>Cacao CCN51</u>				<u>Cacao Nacional</u>			
	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7	T8
Mucílago		95%				95%		
Levadura		1,6 %				1,6 %		
Nutriente		2,4 %				2,4 %		
Metabisulfito de potasio		0,5 %				0,5 %		
Bicarbonato de sodio		0,5 %				0,5 %		

Fuente: AVECILLAS, 2023

A la materia prima utilizada en el proceso de elaboración de la bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) se le realizaron análisis de pH, grados Brix y acidez. A continuación, en la ilustración 6 se presenta un diagrama de flujo que resume el procedimiento llevado a cabo.

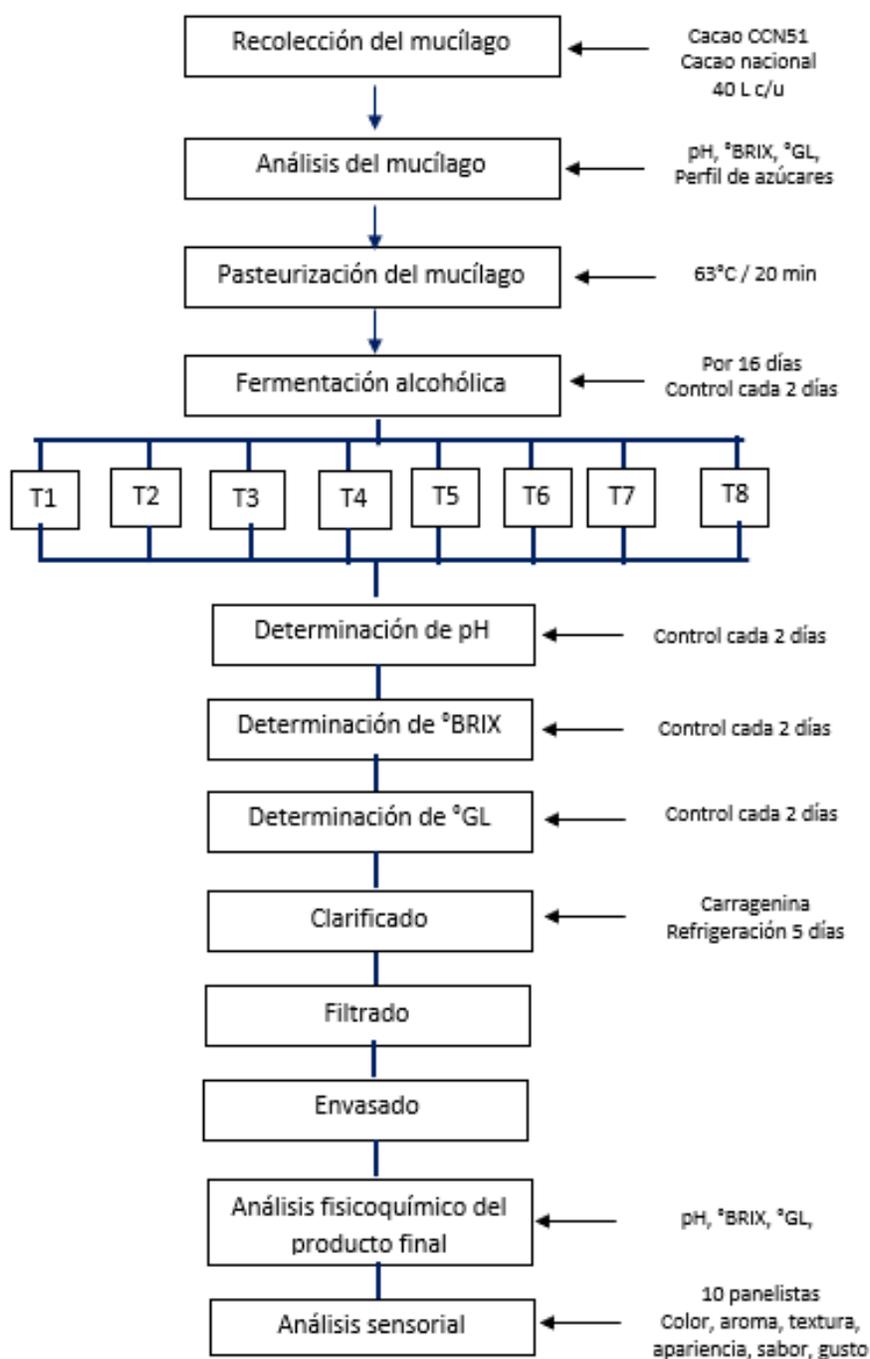


Figura 6: Diagrama de flujo de la parte experimental

Fuente: Avcillas, 2023

3.4.4. Fermentación del mucílago

La fermentación del mucílago, en primer lugar, se adecuó los fermentadores con un sistema Airlock de doble burbuja italiano. La fermentación se realizará mediante 2 tipos de Levadura, por lo que dos fermentadores será con Levadura FERMIVIN 4F9, mientras que dos fermentadores será con Levadura FERMIVIN 7013. Para mejorar las condiciones del vino también se añadirán dos nutrientes de forma alternada, nutriente MAXAFERM y FERMAID K.

En las dos lavaduras de siguió lo recomendado por el fabricante, por lo que se pesó con balanza analítica la cantidad de 1,6 g ya que los fermentadores contienen 8 L de mucílago.

Para el caso de los nutrientes también se siguió las recomendaciones del fabricante, las mismas que establecían dosis de 20 a 40 gramos por hectolitro. Por lo tanto, se pesó 1.6 g y se añadió al inicio de la fermentación, después al cumplir 1/3 de la fermentación se añadió 2.4 g. Para añadir el nutriente, primero se disolvió en 100 ml de agua purificada.

Los fermentadores se cubren con plástico de embalaje, dejando solo el Airlock como escape de gas, el proceso de fermentación duró 20 días.

3.4.5. Clarificado

Para la etapa de clarificado, a todos los fermentadores se le añadió 0,56 g de carragenina, posterior a esto se deja reposar en ambiente refrigerado por 7 días.

3.4.6. Filtrado y envasado

Seguidamente se procede a filtrar el vino mediante la técnica con papel filtro para separar el vino de los residuos que pueden quedar tanto del sedimento como del clarificante. Para el envasado, se utilizan vasos de 14 onzas de capacidad para el análisis sensorial y el restante en botellas de 1 L.

3.4.7. Determinación del pH

Con el potenciómetro de bolsillo se analizó el pH mediante el procedimiento AOAC 981.12 para todos los tratamientos, se extrajeron 250 ml de muestra de cada procedimiento los días 2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 16 de los cuales se usaron 40 ml para las 3 repeticiones. Al inicio de cada determinación se calibró el equipo con 3 tampones de solución estándar (pH 4, 7 y 10). Al potenciómetro se le ha quitado los posibles residuos con agua destilada luego de cada análisis.

3.4.8. Determinación de los grados Brix

Se midió la cantidad de azúcares en los diferentes tratamientos, el control se realizó cada 2 días después de la inoculación. En todos los controles (2, 4, 6, 8, 10, 12, 14 y 16avo día) se realizaron mediciones con gota aplicando 3 repeticiones. El refractómetro de bolsillo se utilizó de acuerdo con el procedimiento AOAC 932.14. Los datos se informaron en porcentajes.

3.4.9. Determinación de los grados de Alcohol

Se tomaron alícuotas desde el día cero y cada 2 días sobre la proporción de alcohol viable presente en todos los tratamientos. Mediante un hidrómetro se evalúa la potencia alcohólica, el cual mide la gravedad específica utilizando el procedimiento AOAC 945.06. La gravedad específica aparente se mide en 50 ml de vino. Se replicó 3 veces en todas las mediciones en ese momento.

Se convierte de alcohol potencial a alcohol manufacturado, debido a que inicialmente de la fermentación se recibe la mayor medida de alcohol potencial, la mayor gravedad específica se debe a los azúcares disueltos en la solución que, luego de convertirse en alcohol, disminuyen durante la fermentación.

3.4.10. Determinación de acidez

Se pipetearon 5 ml de mucílago y se transfirieron a un matraz Erlenmeyer de 250 ml. Luego se agregaron 10 ml de agua destilada y 4 gotas de fenolftaleína. Titular con NaOH 0,1 N hasta que se observe un viraje de color momentáneo. Por último, se registró el número de ml de NaOH consumidos. Este procedimiento se realizó a diferencia de los demás cada 4 días (4, 8, 12 y 16).

3.4.11. Determinación del perfil de azúcares mediante HPLC

Para la cuantificación de los azúcares fermentables presentes en el mucílago de cacao se prepararon diluciones de 1:100 v/v, cada una de las alícuotas se centrifugó a 3000 rpm durante 5 minutos y se pasó por un filtro de jeringa de 0,22 μm del estudio HPLC anterior. A continuación, las muestras y los calibradores se analizaron en un HPLC (Agilent 1100) equipado con un detector de índice de refracción (G-1362A XR RI). Se utilizó una columna SUPERCOGEL C610H.

