



Pontificia Universidad
Católica del Ecuador

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR
SEDE MANABÍ
CARRERA DE AGROINDUSTRIA**

TRABAJO DE TITULACIÓN:

**EVALUACIÓN DE TIEMPOS Y TEMPERATURA EN LA
FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DEL MUCÍLAGO DE CACAO
(THEOBROMA CACAO L.), VARIEDAD CCN51.**

PREVIO AL TÍTULO DE:

INGENIERA AGROINDUSTRIAL

AUTORA:

YURI JESSENIA BASURTO BRAVO

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN:

ING. JOSEPH FABRICIO GARCIA GUILLEN

FEBRERO 2020

CHONE – MANABÍ – ECUADOR

CERTIFICACIÓN

ING. JOSEPH FABRICIO GARCIA GUILLEN

DIRECTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN

CERTIFICA:

En mi calidad de tutor del trabajo de integración curricular, certifico haber revisado el presente manuscrito de investigación, el mismo que se ajusta a las normas vigentes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Sede Manabí, cumpliendo la Normativa del Trabajo de Integración Curricular; en consecuencia, es apto para su presentación y sustentación.

.....
Ing. Joseph Fabricio García Guillen, MSC.
C.C. 1310425598

ACTA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

El jurado examinador aprueba el presente trabajo de integración curricular en nombre de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Sede Manabí.

.....
ING. JOSEPH FABRICIO GARCÍA GUILLÉN MSC.
TUTOR/PRESIDENTE DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

.....
ING. CARLOS ENRIQUE GONZÁLEZ ARTEAGA MSC.
LECTOR 1

.....
ING. HUGO LLAMPEL AVELLÁN PENAFIEL MSC.
LECTOR 2

DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD

Este manuscrito no contiene ningún tipo de material que ha sido aceptado para la obtención de un título universitario en otra institución, excepto en forma de información de soporte que ha sido debidamente citada en mi trabajo. Este trabajo es de total responsabilidad del autor, quien declara bajo juramento que ninguna sección de este trabajo de integración curricular infringe los derechos de autor de nadie.

.....
YURI JESSENIA BASURTO BRAVO
C.C. 1316463213

DECLARACIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Pontificia Universidad Católica del Ecuador a distribuir este manuscrito de investigación en medios físicos y electrónicos con el fin de promover la divulgación de mis resultados a la comunidad científica y a la sociedad en general. Adicionalmente autorizo el uso de los contenidos de esta investigación como bibliografía para fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, citando como fuente de información al autor de este trabajo.

.....
YURI JESSENIA BASURTO BRAVO
C.C. 1316463213

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios, por haberme dado la vida la salud y la fortaleza para continuar cuando he estado a punto de desistir

A mis amados padres Divino Basurto y Mary Bravo quienes me formaron con buenos hábitos y valores supieron guiarme con amor y enseñarme que el camino hacia la meta se necesita de fortaleza para aceptar las derrotas y de coraje para derribar los miedos

A mis hermanos Agustín, Katherine, Rosa, July y mi prima Noelia por todo su apoyo incondicional y estar a mi lado en todo momento

A mis sobrinos Keyris, Maikel, Julieth, Alanís, Alisson, kataleya por ser mi mayor inspiración paz y amor.

Yuri

Agradecimiento

A la pontificia universidad católica del ecuador sede Manabí campus Chone quien me dio la oportunidad de una educación superior de calidad

Agradecimiento en general

Dios por darme la vida, salud, sabiduría y valentía para seguir luchando en cada meta propuesta

A mis padres por ser quienes me educaron de la mejor manera, por ser los principales pilares fundamentales de mi vida los cuales han estado en tiempos buenos y malos

A mis hermanos por ser tan incondicionales

A mi novio por su paciencia, apoyo, cariño y amor durante todos estos años de aprendizaje