La temperatura de la columna se fijó en 50°C. Como platina móvil se utilizó H₂SO₄ mM a un caudal de 0,6 mL/min. Cabe recalcar que este proceso se lo realizó en laboratorios AVVE de Ecuador y únicamente a las materias primas frescas de cacao CCN51 y cacao Nacional para comparar su porcentaje de azúcares.

3.4.12. Determinación de las condiciones organolépticas

El análisis organoléptico fue realizado por un panel de cata de 10 integrantes, todos habitantes de la ciudad de Milagro, el tipo de estudio utilizado fue la descripción de propiedades no estructurales de la escala de intervalo. Las muestras de la bebida alcohólicas se codificaron con series numéricas distintas, para garantizar la aleatoriedad y el origen a los catadores. Se aplicó una encuesta de preguntas estructuradas para determinar los atributos olfativos, color, apariencia, aroma, textura y sabor.

Al final de la sesión se recogieron los cuestionarios que contenían los datos de registro de los panelistas. En la Tabla 9 se pueden consultar los límites del estudio sensorial.

Tabla 9: Determinación de las condiciones organolépticas

Factor	Parámetro
Olor	Bebida alcohólica
	Cacao
Color	Café
Apariencia	Turbidez
Sabor	Bebida alcohólica
	Cacao
Textura	Viscosidad
	Espesor
Gusto	Dulce
	Amargo

Fuente: AVECILLAS, 2023

Las categorías mencionadas en la tabla anterior serán juzgadas en una escala de 4 puntos de vista con las siguientes denominaciones:

- 1-Ligeramente
- 2-Moderadamente
- 3-Bastante
- 4-mucho

Posteriormente, se codificaron las muestras empleando 24 códigos: 4269, 5398, 5712, 2015, 4897, 7629, 3383, 9837, 1826, 7269, 7358, 6283; 3784, 2690, 4682, 5218, 5184, 3283, 8325, 2432, 3833, 1945, 3471, 4823. Los cuales fueron sacados de la tabla de números Aleatorios, (Roessler y col, 1956 citado de García, 2015).

Para la degustación del estudio organoléptico de la bebida alcohólica se seleccionaron participantes pertenecientes a la misma ciudad, para la degustación de la bebida obtenida a partir de la baba de cacao, cada participante recibió sus 8 muestras y un vaso de agua, esto se aprovecha para que haya una clara individualidad entre los participantes en la discusión, con el fin de poder dotar a los sentidos y que tengan la oportunidad de captar normalmente todos los parámetros. En la sesión, a cada catador se le obsequiaron 8 muestras diferentes.

3.5. Análisis estadístico

Pruebas estadísticas descriptivas: Se utilizó la prueba de Kruskal-Wallis para evaluar las propiedades organolépticas.

ANOVA: Estudio de varianza para realizar diferencias entre las medias de los tratamientos según las propiedades fisicoquímicas de la bebida alcohólica.

Prueba de Tukey al 5%: Relaciona las medias entre tratamientos cuyo esquema de estudio de varianza se muestra en la tabla 10.

Tabla 10: Análisis estadístico

Fuente de variación (FdV)	Ecuación	Grados de libertad (GdL)
Tratamiento	abc-1	7
Tipo de cacao (a)	a-1	1
Tipo de levadura (b)	b-1	1
Tipo de nutriente (c)	c-1	1
ab	(a-1) (b-1)	1
ac	(a-1) (c-1)	1
bc	(b-1) (c-1)	1
a.b.c	(a-1) (b-1) (c-1)	1
Error Experimental	abc (r-1)	14
Total	a.b.c. r-1	21

Fuente: AVECILLAS, 2023

CAPÍTULO IV: Análisis y discusión de resultados

En este capítulo se analizará los diversos resultados que arrojó la presente investigación, esclareciendo los posibles motivos y comparándolos con la evidencia científica y normativas vigentes. En la tabla 11 se muestran los promedios de las repeticiones de cada parámetro fisicoquímico en cada tratamiento.

Tabla 11: Parámetros fisicoquímicos de la bebida alcohólica

<u>Tratamientos</u>	<u>pH</u>	<u>Grados Brix</u>	<u>Grados alcohólicos</u>
T1	4,12	10,05	11,81
T2	4,61	9,85	10,58
T3	4,23	10,45	11,24
T4	4,46	8,95	11,37
T5	4,51	5,41	8,94
T6	4,28	6,85	7,12
T7	4,16	6,46	8,27
T8	4,49	5,12	8,41
Media	4,36 ^{ns}	7,89 ^{ns}	9,72 ^{ns}
CV	4%	28%	18%

Fuente: AVECILLAS, 2023

4.1. Diagnóstico inicial de los mucílagos

Tabla 12: Diagnóstico inicial de mucílagos

<u>Parámetros</u>	<u>Mucílago de cacao CCN51</u>	<u>Mucílago de cacao nacional</u>
pH	4,12	4,46
Acidez	0,86	0,79
Grados Brix	20	14
Perfil de azúcares		
Fructosa	0,45	0,14
Maltosa	0,22	0,10
Sacarosa	0,87	0,27
Glucosa	0,30	0,00

4.2. Análisis fisicoquímico

4.2.1 Potencial de Hidrogeno (pH)

En la tabla anterior se pueden observar los valores promedios del pH en los diferentes tratamientos. Se evidencia que todos los experimentos mantienen linealidad, es decir no existen diferencias significativas en concordancia de la prueba de Tukey ($p < 0,05$), no obstante, es necesario enfatizar la diferencia encontrada entre el tratamiento 1 (Cacao CCN51; Levadura FERMIVIN 7013 y Nutriente MAXAFERM) y el tratamiento 8 (cacao nacional, Levadura FERMIVIN 4F9 y FERMAID K) ya que los valores de estos son 4.12 y 4.49 y su coeficiente de variación es de 4 %.

Si bien es cierto estos valores superan lo reportado por Álvarez (2011), manifestando que el pH de las fermentaciones alcohólicas oscila entre 3.1 a 4.0. También se puede notar que, aunque esto sucede, los valores del presente estudio se mantienen dentro de lo estipulado por la normativa INEN 389, la misma que especifica que las condiciones óptimas de pH de un vino de frutas fluctúan entre 4 a 5.

También es necesario indicar que el valor de pH del análisis de las materias primas tanto del cacao CCN51 como del nacional es de 3.4 y 3.7 respectivamente por lo que se puede correlacionar con Braudeau (2001), que especifica que las primeras recolecciones del mucílago de cacao presentan una óptima acidez, siendo este pH promedio de 3.5, ya que si este decae podría provocar en las levaduras un efecto negativo en su desarrollo en el proceso de fermentación.

Tabla 13: Factor del pH en el tiempo

Días / Tratamientos	2	4	6	8	10	12	14	16
T1	3,35	3,37	3,42	3,51	3,53	3,72	3,83	3,95
T2	3,28	3,31	3,39	3,52	3,69	3,78	3,88	4,02
T3	3,35	3,46	3,51	3,62	3,82	3,95	4,03	4,15
T4	3,11	3,23	3,48	3,55	3,67	3,70	3,91	3,98
T5	4,15	4,26	4,33	4,41	4,58	4,66	4,71	4,75
T6	3,98	4,02	4,12	4,25	4,33	4,44	4,57	4,71
T7	4,01	4,15	4,19	4,25	4,34	4,58	4,61	4,69
T8	3,82	3,91	3,99	4,07	4,16	4,28	4,36	4,52
Media	3,63 ^{ns}	3,71 ^{ns}	3,80 ^{ns}	3,90 ^{ns}	4,02 ^{ns}	4,14 ^{ns}	4,24 ^{ns}	4,35 ^{ns}
CV	10%	10%	10%	9%	9%	9%	8%	8%

Fuente: Avecillas, 2023

El tiempo es un factor importante en la elaboración del vino, la tabla 13 muestra el comportamiento del pH a medida que pasan los días, sin embargo, estadísticamente hablando, no existe una diferencia significativa según la prueba de Tukey ($p > 0,5$). Aunque se observa un comportamiento más central en el tratamiento 4. En la gráfica se observa como conforme va pasando el tiempo, el pH va en aumento, esto puede deberse a que las levaduras influyen ciertamente en la fermentación, de hecho, es notorio como los tratamientos que se generan con cacao CCN51 tienen una tendencia de pH más baja que los tratamientos con cacao nacional.

Estudios de Vásquez (2007) menciona que el proceso de la fermentación alcohólica es mediado principalmente por *Saccharomyces cerevisiae*, ya que esta permite la conversión de casi el 90 % de la totalidad de azúcares en gas carbónico y principalmente alcohol. También se correlaciona con lo que indica Lambert (2010), el cual declara que la fermentación del cacao se origina en el mucílago, ya que los azúcares encontrados allí, se transforman en alcohol y después en ácido acético.

4.2.2 Concentración de grados Brix

Así mismo en la tabla 11 se observan los promedios de las valoraciones de grados brix de todos los experimentos, en este parámetro no existe tampoco diferencias significativas entre los tratamientos correspondientes al mismo tipo de cacao, sin embargo cuando se comparan tratamientos provenientes de tipos de cacaos distintos si es evidente la diferencia, por ejemplo la comparación del tratamiento 3 con el tratamiento 6 con valores de 10,45 y 6,85. Esto puede indicar que el tipo de cacao si es influyente en la cantidad de azúcares presentes en el mucílago. Un estudio de Wallis (2015) indica que los grados brix de la bebida alcohólica a partir de mucílago cacao CCN51 en condiciones normales oscila entre 10 a 13 % mientras que Linares (2018) denota que los azúcares de las bebidas alcohólicas del mucílago de cacao nacional van de 5 a 9 %.