A todos los docentes por compartir sus conocimientos en especial a los que han sido partícipes del desarrollo de la tesis MG Janino Pérez y el actual tutor MG Joseph Guillen, quien con sus amplios conocimientos ayudo a culminar de la mejor manera la presente investigación

A mis compañeros con quien compartí muchas anécdotas y actividades en nuestra formación profesional, a mis familiares en general todos han sido un apoyo en mi vida, gracias por compartir conmigo grandes momentos

Yuri

RESUMEN

El presente estudio tuvo como finalidad evaluar el proceso de fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN51, para determinar el nivel de incidencia sobre la obtención de etanol. Para este fin se implementó un estudio de tipo experimental donde el primer factor (tiempos de fermentación) fue dividido en tres niveles: (5, 10 y 15 días) y el segundo factor de estudio (rango de temperatura) se dividió en dos niveles: (35 y 40 °C). La variable dependiente (fermentación alcohólica del mucílago de cacao) tomó subvariables (olor, sabor, pH, acidez, grados de alcohol, grados brix) que fueron evaluadas a través de la observación de muestras bajo el lineamiento experimental AxB. Entre los resultados se evidenció que el tiempo de fermentación idóneo es de 10 días, alcanzando los mejores registros para la variable acidez (10 días de fermentación + 40 °C en la estufa: 45,60 grados), grados de alcohol (2.67 °GL). El rango idóneo de temperatura en el proceso de fermentación fue el tratamiento con exposición del mosto a 40 °C. Se obtuvieron registros superiores que el resto de tratamientos para la variable grados brix (7,33 °Bx), acidez (45,60 %) y grados de alcohol (2.67 °GL). Los resultados registrados para las variables sensoriales evidenciaron al D2T1 (10 días de fermentación + 35 °C en la estufa) liderando el ranking de desempeño para las variables olor (3,5 puntos), color (3,9 puntos), sabor (3,9 puntos) y textura (4,1 puntos). Se concluye que la frecuencia de fermentación tiene incidencia sobre las características sensoriales que miden la calidad organoléptica del alcohol en base al mucílago de cacao.

PALABRAS CLAVES: Fermentación, temperatura, pH, calidad.

ABSTRACT

The purpose of this study was to evaluate the alcoholic fermentation process of the cocoa mucilage (*Theobroma cacao* L.) variety CCN51, to determine the level of incidence on obtaining ethanol. For this purpose, an experimental study was implemented where the first factor (fermentation times) was divided into three levels: (5, 10 and 15 days) and the second study factor (temperature range) was divided into two levels: (35 and 40 ° C). The dependent variable (alcoholic fermentation of cocoa mucilage) took subvariables (odor, taste, pH, acidity, alcohol degrees, brix degrees) that were evaluated through the observation of samples under the AxB experimental guideline. Among the results it was evident that the ideal fermentation time is 10 days, reaching the best records for the acidity variable (10 days of fermentation + 40 ° C in the stove: 45.60 degrees), degrees of alcohol (2.67 ° G). The ideal temperature range in the fermentation process was treatment with exposure of the must to 40 ° C. Higher records were obtained than the rest of treatments for the variable degrees brix (7.33 °Bx), acidity (45.60%) and degrees of alcohol (2.67 ° GL). The results recorded for the sensory variables evidenced D2T1 (10 days of fermentation + 35 ° C in the stove), leading the performance ranking for the variables odor (3.5 points), color (3.9 points), flavor (3 , 9 points) and texture (4.1 points). It is concluded that the frequency of fermentation influences the sensory characteristics that measure the organoleptic quality of alcohol based on cocoa mucilage.

KEY WORDS: Fermentation, temperature, pH, quality.