Además, también se puede observar diferencias notorias entre los tratamientos T3 (Cacao CCN51; FERMIVIN 4F9; MAXAFERM) y T4 (Cacao CCN51; FERMIVIN 4F9 y FERMAID K) y también los tratamientos T7 (Cacao Nacional; FERMIVIN 4F9; MAXAFERM) y T8 (Cacao Nacional; FERMIVIN 4F9; FERMAID K) en ambos casos se puede observar que cuando se usa el nutriente FERMAID K la cantidad de grados brix disminuye respecto a los valores reportados cuando se usa MAXAFERM.

Tabla 14: Factor Tiempo en los grados brix

Días / Tratamientos	2	4	6	8	10	12	14	16
T1	20,5	19,45	17,32	15,28	14,66	12,90	11,54	10,05
T2	20	18,25	16,61	14,80	13,51	11,68	10,53	9,85
T3	20,3	19,28	17,57	15,10	14,31	13,10	11,67	10,45
T4	20	19,45	17,32	15,28	14,66	12,90	11,54	8,95
T5	15,42	13,54	11,44	9,71	8,36	7,28	6,31	5,41
T6	15	13,89	12,25	10,43	8,91	7,66	7,01	6,85
T7	14,5	13,05	11,88	10,28	9,56	8,22	7,49	6,46
T8	15,2	13,81	11,94	9,43	8,23	7,56	6,15	5,12
Media	17,62	16,34	14,54	12,86	11,53	10,16	9,03	7,89
CV	15%	17%	18%	20%	24%	25%	26%	26%

Fuentes: Avecillas, 2023

Al contrario de lo ocurrido con los grados alcohólicos, los grados brix tienden a ir en descenso, ya que los azúcares son la materia prima de la fermentación alcohólica. Se puede observar en la tabla 15 que existe diferencias significativas en los tratamientos con cacao CCN51 (T1-T4) respecto a los tratamientos con cacao nacional (T5-T8), pues los primeros mencionados presentan cantidades de grados brix mayores, esto se correlaciona con la tabla anterior, lógicamente porque si existe mayor cantidad de azúcares, se generará mayor cantidad de alcohol. Vivanco et al (2016) indica que el mucílago de cacao CCN51 produce vinos más dulces comparados con los elaborados con cacao nacional y esto se debe justamente a que la levadura proporcionada metaboliza cierta cantidad de azúcares tal y como lo justifica Balladares (2014).

También es notorio en la tabla anterior que la bebida alcohólica más dulce fue la elaborada mediante el tratamiento 3 usando la levadura FERMAID K y esto se puede relacionar con lo que menciona el fabricante, pues esta levadura se usa para generar vinos más dulces.

4.2.3 Concentración de Grados Alcohólicos

Los valores para el contenido de alcohol se muestran en la Tabla 11. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los tratamientos de Tukey ($p < 0,05$), se encontraron valores de 11,81 y 10,58° para los tratamientos T1 y T12, estos valores concuerdan con los de Marcillo y Meza (2010), quienes afirmaron que el contenido alcohólico del licor de cacao se encontraba entre 7 y 13 °GL pero de acuerdo al análisis realizado, los valores actuales pueden referirse a tratamientos que se encuentran dentro del rango establecido por la norma NTE - INEN 0374. Esto significa que los grados de alcohol mínimo es 5°GL y los grados alcohólicos máximos no debe exceder 18. Cabe señalar que la diferencia en las cifras que muestran se debe a otros factores, como el momento de la liberación de dióxido de carbono (CO_2), esto no fue lo mismo para todos los tratamientos ya que como menciona Vázquez (2007) al instante fermentativo los carbohidratos presentes actuaron de forma diferente, la fermentación alcohólica es una reacción exotérmica desde el punto de vista energético, en la que se libera cierta cantidad de energía, se produce una gran cantidad de dióxido de carbono que es más pesado que el aire. Se pueden crear bolsas para expulsar el oxígeno del recipiente donde se lleva a cabo la fermentación.

La fermentación de los azúcares del mucílago es causada por un continuo de microorganismos (levadura, *lactobacillus*, *acetobacter*) durante las primeras 48 horas se encuentra en una fase anaeróbica (la pulpa no permite la circulación de aire), durante la fermentación de la levadura los azúcares de la pulpa se convierten en alcohol (etanol), la temperatura aumenta (reacción exotérmica), se forma ácido láctico, la pulpa se derrite y gotea y se filtra en el aire. Como el proceso se enfría a 16°C, también se produce una degradación enzimática de los azúcares, lo que puede explicar los diferentes alcoholes obtenidos.

También se puede evidenciar la discordancia entre los grados alcohólicos de los vinos a partir del mucílago de cacao CCN51 y los vinos del cacao nacional, los vinos del primer tipo de cacao tienen un mayor grado alcohólico, esto se debe a que este tipo de cacao presenta mayor contenido de azúcares por lo que la levadura en conjunto a los nutrientes pudo generar mucho más alcohol. Ramírez (2015) menciona que el contenido de azúcares en una fermentación es muy importante a la hora de la generación de alcohol por lo que se demuestra esta premisa.

Tabla 15: Factor Tiempo en los grados alcohólicos

Días / Tratamientos	2	4	6	8	10	12	14	16
T1	0,5	1,30	3,50	5,25	7,45	9,10	10,15	11,81
T2	0,75	1,70	3,10	4,30	6,50	8,20	9,45	10,58
T3	0,7	1,50	3,20	5,50	7,10	9,40	10,50	11,24
T4	0,8	1,35	3,50	5,40	7,50	8,90	10,30	11,37
T5	0,30	1,90	3,20	4,41	5,28	6,45	7,25	8,94
T6	0,35	1,83	2,90	3,75	4,90	5,71	6,60	7,12
T7	0,40	1,60	3,25	4,25	5,60	6,90	7,40	8,27
T8	0,55	1,75	3,15	4,50	5,40	6,28	7,30	8,41
Media	0,54	1,62	3,23	4,67	6,22	7,62	8,62	9,72
CV	33%	13%	6%	13%	16%	18%	18%	17%

Fuentes: Avecillas, 2023

Respecto al comportamiento del factor tiempo como influencia en los grados alcohólicos de la bebida alcohólica usando como materia prima el mucílago de cacao se puede observar que existe una diferencia bastante notoria en los grados de alcohol usando el cacao CCN51 comparado con los grados de alcohol obtenido con el mucílago de cacao nacional, esto puede correlacionarse a un estudio de Wallis et al (2017) en el que menciona que el cacao CCN51 al presentar un porcentaje mayor de azúcares tiende a generar más grados de alcohol en la fermentación alcohólica.

También se puede observar que existe un patrón ascendente en los grados alcohólicos mediante va pasando el tiempo, en todos los tratamientos existe el incremento prolongado de los grados de alcohol conforme va pasando el tiempo, por lo que no se evidencias diferencias significativas entre los tratamientos en la tendencia de aumento de grados alcohólicos. Méndez (2011) indica que uno de los procesos biológicos en el que se realiza sin presencia aeróbica es la fermentación alcohólica, ya que este proceso es mediado por levaduras que son un tipo de microorganismos que convierten los carbohidratos en alcohol, también se correlaciona con el autor cuando menciona que generalmente cada grado de alcohol obtenida en la fermentación se genera aproximadamente con 15 gr de glúcidos presentes en el mucílago.

4.2.4. Análisis sensorial

A continuación, se presentan los resultados promedios condensados sobre el análisis sensorial de los tratamientos en cuestión al olor, color, textura, sabor y gusto. La escala hedónica va del 1 al 4 donde 1 significa ligeramente, 2 moderadamente, 3 bastante y 4 mucho.

Tabla 16: Análisis sensorial

Código	O.B.A	O.C	C.C	A.I	S.B.A	S.C	T.V	T.B	G.D	G.A
T1	3	2	2	2	3	1	1	1	3	1
T2	3	2	1	2	3	2	1	1	3	2
T3	2	2	1	2	3	2	2	1	2	1
T4	3	2	1	2	2	2	2	1	3	1
T5	2	3	1	2	2	2	1	1	2	2
T6	3	3	2	1	3	2	1	1	1	2
T7	3	2	2	2	3	2	1	1	2	2
T8	3	2	2	1	3	1	1	1	2	2
H	10,25 ^{ns}	10,21 ^{ns}	10,48 ^{ns}	10,36 ^{ns}	10,29 ^{ns}	10,61 ^{ns}	10,39 ^{ns}	10,58 ^{ns}	10,12 ^{ns}	10,28 ^{ns}
Pro.	3	2	2	2	3	2	1	1	2	2
Media	2,75	2,25	1,50	1,75	2,75	1,75	1,25	1,00	2,25	1,63

H: Kruskal wallis
O. B.A. Olor Bebida alcohólica
O. C. Olor cacao
C. C. Color café
A. T. Apariencia Turbidez
S. B. A. Sabor Bebida alcohólica
S.C. Sabor cacao
T.V. Textura Viscosa
T.B. Textura Babosa
G.D. Gusto dulce
G.A. Gusto amargo
Ns No significativo
* Significativo
** Altamente significativo

Fuente: AVECILLAS, 2023

4.2.4.1. OLOR

4.2.4.1. A Bebida alcohólica

Según la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0.05$), los resultados obtenidos por los panelistas para las características sensoriales del olor de la bebida alcohólica no difirieron

significativamente entre los tratamientos, obteniendo una puntuación de 2 (la bebida alcohólica tiene un olor moderado) y en los tratamientos T3 y T5 una puntuación de 3 (Bastante olor a bebida alcohólica) es el resto del tratamiento. Este olor se debe a que el azúcar presente en la materia prima se convierte en alcohol junto con las levaduras y los microorganismos, que como nos cuenta Pacheco (2020), fermentan en la pulpa que recubre el grano. El azúcar se convierte en alcohol y luego en ácido acético (similar a la fermentación de las uvas para producir vino y vinagre). Esta diferencia en la presencia nos indicó que, si el alcohol estuviera presente, los panelistas percibirían más olores de bebidas alcohólicas durante ciertos tratamientos.

4.2.4.2. A Cacao

Entre los resultados obtenidos para las características sensoriales del olor a cacao, no mostraron diferencias significativas según la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0.05$). Cabe señalar que a todos los tratamientos se les otorgó una puntuación de 2 (aroma de cacao medio) excepto los tratamientos, esto se debe a que se elabora a partir de mucílagos derivados del cacao, se dice que la fermentación es un aspecto importante en la construcción de la calidad del aroma del cacao, como se indicó anteriormente (Amores, 2009), con la fermentación, la pulpa desaparece, el azúcar que contiene se convierte en alcohol, y casi simultáneamente el alcohol se convierte en ácido acético, que penetra en los cotiledones, y la combinación de aumento de temperatura y muerte por acidez conduce a la muerte embrionaria. , y la descomposición de las membranas celulares mata a las almendras, la mayoría de las cuales polifenoles salen, las proteínas se descomponen en aminoácidos y péptidos, también se producen azúcares reductores, y el último compuesto representa el aroma del cacao. Armijos (2002) también dice que a la etapa de fermentación también se le llama “fermentación” o “cocción” donde el cacao alcanza la calidad requerida para hacer chocolate. Durante este proceso, debido a microorganismos (levaduras y bacterias) y reacciones bioquímicas de oxidación, los azúcares de la pulpa forman ácidos que penetran en los cotiledones, provocando la muerte del embrión y la posterior formación de precursores del aroma del cacao. Se puede evidenciar que los tratamientos 5 y 6 obtuvieron una puntuación de 3 en la percepción del aroma a cacao, esto se correlaciona

con lo mencionado por Escobar et al (2019) en el que indica que el cacao nacional presenta mayor concentración de las moléculas que le dan el aroma característico al cacao.

4.2.4.2. COLOR

4.2.4.2.1. Café

En cuanto a las propiedades organolépticas, según la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0,05$), se obtuvieron resultados marrones para las bebidas alcohólicas, en las que no se encontraron diferencias significativas. Cabe señalar que la mayoría de los métodos de tratamiento (T1, T6, T7 y T8) recibieron una calificación de 2 (marrón medio), el valor bajo (1 punto) lo recibieron los procedimientos T2 al T5, debido al mismo color de las materias primas. se obtiene durante la fermentación debido a los cambios físicos que le dan su color, como mencionan Teneda (2016) y García, (2013), las almendras recolectadas, que son de color blanco, se tornan de color café o almendra café durante la fermentación.

4.2.4.3. APARIENCIA

4.2.4.3.1. Turbidez

Los resultados del perfil sensorial de aspecto borroso no mostraron diferencias significativas mediante la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0,05$). Tenga en cuenta que los tratamientos T6 y T8 recibieron una calificación de borrosidad leve (1 punto), mientras que los tratamientos restantes recibieron una puntuación de 2 (las bebidas alcohólicas tienen una apariencia moderadamente borrosa). La refinación utiliza un filtro de rejilla invertida y se agrega metabisulfito de potasio.

4.2.4.4. SABOR

4.2.4.4.1. A bebida alcohólica

En cuanto al perfil sensorial del sabor de las bebidas alcohólicas, los resultados obtenidos en la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0,05\%$) no mostraron diferencias significativas. Cabe señalar que la mayoría de los tratamientos tienen una calificación de 3 (sabe bastante a bebidas alcohólicas), mientras que el tratamiento que recibe una calificación moderada (2

puntos) son los tratamientos T4 y T5. Este sabor se logra gracias al azúcar de las materias primas, que, junto con la levadura y los microorganismos, se convierte en alcohol, que, según Lagos (2017), fermenta en la pulpa que recubre el grano. El azúcar se convierte en alcohol y luego en ácido acético (similar a la fermentación de las uvas para producir vino y vinagre). Con base en este trabajo, se puede demostrar que la fermentación puede producir bebidas alcohólicas con °GL bajos y altos, dependiendo del tiempo de fermentación.

4.2.4.4.2 A cacao

Según la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0.05$), referente a los resultados obtenidos para el perfil sensorial de sabor a cacao, no mostraron diferencia significativa. Cabe señalar que a todos los tratamientos se les otorgó una calificación de 2 (sabor a cacao moderado) excepto a los tratamientos T1 y T8, este sabor se debe al hecho de que el mucílago es un subproducto del cacao y se cree que la fermentación es un aspecto importante del cacao. Como lo menciona Sol (2016), la estructura de calidad de sabor y aroma del cacao, durante la fermentación la pulpa desaparece, el azúcar que contiene se convierte en alcohol, y casi simultáneamente el alcohol se convierte en ácido acético, que penetra en los cotiledones, y el aumento de la temperatura, combinada con la muerte por acidez, provoca la muerte de los embriones, la ruptura de las membranas celulares y las amígdalas y la muerte de las amígdalas. Algunos polifenoles se filtran, las proteínas se descomponen en aminoácidos y péptidos, el azúcar también produce agentes reductores y este último compuesto refleja el sabor del cacao afectado.

4.2.4.5. Textura

4.2.4.5.1. Viscosa

Los resultados obtenidos para las propiedades sensoriales de la textura viscosidad no mostraron diferencias significativas ($p < 0,05$) tras la prueba de Kruskal Wallis. Cabe señalar que la mayoría de los tratamientos dieron una puntuación de 1 (ligeramente viscoso), y el tratamiento que alcanzó el valor medio (2) fueron los tratamientos T3 y T4. Esto se debe a que la materia prima es viscosa y, después de la fermentación, se convierte en alcohol y la viscosidad disminuye ligeramente. Como comentó Rodríguez et al (2016), la pulpa es viscosa porque contiene pectina y otros polisacáridos, que también inhiben la difusión del

aire. La viscosidad en el análisis sensorial se mide por el gusto, las yemas de los dedos y la visión según cada prueba de sabor.

4.2.4.5.2 Babosidad

Los resultados obtenidos para las características sensoriales de la textura no mostraron diferencias significativas según la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0.05$). Cabe señalar que todos los tratamientos fueron calificados con 1 (textura ligeramente viscosa), lo que muestra que la intensidad del espesor viscoso fue la misma para todos los tratamientos durante la fermentación. Hay que tener en cuenta que las bebidas alcohólicas están hechas de mucílago (mucílago), que tiene una textura pegajosa, y la fermentación reduce el contenido de azúcar de la materia prima. Según López (2018), las levaduras poseen enzimas del tipo "pectolíticas" que les permiten hidrolizar la pectina, lo que resulta en una reducción de la viscosidad de la suspensión mucoide y promueve la incorporación de aire. Este ambiente aeróbico y menos ácido, debido al consumo de ácido cítrico, promueve el crecimiento de bacterias del ácido acético.

4.2.4.6. Gusto

4.2.4.6.1. Dulce

Los resultados obtenidos para el perfil sensorial del dulzor de las bebidas alcohólicas no mostraron diferencias significativas según la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0.05$). Se muestra que la mayoría de los tratamientos puntuaron 2 (dulzor medio), los tratamientos T1, T2 y T4 recibieron puntuaciones de 3 puntos debido a que se generaron vinos dulces por la concentración de azúcares presentes en el mucílago de cacao CCN51, sin embargo, los tratamientos a base de cacao nacional obtuvieron puntajes de 2 mayoritariamente, esto se debe a que el 90 % del azúcar en los azúcares crudos y agregados se convierte en alcohol y dióxido de carbono. Según García (2013), el azúcar residual, el alcohol y la glicerina endulzan el vino.