TABLA DE CONTENIDOS

CERTIFICACIÓN	II
ACTA DE APROBACIÓN DEL TRIBUNAL	III
DECLARACIÓN DE ORIGINALIDAD	IV
DECLARACIÓN DE DERECHOS DE AUTOR	V
RESUMEN	VIII
ABSTRACT.....	IX
TABLA DE CONTENIDOS	X
ÍNDICE DE TABLAS	XIII
ÍNDICE DE FIGURAS.....	XIV
1. INTRODUCCIÓN	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
OBJETIVO GENERAL	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	7
2. METODOLOGÍA.....	8
2.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	8
2.1.1. INVESTIGACIÓN CUANTITATIVA.....	8
2.1.2. INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA Y DOCUMENTAL.....	8
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS	9
2.2.1. MATERIA PRIMA.....	9
2.2.2. INSUMOS	9
2.2.3. MATERIALES Y EQUIPOS.....	9
2.3. FACTORES EN ESTUDIO	9
2.3.1. VARIABLES INDEPENDIENTES	9
2.3.2. VARIABLE DEPENDIENTE	10
2.3.2.1. Análisis sensoriales.....	10

2.3.2.2.	<i>Análisis físicos – químicos</i>	13
2.3.2.3.	<i>Análisis Microbiológicos</i>	16
2.4.	TRATAMIENTOS	18
2.5.	UNIDADES EXPERIMENTALES	20
2.6.	DISEÑO EXPERIMENTAL	20
2.6.1.	<i>ANÁLISIS FUNCIONAL</i>	20
2.7.	MANEJO DEL ENSAYO.....	21
2.7.1.	<i>EXTRACCIÓN DEL MUCÍLAGO</i>	21
2.7.2.	<i>TAMIZADO</i>	21
2.7.3.	<i>ACTIVACIÓN DE LA LEVADURA</i>	21
2.7.4.	<i>PREPARACIÓN DEL MOSTO</i>	21
2.7.5.	<i>FERMENTADO</i>	22
2.7.6.	<i>ENVASADO</i>	22
2.7.7.	<i>. ALMACENADO</i>	22
2.7.8.	<i>DIAGRAMA DEL PROCESO PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO.</i>	23
3.	RESULTADOS.....	24
3.1.	VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS.....	24
3.1.1.	<i>PH</i>	24
3.1.2.	<i>GRADOS BRIX</i>	26
3.1.3.	<i>ACIDEZ</i>	27
3.1.4.	<i>GRADOS DE ALCOHOL</i>	28
3.2.	VARIABLES MICROBIOLÓGICAS.....	30
3.2.1.	<i>MOHOS</i>	30
3.2.2.	<i>LEVADURAS</i>	31
3.3.	ANÁLISIS SENSORIALES.....	33
3.3.1.	<i>OLOR</i>	33
3.3.2.	<i>COLOR</i>	35
3.3.3.	<i>SABOR</i>	38
3.3.4.	<i>TEXTURA</i>	40

3.3.5. ANÁLISIS SENSORIAL GENERAL.....	43
4. DISCUSIÓN	44
5. CONCLUSIONES	48
6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	49
7. ANEXOS	54

ÍNDICE DE TABLAS

<i>Tabla 1.</i> Tratamientos estudiados en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	18
<i>Tabla 2.</i> Análisis de varianza en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	20
<i>Tabla 3.</i> Adeva para variable pH en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	24
<i>Tabla 4.</i> Prueba de Tukey para variable pH en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	25
<i>Tabla 5.</i> Adeva para variable Grados brix en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	26
<i>Tabla 6.</i> Adeva para variable acidez en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	27
<i>Tabla 7.</i> Adeva para variable Grados de alcohol en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	28
<i>Tabla 8.</i> Prueba de Tukey para variable grados de alcohol en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	29
<i>Tabla 9.</i> Cuadro de resumen para variable mohos en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	30
<i>Tabla 10.</i> Cuadro de resumen para variable Levaduras en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	32
<i>Tabla 11.</i> Prueba de Kruskal-Wallis para variable Olor (análisis sensorial) en evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	33
<i>Tabla 12.</i> Análisis de pares (Kruskal-Wallis) para variable Olor (análisis sensorial) en evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao, variedad CCN51.	34
<i>Tabla 13.</i> Análisis de pares (Kruskal-Wallis) para variable Olor con la escala cualitativa en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	34