4.2.4.6.2. Amargura

Los resultados obtenidos para el perfil sensorial sabor amargo de las bebidas alcohólicas no fueron significativamente diferentes por la prueba de Kruskal Wallis ($p < 0.05$). Nótese que la mayoría de los tratamientos dieron una puntuación de 2 (amargor alcohólico moderado), mientras que los tratamientos que recibieron un valor significativamente menor (1 punto) fueron T1, T3 y T4, debido a que el 90% del azúcar en la materia prima y los dos azúcares agregados se convierten al alcohol y al CO₂ (Vera et al, 2020). Martínez (2002). El amargo común, dice, es un producto de la fermentación, y describir su sabor es imaginar una bebida viscosa que es amarga y dulce y al mismo tiempo, volviéndose espumosa como producto de la fermentación. Pezo (2015) también comentó que su presencia es más normal e influyente que las sustancias salinas. Dependiendo de su contenido, puede dar al vino un sabor ligeramente amargo, favorecer un vino agradable y delicado, o darle demasiado sabor, lo que puede tener un efecto negativo en el vino. El amargor es causado principalmente por los polifenoles del vino. El amargor puede verse influenciado tanto por la variedad de uva como por el sistema de producción.

CAPÍTULO V: Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

Con la presente investigación se logró diagnosticar los parámetros fisicoquímicos del mucílago del cacao CCN51 y nacional pH 4.12 y 4.46, acidez 0,86 y 0,79, Grados Brix 20 y 14 respectivamente, además se pudo evidenciar que el mucílago de cacao CCN51 tiene mayor contenido glúcido que el cacao nacional y por consiguiente una mayor cantidad de grados Brix.

2. Se analizó los parámetros de calidad de los tratamientos delimitados tanto en el producto final como en el proceso de fermentación del mosto, en el que se modificaban el tipo de cacao (cacao CCN51 y nacional) el tipo de levadura (Levadura FERMIVIN 7013 y FERMIVIN 4F9) y la utilización de diferentes nutrientes (FERMAID K Y MAXAFERM), la prueba de tukey ($p < 0,05$) indicó que no existe diferencias significativas entre los tratamientos en el producto final ni en el proceso de fermentación. El mayor pH (4,61) lo obtiene T2 mientras que el menor (4,12) lo obtiene T1, respecto a los grados brix el resultado mayor fue del T3 (10,45) y el menor lo obtuvo T8 (5,12) y en el caso de los grados alcohólicos el mayor lo obtuvo T1 (11,81) y el menor fue del T6 (7,12).

3. Se determinó el tratamiento de mayor aceptación sensorial en base a un criterio hedónico mediante un panel de jueces no entrenados, de los culés los catadores pudieron evidenciar que las bebidas tenían un olor a bebida alcohólica moderado, presentaba sabor y aroma ligeramente a cacao, coloración marrón, apariencia ligeramente con turbidez, gusto dulce para los tratamientos de CCN51 y ligeramente amargo para los de cacao nacional y una textura ligeramente viscosa. El tratamiento que generó más aceptación en los jueces fue T1 por lo que se cumple la hipótesis planteada.

5.2. Recomendaciones

Impulsar proyectos que favorezcan la economía circular con desechos de otros productos agrícolas como el banano para aprovechar esas materias y generar nuevos productos.

Cambiar la matriz del diseño del experimento para tomar en cuenta nuevas variables no contempladas en esta investigación.

Realizar tratamientos con otras levaduras, nutrientes y clarificantes no contemplados en esta investigación.

Bibliografía

- Arciniega-Alvarado, G. A., & Espinoza-León, R. A. (2020). Optimización de una bebida a base del Mucílago del Cacao (*Theobroma cacao*), como aprovechamiento de uno de sus subproductos. *Domino de las Ciencias*, 6(3), 310-326.
- BRAVO, C., & CECIBEL, T. (2017). VINO DE CACAO: UNA PROPUESTA NOVEDOSA PARA LA UTILIZACIÓN DE LOS DESECHOS DEL CACAO (Doctoral dissertation).
- Corrales, A. V. D., Leiva, Y. M. C., & Lazo, Z. M. M. (2015). Evaluación y determinación de la producción de vino y alcohol a partir de exudado de cacao, cooperativa multifuncional cacaotera la campesina RL, del municipio de Matiguás en el departamento de Matagalpa. *Revista Ciencia y Tecnología El Higo*, 5(1), 2-16.
- de la Maza, L. L., de Cárdenas, L. Z., & Ones, O. P. (2019). Análisis de componentes principales aplicado a la fermentación alcohólica. *Revista Científica de la UCSA*, 6(2), 11-19.
- Egas Chávez, M. A. (2015). Evaluación y análisis técnico financiero del proceso de prensado de licor de cacao (*Theobroma cacao*) para la obtención de manteca y polvo de cacao. Quito, 2015.
- Escobar, Á. O. F., Trejo, G. C. H., Reyna, V. R. V., Soto, N. R. V., & Fuentes, J. A. M. (2021). Elaboración de Licor Añejo con Almendras de Cacao Nacional (*Theobroma cacao* L.) residual de la clasificación para exportación. *Revista Ingenio*, 4(2), 37-48.
- Escobar-Osorio, D. R., Juárez-Panzo, M., Martínez-López, B. Y., Romero-Cortes, T., Cuervo-Parra, J. A., Tirado-Gallegos, J. M., ... & Morales-Ovando, M. A. (2019). Producción de etanol a partir de jugo de mucílago de cacao (*Theobroma cacao*) como subproducto de la fermentación. VI ENCUENTRO INTERNACIONAL SOBRE BIOTECNOLOGÍA EN LA UAT, 1-4.

- Espinoza Vaca, H. A., & Mendieta García, E. F. (2018). Efectos de la fermentación láctica del lactosuero y alcohólica del mucílago de cacao en la concentración final de una bebida alcohólica (Calceta: ESPAM MFL).
- Estrella, Y. A. (2013). Estudio del desperdicio del mucilago de cacao en el cantón Naranjal (Provincia del Guayas). *ECA sinergia*, 4(1), 49-59.
- Fernández Sánchez, P. A., Fillol Mazo, A., & Gallego Hernández, A. C. (2021). La Organización Internacional del Cacao. *Divulgamérica. Cuadernos de divulgación científica del IEAL*, 5, 1-10.
- Fuentes, L. F. Q., Pinilla, M. G., & Mendoza, L. J. (2014). Estandarización de la fase de fermentación “fase i” en la obtención de un licor de mandarina utilizando levadura “*Saccharomyces cerevisiae*”. *Publicaciones e Investigación*, 8, 139-149.
- García, S. V., & Moreta, F. A. (2013). Optimización y aprovechamiento del residuo (exudado del mucílago) de la almendra fresca del cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN51 en la elaboración de vinagre. *Tsafiqui-Revista Científica en Ciencias Sociales*, (4), 7-19.
- Gordillo-Vinueza, G. G., Narváez-García, A., Aguilar-Carrera, J. O., & Ferriol-Sánchez, F. (2022). Desarrollo, producción y análisis de bebidas alcohólicas destiladas empleando diez tipos de frutas autóctonas ecuatorianas. *Polo del Conocimiento*, 7(6), 267-280.
- Goya Baquerizo, M. J. (2013). Obtención de una bebida alcohólica a partir de mucílago de cacao, mediante fermentación anaerobia en diferentes tiempos de inoculación
- INEC. (2020). Cacao. Recuperado de: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/>
- KATHERINE, V. V. A. (2022). EFECTO DEL TIEMPO DE FERMENTACIÓN Y DOS TIPOS DE LEVADURAS EN BEBIDA ALCOHÓLICA DE LA PLACENTA DE CACAO (*Theobroma cacao*) (Doctoral dissertation, UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR).

- Lagos Narváez, J. F. (2017). Identificación y caracterización de levaduras fermentadoras de cacao (*Theobroma cacao*) provenientes de centros de acopio de dos localidades del Ecuador. PUCE
- López Salcedo, D. (2003). Análisis sectorial y caracterización del mercado para la introducción de un nuevo chocolate para mesa a base de cacao y harina de plátano.
- López, J. A. R., & Guncay, I. G. T. (2018). Calidad físico química y sensorial de granos y licor de cacao (*Theobroma Cacao L.*) Usando cinco métodos de fermentación. *Revista Científica Agroecosistemas*, 6(1), 115-127.
- NICOLE, C. A. D. (2020). Influencia del tiempo de fermentación sobre una bebida alcohólica con mucílago de cacao (*theobroma cacao*) y maracuyá (*Passiflora edulis*) (Doctoral dissertation, Universidad Agraria del Ecuador).
- Noboa, J. W. D., Soler, J., & Peña, J. Á. (2018). Optimización de la producción de bioetanol en procesos fermentativos del mucílago de Cacao CCN-51 en un biorreactor tipo batch. *Jornada de Jóvenes Investigadores del I3A*, 6.
- Otárola Gamarra, A. (2018). Efecto de la enzima pectolítica y levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en la fermentación y calidad del cacao var. criollo (*Theobroma cacao*).
- Pacheco Huachaca, N. C., & Trujillo Domínguez, J. J. (2019). Obtención de etanol por fermentación alcohólica a partir del exudado de la pulpa de cacao (*Theobroma cacao L.*).
- Pacheco Uribe, D. Y. (2020). Obtención de una bebida alcohólica a partir del mucilago de cacao en finca del Urabá.
- Pájaro-Escobar, H. A., Benedetti, J., & García-Zapateiro, L. A. (2018). Caracterización Físicoquímica y Microbiológica de un Vino de Frutas a base de Tamarindo (*Tamarindus indica L.*) y Carambola (*Averrhoa carambola L.*). *Información tecnológica*, 29(5), 123-130.

- Pezo Vargas, R. E. (2015). Utilización de cepas genéricas (*saccharomyces cerevisiae*) en mucilago de cacao (*Theobroma Cacao* L.) ccnn-51 para obtener etanol por destilación fraccionada.
- Pilligua, R. L., Barre-Zambrano, R. L., Mendoza-González, A. E., Lavayen-Delgado, E., & Mero-Santana, R. (2021). Influencia del mucilago de cacao (*Theobroma cacao*) en las características fisicoquímicas y sensoriales de la cerveza artesanal. *Revista ESPAMCIENCIA* ISSN 1390-8103, 12(1), 25-32.
- Puerta, G. I., Marín, J., & Osorio, G. A. (2015). Microbiología de la fermentación del mucílago de café según su madurez y selección.
- Quimbita Caiza, F. A., & Rodríguez Manrique, P. A. (2016). Aprovechamiento del exudado y la placenta del cacao (*Theobroma cacao*) para la producción de una bebida alcohólica de baja concentración y elaboración de néctar. Quito, 2008
- Quimbita, F., Rodríguez, P., & Vera, E. (2013). Uso del exudado y placenta del cacao para la obtención de subproductos. *Revista Tecnológica-ESPOL*, 26(1).
- Revista mexicana de ciencias agrícolas, 7(SPE14), 2817-2830. Guerra Medina, A. D. L. M. (2020). Estableciendo las características del mercado potencial de productos elaborados con cacao. Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencias Administrativas. Carrera de Marketing y Gestión de Negocios.).
- Rodríguez, W. M., Torres, C. V., Bósquez, P. D. S., Navarrete, Y. T., Chang, J. V., & Cedeño, E. D. A. (2016). Mejoramiento de las características físico-químicas y sensoriales del cacao CCN51 a través de la adición de una enzima y levadura durante el proceso de fermentación. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología*, 5(2), 169-181.
- Rojas Sosa, J. M., & Rojas Manayay, E. D. (2018). Aprovechamiento del mucílago de cacao (*Theobroma cacao*) en la formulación de una bebida no alcohólica.

- Sol Sánchez, Á., Naranjo González, J. A., Córdova Avalos, V., Ávalos de la Cruz, D. A., & Zaldívar Cruz, J. M. (2016). Caracterización bromatológica de los productos derivados de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la Chontalpa, Tabasco, México.
- Teneda Llerena, W. F. (2016). Mejoramiento del Proceso de Fermentación del Cacao. (*Theobroma cacao* L.) Variedad Nacional y Variedad CCN51.
- Vázquez, H. J., & Dacosta, O. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *Ingeniería, investigación y tecnología*, 8(4), 249-259.
- Velásquez, J. C. G., Vargas, A. R., Vargas, D. A. R., & Romero, J. M. V. (2021). Elaboración de una bebida fermentada tipo aperitivo a partir de mucilago de cacao variedades Santander. *Revista Sennova: Revista del Sistema de Ciencia, Tecnología e Innovación*.
- Vera-Loor, J. E., Cedeño-Palacios, N. B., & Mera-Vélez, S. A. (2020). Elaboración de vinagre de vino a partir del mucílago y exudado de cacao criollo (*teobroma cacao* l.): Artículo de revisión bibliográfica. *Revista Científica INGENIAR: Ingeniería, Tecnología e Investigación*. ISSN: 2737-6249., 3(6), 2-13.

Anexos

ANEXO 1. Resultados de los análisis de Grados Brix realizados a la materia prima en fresco.

PRODUCTO FRESCO - GRADOS BRUX						
Tratamientos	R1	R2	R3	Suma	Promedio	
T1	20	20	20	80	20	
T2	20	20	20	80	20	
T3	20	20	20	80	20	
T4	20	20	20	80	20	
T5	14	14	14	56	14	
T6	14	14	14	56	14	
T7	14	14	14	56	14	
T8	14	14	14	56	14	
Suma	136	136	136	136		
Promedio	17	17	17	17		

ANEXO 2. Valoraciones numéricas de la repuesta de los análisis de Grados Brix realizados a la bebida alcohólica.

PRODUCTO FINAL - GRADOS BRUX						
Tratamientos	R1	R2	R3	Suma	Promedio	
T1	10.00	10.10	10.10	10.00	40.20	10.05
T2	9.90	9.80	9.75	9.95	39.40	9.85
T3	10.40	10.50	10.45	10.45	41.80	10.45
T4	8.90	8.90	9.00	9.00	35.80	8.95
T5	5.42	5.40	5.42	5.39	21.63	5.41
T6	6.85	6.80	6.85	6.88	27.38	6.85
T7	6.43	6.49	6.42	6.48	25.82	6.46
T8	5.15	5.09	5.12	5.13	20.49	5.12
Suma	63.05	63.08	63.11	63.28		
Promedio	7.88	7.89	7.89	7.91		

ANEXO 3. Valoraciones numéricas de la repuesta de los análisis de pH realizados a la materia prima.

PRODUCTO FRESCO - pH						
Tratamientos	R1	R2	R3	Suma	Promedio	
T1	4,12	4,12	4,12	4,12	16,48	4,12
T2	4,12	4,12	4,12	4,12	16,48	4,12
T3	4,12	4,12	4,12	4,12	16,48	4,12
T4	4,12	4,12	4,12	4,12	16,48	4,12
T5	4,46	4,46	4,46	4,46	17,84	4,46
T6	4,46	4,46	4,46	4,46	17,84	4,46
T7	4,46	4,46	4,46	4,46	17,84	4,46
T8	4,46	4,46	4,46	4,46	17,84	4,46
Suma	34,32	34,32	34,32	34,32		
Promedio	4,29	4,29	4,29	4,29		

ANEXO 4. Valoraciones numéricas de la repuesta de los análisis de pH realizados a la bebida alcohólica.

PRODUCTO FINAL - pH						
Tratamientos	R1	R2	R3	suma	Promedio	
T1	4.11	4.13	4.13	4.12	16.49	4.12
T2	4.59	4.64	4.60	4.62	18.45	4.61
T3	5.06	5.10	5.08	5.06	20.30	5.08
T4	4.50	4.43	4.46	4.45	17.84	4.46
T5	4.50	4.52	4.51	4.52	18.05	4.51
T6	4.30	4.26	4.29	4.25	17.10	4.28
T7	4.14	4.18	4.15	4.15	16.62	4.16
T8	4.50	4.49	4.49	4.48	17.96	4.49
Suma	35.70	35.75	35.71	35.65		
<u>Promedio</u>	<u>4.46</u>	<u>4.47</u>	<u>4.46</u>	<u>4.46</u>		

ANEXO 5. Valoraciones numéricas de la repuesta de los análisis de Grados alcohólicos realizados al producto final.

PRODUCTO FINAL - GRADOS ALCOHOLICOS						
Tratamientos	R1	R2	R3	Suma	Promedio	
T1	11.88	11.79	11.82	11.76	47.25	11.81
T2	10.59	10.60	10.55	10.56	42.30	10.58
T3	11.25	11.25	11.23	11.24	44.97	11.24
T4	11.34	11.37	11.39	11.39	45.49	11.37
T5	8.98	8.94	8.93	8.92	35.77	8.94
T6	7.13	7.11	7.12	7.13	28.49	7.12
T7	8.33	8.27	8.24	8.25	33.09	8.27
T8	8.40	8.42	8.42	8.41	33.65	8.41
Suma	77.90	77.75	77.70	77.66		
Promedio	9.74	9.72	9.71	9.71		

ANEXO 6. Resultados organolépticos del olor a bebida alcohólica.

CATADORES														
Código	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Suma	Promedio	Des. Estándar	CV(%)
T1	1	3	3	2	2	4	3	3	2	2	25	2.5	0.85	34.0
T2	2	3	3	1	3	2	4	3	3	3	27	2.7	0.82	30.5
T3	3	3	2	2	3	3	2	2	2	2	24	2.4	0.52	21.5
T4	2	3	2	3	3	3	3	3	2	2	26	2.6	0.52	19.9
T5	3	3	1	2	2	3	3	2	2	2	23	2.3	0.67	29.3
T6	3	2	2	4	4	3	3	3	2	2	28	2.8	0.79	28.2
T7	3	2	2	4	2	4	3	2	3	2	27	2.7	0.82	30.5
T8	2	3	2	2	3	4	3	3	3	3	28	2.8	0.63	22.6

ANEXO 7. Resultados organolépticos del olor a cacao.

CATADORES														
Código	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Suma	Promedio	Des. Estándar	CV (%)
T1	2	3	3	3	2	3	2	2	2	1	23	2.3	0.67	29.3
T2	2	3	3	2	2	2	4	3	1	2	24	2.4	0.84	35.1
T3	1	1	3	2	2	2	2	2	1	1	17	1.7	0.67	39.7
T4	1	3	3	3	1	2	2	2	2	1	20	2	0.82	40.8
T5	2	3	3	3	3	3	2	2	3	3	27	2.7	0.48	17.9
T6	2	3	3	2	2	2	3	3	3	3	26	2.6	0.52	19.9
T7	1	3	3	3	2	2	3	2	3	1	23	2.3	0.82	35.8
T8	1	3	3	2	1	2	3	2	2	1	20	2	0.82	40.8

ANEXO 8. Resultados organolépticos del color café de la bebida alcohólica.