<i>Tabla 14.</i> Prueba de Kruskal-Wallis para variable Color (análisis sensorial) en evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.....	36
<i>Tabla 15.</i> Análisis de pares para variable Color en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	36
<i>Tabla 16.</i> Análisis de pares (Kruskal-Wallis) para variable Color con la escala cualitativa en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	37
<i>Tabla 17.</i> Adeva para variable Sabor (análisis sensorial) en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	38
<i>Tabla 18.</i> Prueba de Tukey para variable Sabor (análisis sensorial) en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao, variedad CCN51.....	39
<i>Tabla 19.</i> Prueba de Tukey para variable Sabor con la escala cualitativa en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.....	39
<i>Tabla 20.</i> Adeva para variable textura (análisis sensorial) en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	41
<i>Tabla 21.</i> Prueba de Tukey para variable textura (análisis sensorial) en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	41
<i>Tabla 22.</i> Prueba de Tukey para variable Olor con la escala cualitativa en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.....	42
<i>Tabla 23.</i> Registros de sala para variable Análisis Sensorial en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.	43

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Promedios para variable pH en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.), variedad CCN51.....	25
---	----

Figura 2. Promedios para variable grados brix en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51..... 26

Figura 3. Promedios para variable acidez en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51..... 27

Figura 4. Promedios para variable grados de alcohol en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51..... 29

Figura 5. Promedios para variable mohos en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51..... 31

Figura 6. Promedios para variable levaduras en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51..... 32

Figura 7. Promedios para variable olor en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51..... 35

Figura 8. Promedios para variable color en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51..... 37

Figura 9. Promedios para variable sabor en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51..... 40

Figura 10. Promedios para variable textura en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51..... 42

1. INTRODUCCIÓN

La producción mundial del cacao para el año 2017, se estimó en 4'700.000 Ton. de las cuales Ecuador aportó con 270.000 Ton. (6%), (International Cocoa Organization [ICCO], 2018), siendo la provincia de Manabí la segunda zona en el país con más producción de cacao (27%) (ANECACAO, 2017).

A pesar del incremento de la tendencia exportable del cacao como ítem agroexportador, los precios del producto continúan siendo deplorables en los mercados internacionales (Chang, Apolo, & Tamayo, 2019). Esta realidad obliga a la inclusión de programas para la extracción de diferentes subproductos a partir del cacao. El chocolate, la manteca y hasta las bebidas alcohólicas fundamentadas en la teobromina, son algunas de las opciones más representativas para el operador agroindustrial ecuatoriano (Cuenca, Puentes, & Menjivar, 2019).

Ecuador es el noveno país latinoamericano con mayor consumo de alcohol con 7,2 litros por persona al año (Moreno, 2015). El rubro que los ecuatorianos destinan al consumo de alcohol anual asciende a \$37'062.128 millones de dólares. El consumo de bebidas alcohólicas y cigarrillos genera un ingreso de 442 millones de dólares para el estado ecuatoriano por concepto de impuestos a los consumos especiales (INEC, 2013)

Ecuador es un país que se caracteriza por su producción de dos tipos de cacao: Cacao CCN-51 y el denominado Cacao Nacional. Cabe destacar que el cacao es uno de los productos con mayor participación en este segmento del mercado mundial (un 63% de acuerdo con las estadísticas de ProEcuador), identificando al país como exportador de una materia prima con diferenciación y calidad (PROECUADOR, 2019).

Los productores de cacao tienen a la mano la materia prima para la elaboración de productos como el alcohol. Sin embargo, no cuentan con el conocimiento para procesar todos los residuos del cacao, por ende, se enfocan en la comercialización del producto inicial, que es, la producción del grano para su comercialización. Lo que se pretende con este estudio es optimizar la baba del cacao (mucilago) y utilizarla en otro derivado, elaboración de alcohol. De este modo, se beneficiaría al productor por darle un valor a un componente generalmente desechado, el mucílago.