CATADORES														
Código	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Suma	promedio	Des. Estándar	CV(%)
T1	1	2	3	1	2	2	1	2	1	1	16	1.6	0.7	43.7
T2	1	2	3	1	1	1	1	1	1	2	14	1.4	0.7	49.9
T3	1	1	1	1	1	2	1	1	1	2	12	1.2	0.42	35.1
T4	1	2	1	1	1	1	1	1	1	1	11	1.1	0.32	28.7
T5	1	1	2	2	1	1	1	2	1	2	14	1.4	0.52	36.9
T6	1	3	2	3	2	2	1	1	1	3	19	1.9	0.88	46.1
T7	1	2	1	2	1	2	2	1	1	3	16	1.6	0.7	43.7
T8	1	2	3	2	3	2	1	1	1	2	18	1.8	0.79	43.8

ANEXO 9. Resultados organolépticos de la apariencia respecto a la turbidez de la bebida alcohólica.

CATADORES														
Código	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Suma	Promedio	Des. Estándar	CV %
T1	1	2	2	2	1	3	2	2	1	2	18	1.8	0.63	35.1
T2	1	2	1	2	2	3	1	1	1	2	16	1.6	0.7	43.7
T3	1	3	2	1	3	1	2	2	1	2	18	1.8	0.79	43.8
T4	1	1	2	2	2	2	1	2	1	2	16	1.6	0.52	32.3
T5	1	1	2	1	1	2	2	3	2	1	16	1.6	0.7	43.7
T6	1	2	2	1	1	1	1	1	1	2	13	1.3	0.48	37.2
T7	1	1	3	2	1	2	1	1	1	2	15	1.5	0.71	47.1
T8	1	1	2	1	1	2	1	1	1	2	13	1.3	0.48	37.2

ANEXO 10. Resultados organolépticos del sabor a bebida alcohólica.

CATADORES														
Código	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Suma	Promedio	Des. Estándar	CV (%)
T1	3	3	3	1	2	3	4	2	2	3	26	2.6	0.84	32.4
T2	3	2	3	3	3	4	4	4	2	2	30	3	0.82	27.2
T3	3	2	3	4	4	3	3	3	2	2	29	2.9	0.74	25.4
T4	3	2	2	3	3	3	2	2	2	2	24	2.4	0.52	21.5
T5	3	2	1	3	2	3	3	2	2	2	23	2.3	0.67	29.3
T6	3	4	2	2	2	4	3	2	2	2	26	2.6	0.84	32.4
T7	2	2	2	3	4	4	3	3	2	3	28	2.8	0.79	28.2
T8	3	2	2	2	4	4	2	2	2	3	26	2.6	0.84	32.4

ANEXO 11. Resultados organolépticos del sabor a cacao de la bebida alcohólica.

CATADORES														
Código	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Suma	Promedio	Des. Estándar	CV (%)
T1	1	2	1	1	1	1	2	1	1	1	12	1.2	0.42	35.1
T2	1	2	3	3	1	3	4	2	1	1	21	2.1	1.1	52.4
T3	2	2	3	2	1	3	3	2	1	1	20	2	0.82	40.8
T4	3	2	2	2	3	3	3	2	1	1	22	2.2	0.79	35.9
T5	1	2	1	1	3	3	2	2	1	1	17	1.7	0.82	48.4
T6	1	3	2	1	2	3	3	2	1	1	19	1.9	0.88	46.1
T7	1	3	2	1	3	2	2	2	3	1	20	2	0.82	40.8
T8	1	2	1	1	1	1	2	1	2	1	13	1.3	0.48	37.2

ANEXO 12. Resultados organolépticos de la Textura respecto a la viscosidad de la bebida alcohólica.

CATADORES														
Código	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Suma	Promedio	Des. Estándar	CV (%)
T1	1	1	2	1	2	1	2	1	1	2	14	1.4	0.52	36.9
T2	1	1	2	1	1	2	2	1	1	2	14	1.4	0.52	36.9
T3	1	1	2	1	3	2	2	1	1	2	16	1.6	0.7	43.7
T4	1	1	2	2	1	2	2	2	1	2	16	1.6	0.52	32.3
T5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	10	1	0	0.0
T6	1	1	1	2	1	1	1	1	1	2	12	1.2	0.42	35.1
T7	1	1	2	1	2	2	1	1	1	2	14	1.4	0.52	36.9
T8	1	2	2	1	1	2	1	1	1	1	13	1.3	0.48	37.2

ANEXO 13. Resultados organolépticos de la Textura babosa de la bebida alcohólica.

CATADORES														
Código	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Suma	Promedio	Des. Estándar	CV (%)
T1	1	1	2	1	2	2	1	1	1	1	13	1.3	0.48	37.2
T2	1	2	2	1	1	1	1	1	2	1	13	1.3	0.48	37.2
T3	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	12	1.2	0.42	35.1
T4	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	12	1.2	0.42	35.1
T5	1	1	2	2	1	1	1	1	1	1	12	1.2	0.42	35.1
T6	1	1	1	2	1	2	1	1	2	1	13	1.3	0.48	37.2
T7	1	2	1	1	2	1	1	2	2	1	14	1.4	0.52	36.9
T8	1	1	1	1	1	1	1	2	2	2	13	1.3	0.48	37.2

ANEXO 14. Resultados organolépticos del gusto dulce de la bebida alcohólica.

CATADORES														
Código	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Suma	Promedio	Des. Estándar	CV (%)
T1	1	3	4	4	4	4	4	3	2	3	32	3.2	1.03	32.3
T2	1	4	2	2	4	2	4	4	4	1	28	2.8	1.32	47.0
T3	1	2	3	2	3	2	2	3	1	1	20	2	0.82	40.8
T4	1	3	1	3	3	4	3	4	1	4	27	2.7	1.25	46.4
T5	1	1	1	2	3	1	3	2	2	2	18	1.8	0.79	43.8
T6	1	3	2	1	1	1	3	1	2	1	16	1.6	0.84	52.7
T7	1	3	1	1	1	1	1	2	1	1	13	1.3	0.67	51.9
T8	1	3	1	1	3	1	4	1	1	1	17	1.7	1.16	68.2

ANEXO 15. Resultados organolépticos del gusto amargo de la bebida alcohólica.

CATADORES														
Código	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Suma	Promedio	Des. Estándar	CV (%)
T1	1	1	1	2	2	1	1	1	2	2	14	1.4	0.52	36.9
T2	2	1	1	2	3	3	3	2	4	1	22	2.2	1.03	46.9
T3	2	1	1	2	1	2	1	1	1	2	14	1.4	0.52	36.9
T4	2	2	1	1	1	2	2	1	1	1	14	1.4	0.52	36.9
T5	4	2	1	2	1	1	3	1	3	1	19	1.9	1.1	57.9
T6	2	3	3	2	1	2	3	1	4	2	23	2.3	0.95	41.2
T7	3	2	2	2	3	2	3	1	3	1	22	2.2	0.79	35.9
T8	1	2	3	1	3	1	4	2	3	2	22	2.2	1.03	46.9

ANEXO 16. Análisis de varianza para la variable PH

F. TABLA

F.V.	SC	GI	CM	F	5%	1%	Significancia
Tratamientos	0,58	7	0,05	1,21	2,42	3,17	ns
Factor T	0,25	1	0,25	5,48	4,33	7,51	ns
Factor M	0	1	0	0,03	2,95	5,27	ns
Factor L	0	1	0	0,02	4,41	7,15	ns
Factor T*Factor M	0,27	1	0,01	0,13	3,78	5,34	ns
Factor T*Factor L	0,06	1	0,06	1,29	4,51	7,23	ns
Factor M*Factor L	0,14	1	0,13	1,36	3,28	5,49	ns
Factor T*Factor M*Fac..	0,06	1	0,04	0,49	3,81	5,14	ns
Error	1,14	16	0,05				
Total	2,5	23					
DMS Tukey	0,07						

Ns No significativo
 * Significativo
 ** Altamente significativo

ANEXO 17. Análisis de varianza para la variable Grados Brix

F. TABLA

F.V.	SC	GI	CM	F	5%	1%	Significancia
Modelo	5,36	7	0,42	0,51	2,19	3,15	ns
Factor T	1,19	1	1,39	1,47	4,26	7,77	ns
Factor M	0,67	1	0,25	0,39	3,12	5,48	ns
Factor L	0,2	1	0,2	0,23	4,91	7,32	ns
Factor T*Factor M	2,36	1	1,18	1,2	3,40	5,61	ns
Factor T*Factor L	0,16	1	0,16	0,33	4,15	7,68	ns
Factor M*Factor L	0,22	1	0,11	0,11	3,40	5,61	ns
Factor T*Factor M*Fac..	0,45	1	0,27	0,46	3,59	5,14	ns
Error	19,48	16	0,69				
Total	28,41	23					
DMS Tukey	0,69						

Ns No significativo
 * Significativo
 ** Altamente significativo

ANEXO 18. Análisis de varianza para la variable Grados alcohólicos

F. TABLA

F.V.	SC	GI	CM	F	5%	1%	Significancia
Modelo	67,34	7	4,56	0,71	1,15	2,48	ns
Factor T	31,38	1	31,16	5,3	3,37	6,39	*
Factor M	21,61	1	11,32	1,72	2,54	4,18	ns
Factor L	2,67	1	2,65	0,62	4,73	7,47	ns
Factor T*Factor M	9,95	1	4,78	1,11	3,12	5,32	ns
Factor T*Factor L	7,18	1	7,19	1,32	4,53	7,45	ns
Factor M*Factor L	2,32	1	1,48	0,25	2,40	5,21	ns
Factor T*Factor M*Fac..	19,41	1	9,62	2,41	3,21	5,86	ns
Error	91,63	16	3,3				
Total	185,64	23					
DMS Tukey	1,26						

Ns No significativo
 * Significativo
 ** Altamente significativo

ANEXO 19. Hoja de trabajo

Catadores: 10

Identificación de la muestra

	(1, 3, 5, 7, 9)	(2, 4, 6, 8, 10)
T1 =	4269	- 1826
T2 =	5398	- 7269
T3 =	5712	- 7358
T4 =	2015	- 6283
T5 =	4897	- 3784
T6 =	7629	- 2690
T7 =	3383	- 4682
T8 =	9837	- 5218

ANEXO 20. Códigos asignados a los panelistas

Numero de panelistas con su respectiva orden de presentación

	1	2	3	4	5	6	7	8
1	4269	5398	5712	2015	4897	7629	3383	9837
2	1826	7269	7358	6283	3784	2690	4682	5218
3	4269	5398	5712	2015	4897	7629	3383	9837
4	1826	7269	7358	6283	3784	2690	4682	5218
5	4269	5398	5712	2015	4897	7629	3383	9837
6	1826	7269	7358	6283	3784	2690	4682	5218
7	4269	5398	5712	2015	4897	7629	3383	9837
8	1826	7269	7358	6283	3784	2690	4682	5218
9	4269	5398	5712	2015	4897	7629	3383	9837
10	1826	7269	7358	6283	3784	2690	4682	5218

ANEXO 21: Hoja de respuesta

Prueba Descriptiva de características no Estructurales y Aceptación

Nombre: _____ Fecha: _____

Producto: Bebida Alcohólica del mucilago de

cacao INDICACIONES GENERAL

En frente de usted tiene 12 muestras de las cuales se recomienda que pruebe las veces que sea necesario tomando agua, para que pueda marcar apropiadamente en el cuadro que crea conveniente.

Ligeramente

Mucho

CODIGO: _____

1) **OLOR**

- Bebida Alcohólica
- Cacao

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

2) **COLOR**

- Café

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------

3) **APARIENCIA**

- Turbidez

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
--------------------------	--------------------------	--------------------------	--------------------------

4) **SABOR**

- Bebida Alcohólica
- Cacao

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

5) **TEXTURA**

- Viscosidad
- Babosa

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

6) **GUSTO**

- Dulce
- Amargo

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Se le agradece por su colaboración y como último punto para terminar esta prueba le pido de favor que escriba el código de la muestra que más le gustoe indique cual es la cualidad que le gusto más.

CODIGO: _____

Sugerencias: -----

DINEMA

ANEXO 22. FOTOGRAFÍAS







W
E
S
D

ANEXO 23 – ANÁLISIS EXTERNOS

INFORME DE ENSAYOS

Fecha de Informe:	28/12/2022	Orden:	6008	Informe:	5345-22	Página:	1/1
-------------------	------------	--------	------	----------	---------	---------	-----

INFORMACION DEL CLIENTE:							
Nombre:	AVECILLAS GUZMAN JOSE MANUEL						
Dirección:	HUMBERTO CENTENARO Y CESAR GARCÍA (MILAGRO)						
Teléfono:	0994029511	Persona de Contacto:	Q.F. JOSÉ MANUEL AVECILLAS	E. Mail:	josemanuelavecillas@hotmail.es		

DATOS DE LA MUESTRA							
Tipo de Muestra:	CACAO Y DERIVADOS			Fecha de Recepción:	19/12/2022		
Tipo de Producto:	CACAO			Cód. de Laboratorio:	CD-C-23-19-12-22		
Cantidad Recibida:	1 de 200ml			Muestreo:	Realizado por el cliente		
Condición:	Normales, Envase plástico						

INFORMACION PROPORCIONADA POR EL CLIENTE							
Nombre:	MUCILAGO CCN51						
Fecha de Elab.:	--			Fecha de Exp.:	--		
Contenido Declarado:	--	Lote:	--	Forma de conservación:	Ambiente		
Presentaciones:	--						
Material de envase:	--						

RESULTADOS								
ANÁLISIS QUÍMICOS								
Fecha de Análisis:	21/12/2022 - 27/12/2022			Página R 38-5.10:	23212 ; 4/HPLC-70-22			
Condiciones ambientales:	--			Temperatura:	22°C - 33°C		Humedad Relativa:	24% - 62%
Contenido Encontrado:	--							
Parámetros	Unidad	Resultados	Requisitos	Técnica	Método de Referencia			
Acidez exp. Ác cítrico	g/100g	0,86	--	Volumétrico	MMQ-166 AOAC 21TH 2019, 950.15 MODIFICADO			
Perfil de Azúcares								
Fructosa	g/100g	0,14	--	Cromatografía Líquida/ Índice de Refracción	MMQ-HPLC-08			
Glucosa	g/100g	0,10	--	Cromatografía Líquida/ Índice de Refracción	MMQ-HPLC-08			
Sacarosa	g/100g	0,27	--	Cromatografía Líquida/ Índice de Refracción	MMQ-HPLC-08			
Maltosa	g/100g	0,00	--	Cromatografía Líquida/ Índice de Refracción	MMQ-HPLC-08			

OBSERVACIONES

Se podrán realizar modificaciones al presente documento, hasta 6 meses después de su emisión, a excepción de que las autoridades regulatorias lo soliciten o por un sustento técnico válido, de acuerdo al criterio del laboratorio.
 Estos resultados corresponden exclusivamente a la muestra analizada.
 La contra muestra se almacena en el laboratorio por 1 mes.
 Prohibida su reproducción total o parcial, sin previa autorización de LABORATORIOS AVVE S.A.
 Las observaciones, opiniones e interpretaciones no se encuentran dentro del Alcance de Acreditación
 Los registros generados por el análisis de la(s) muestra(s) son mantenidas en los archivos del laboratorio por 5 años
 Válido solo el Informe Original
 Los resultados se aplican a la muestra tal cual como fue recibida.



 Q.F. Paola Avilés
 Jefe Dpto. Físico Químico

HM REV.00 27/06/22

Fecha de Contacto:



R.U.C.: 1721105185001

FACTURA

No. 001-001-000009135

NÚMERO DE AUTORIZACIÓN

0812202201172110518500120010010000091351352467814

AMBIENTE: PRODUCCIÓN

EMISIÓN: NORMAL

CLAVE DE ACCESO



0812202201172110518500120010010000091351352467814

Diana Esperanza Bastidas Quemá

Av. Ilaló Oe10-125

TELEFONO: 0982309507

CELULAR: 0982309507

Matriz

TELEFONO ESTABLECIMIENTO: 0982309507

Web Site: www.beerlandstore.com

e-mail: ventas@beerlandstore.com

OBLIGADO A LLEVAR CONTABILIDAD: SI

REGIMEN: REGIMEN GENERAL

Razón Social/Nombres y Apellidos: JOSE MANUEL AVECILLAS GUZMAN

Identificación: 0923703441

Fecha Emisión: 08/12/2022

Guía de Remisión:

Codigo	Cod.Alterno	Cant	Nombre	Precio U	Descuento	Total
Prod000001021	Prod000001021	8.00	Levadura Fermivin 25g sobre al granel	2.63	0.00	21.07
Prod000000879	Prod000000879	1.00	Medidor PH digital tipo lápiz	26.70	0.00	26.70
Prod000000032	Prod000000032	1.00	Densimetro triple escala (cerveza-vino)	8.57	0.00	8.57
Prod000000062	Prod000000062	1.00	Refractometro	29.02	0.00	29.02
Prod000000014	Prod000000014	10.00	Airlock doble burbuja italiano	1.34	0.00	13.39
Prod000000103	Prod000000103	10.00	Tapon caucho negro para airlock	0.67	0.00	6.70
Prod000000880	Prod000000880	1.00	Sales de calibración Buffer	3.56	0.00	3.56
Prod000000044	Prod000000044	1.00	Probeta plastica 200ml	4.69	0.00	4.69
Prod000001018	Prod000001018	1.00	Nutriente MAXAFERM 1KG	47.37	0.00	47.37
Prod000000205	Prod000000205	2.00	Nutriente Fermaid K sobre 11 g	2.01	0.00	4.02

UNEMI

UNIVERSIDAD ESTATAL DE MILAGRO

¡Evolución académica!

@UNEMIEcuador