Existe ignorancia industrial sobre el tratamiento adecuado para el cacao como generador de subproductos como el alcohol. Se desconoce los parámetros idóneos de tiempo de fermentación y temperatura a los que se debe exponer la materia prima para la obtención de resultados óptimos en el proceso.

Así mismo, se desconoce sobre los procedimientos adecuados para desarrollar protocolos eficientes para el aprovechamiento del mucílago del cacao. Estos factores son el origen de un problema de compleja solución: métodos, técnicas y factores productivos adecuados para la industrialización del mucílago de cacao como fuente alcohólica.

Esta investigación pretende aprovechar el mucilago de cacao elaborando una bebida alcohólica, aplicando tres tiempos de fermentación y dos rangos de temperatura, buscando con esto aprovechar y optimizar la producción de cacao y así crear un producto listo para su comercialización. Por estas motivaciones, se formula la siguiente problemática:

¿Cómo incide el tiempo de fermentación y rango de temperatura utilizados en el proceso de fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51?

A partir de esa interrogante, se plantea la siguiente formulación de hipótesis:

Ha: El tiempo de fermentación y temperatura, inciden en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

Ho: El tiempo de fermentación y temperatura, no inciden en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

La fermentación se inicia inmediatamente después de sacar los granos de las mazorcas del cacao. Durante el proceso las levaduras transforman el almidón y azúcares del mucílago en alcohol etanol y desprenden gas carbónico. Esta fase dura los dos primeros días del proceso, la fermentación impide que germinen los granos de cacao, lo que se conoce también como la "muerte del grano". Es una etapa muy importante en la fermentación, pues se dan una serie de cambios químicos dentro del grano que impactan el sabor y la calidad del cacao (Acosta, 2012).

Durante la fermentación el mucílago o pulpa, se descompone en sustancias líquidas, gran parte de la pulpa escapa en forma de exudado. La concentración de alcohol en el exudado es, aproximadamente, del 2-3% y la del ácido acético del 2,5%. El contenido total de materia seca del exudado es de alrededor del 8%, con un contenido de proteína bruta de un 20%, aproximadamente. El volumen total de exudado es considerable, pero no se le ha encontrado ningún uso práctico (Vallejo et al., 2018).

La *Saccharomyces cerevisiae*, es una levadura que constituye el grupo de microorganismos más íntimamente asociado al progreso y bienestar de la humanidad. Su nombre deriva del vocablo Saccharo (azúcar), myces (hongo) y cerevisiae (cerveza). Es una levadura heterótrofa obtiene la energía a partir de la glucosa y tiene una elevada capacidad fermentativa. (Suárez et al., 2016)

S. cerevisiae es la especie de levadura mayormente utilizada en el mundo industrial para la extracción de etanol. Entre los atributos más representativos está la facilidad en su manipulación, la adaptabilidad a cualquier medio de cultivo, bajos costos comerciales, alta tolerancia a excesivas concentraciones de etanol, en la fermentación produce bajos niveles de subproductos, es osmotolerante, capaz de utilizar altas concentraciones de azúcares, presenta alta viabilidad celular para el reciclado y características de floculación y sedimentación para su procesamiento posterior (Jespersen, 2003).

Una buena rehidratación de las levaduras tendrá una menor fase de latencia y por tanto ayudará a reducir el tiempo de fermentación. Para rehidratar la levadura hay que verterla en agua estéril en proporciones 10 veces superior al peso de la levadura, a una temperatura entre 28 y 32 grados, después de 30 - 60 minutos verter el compuesto directamente al fermentador y oxigenar el mosto (Castaño & Mejía, 2018).

La temperatura adecuada para *S. cerevisiae* fluctúa entre los 28 y 37 °C (Rubio, et al. 2008). No existen registros positivos del uso de temperaturas superiores a los 40 °C. Así, Téllez, Peraza, Feria y Andrade (2012) establecieron como temperatura idónea los 40 °C para la fermentación alcohólica del tequila. Por ello, el presente estudio empleará como variable investigativa una temperatura de 40 °C, con la finalidad de evidenciar el incremento o la inhibición del proceso biológico de *S. cerevisiae* bajo esas condiciones.

En cuanto a la medición de la concentración alcohólica sobre el medio, se propuso en el siglo XX el uso de los Grados Gay Lussac. Esta magnitud representa la unidad alcoholimétrica que expresa las partes, en volumen, de alcohol etílico absoluto contenidas en 100 partes de una mezcla

de alcohol y agua. Se usa para expresar la riqueza alcohólica de bebidas y soluciones. (Rodríguez, 1998)

La exposición del mosto durante pocas horas no asegura un adecuado proceso fermentativo. Así mismo, la excesiva cantidad de tiempo invertido en el proceso, puede desencadenar la evaporación del alcohol y la transformación en ácido acético (vinagre), arruinando el proceso desarrollado. El tiempo de fermentado no debe excederse de los 15 días, aunque el incremento de la temperatura del medio, suele reducir la cantidad de días invertidos en el proceso (López, 2013) Estos resultados fueron evidenciados en el estudio de López (2013), quien implementó un estudio de laboratorio trifactorial. Factor A (dos variedades de cacao: nacional y CCN51), factor B (S. cerevisiae al 5, 10 y 15 %) y factor C (5 y 10 días de fermentación).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El sector agroindustrial del país contine serios problemas de inequidad. Existen sectores opulentos, pertenecientes a poderosos grupos económicos, y, en su contraste, pequeños artesanos que intentan sobrevivir entre imposiciones tributarias, laborales y arancelarias. Cada día las industrias encargadas de diferentes áreas extreman la búsqueda permanente de materias primas que permitan posicionar productos elaborados de manera rentable y eficiente (Saavedra, 2012).

En los sistemas de producción latinoamericanos, normalmente se desperdician más de 70 litros de mucílago por tonelada de cacao producido. Este exceso de pulpa, tiene un valor comercial que ha sido poco explotado en países con gran volumen productivo de cacao como Brasil, Colombia, Perú, Costa Rica y Ecuador (Vera *et al.*, 2014).

Arteaga (2013) en Naranjal, Ecuador, considera que entre los factores o causas que originan el desperdicio del mucílago de cacao están: El débil nivel de conocimientos entre los productores y el desinterés de la institucionalidad agropecuaria ecuatoriana organismos para motivar la explotación de la mencionada materia prima. Los productores del cantón Naranjal desconocen el contenido nutritivo que posee el mucílago y las metodologías existentes para la transformación de este derivado.

En el cantón Bolívar, provincia de Manabí, existe inclusive un núcleo de productores que exportan directamente el grano del cacao. La Corporación Fortaleza del Valle enfrenta la problemática de competir internacionalmente en un sistema agroexportador altamente inequitativo e ineficiente. El proceso fermentativo del cacao genera un subproducto como los es el mucílago, sin que exista un aprovechamiento e industrialización dadas las condiciones de desconocimiento por parte de grandes, medianos y pequeños productores. Existe además una débil capacidad tecnológica e incipiente cantidad de recursos económicos y/o líneas de crédito disponibles para desarrollar la actividad agroindustrial. Con estos indicios se plantea la formulacion del problema: ¿Cuáles son los parámetros adecuados para temperatura y tiempo en el proceso de fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN51, para determinar el nivel de incidencia sobre la obtención de etanol?

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el proceso de fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN51, para determinar el nivel de incidencia sobre la obtención de etanol.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para el cumplimiento de este objetivo general, se delinearán los siguientes objetivos específicos:

Determinar el tiempo de fermentación más adecuado del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN51, para la obtención de alcohol fermentado.

Determinar el rango de temperatura idóneo en el proceso de fermentación para la extracción de etanol a partir del cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN51.

Evaluar el mejor tratamiento registrado en función de la calidad de alcohol obtenido a partir de la fermentación del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN51.

2. METODOLOGÍA

2.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Se efectuó una investigación de tipo experimental, donde el primer factor en estudio (tiempos de fermentación) fue dividido en tres niveles: D1, D2 y D3 y el segundo factor de estudio (rango de temperatura) se dividió en dos niveles: T1 y T2. La variable dependiente (fermentación alcohólica del mucílago de cacao) tomó subvariables (olor, sabor, pH, acidez, grados de alcohol, grados brix) que fueron evaluadas a través de la observación de muestras bajo el lineamiento experimental AxB.

2.1.1. INVESTIGACIÓN CUANTITATIVA

Se ejecutó en el estudio y análisis a través de diferentes procedimientos basados en la medición como datos de pH, grados alcohólicos, grados brix, temperatura, densidad y análisis bromatológicos de cada uno de los tratamientos. La medición de estas variables permitió un mayor nivel de control sobre la investigación y el cumplimiento de los objetivos.

2.1.2. INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA Y DOCUMENTAL

Para el desarrollo de la presente investigación se tomó como referencia las normativas nacionales e internacionales (INEN, APA). Los datos descriptivos fueron proporcionados por estudios similares y las normas mencionadas, sustentando científicamente el presente estudio.

Las normativas INEN regulan los procesos industriales y artesanales para la generación de productos y servicios en el Ecuador desde hace 49 años. La finalidad institucional es satisfacer las necesidades locales y facilitar el comercio nacional e internacional (INEN, 2019).

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. MATERIA PRIMA

- Mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51

2.2.2. INSUMOS

- Levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Presentación comercial La Reposterita (levapan)

2.2.3. MATERIALES Y EQUIPOS

- Coladores
- Envases
- Indumentaria (mandil, cofia, guantes, mascarilla)
- Etiquetas
- Estufa

2.3. FACTORES EN ESTUDIO

2.3.1. VARIABLES INDEPENDIENTES

Factor A. Tiempos de fermentación

Se evaluaron tres tiempos de fermentación:

D1. 5 días

D2. 10 días

D3. 15 días (López, 2013).

Factor B. Rangos de temperatura

Se evaluaron dos rangos de temperatura:

T1. 35 °C

T2. 40 °C

2.3.2. VARIABLE DEPENDIENTE

Calidad del alcohol

2.3.2.1. Análisis sensoriales

Prueba de evaluación sensorial

- Olor

Se estructuró un panel sensorial con 32 jueces no entrenados (García, 2008: p. 38), conformado por estudiantes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Chone (Guillen, 2020). A partir de una metodología de catación a ciegas ya que los jueces desconocían la temperatura y los tiempos de los tratamientos expuestos, identificando de manera interna cada muestra para su catación aleatoria. Se emplearon los siguientes códigos (D1T1: 5 días de fermentación + 35 °C en la estufa; D1T2: 5 días de fermentación + 40 °C en la estufa; D2T1: 10 días de fermentación + 35 °C en la estufa; D2T2: 10 días de fermentación + 40 °C en la estufa; D3T1: 15 días de fermentación + 35 °C en la estufa; D3T2: 15 días de fermentación + 40 °C en la estufa; testigo).

El análisis se efectuó dentro de una sala con condiciones ambientales controladas, sin estímulos de ruidos u olores y a las 10h30 de la mañana, con la finalidad de descartar desviaciones por llenura y/o hambre en los jueces consumidores. El jurado calificó el atributo olor de cada una de las muestras, empleando una escala exhibida del 1 al 5, que asigna una puntuación progresiva que va desde malo, regular, bueno, muy bueno y excelente. Fue indispensable dar de beber una pequeña cantidad de agua y dejar transcurrir cinco minutos entre cada catación (Carpenter *et al.*, 2012).

- Color

Se estructuró un panel sensorial con 32 jueces no entrenados (García, 2008: p. 38), conformado por estudiantes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Chone (Guillen, 2020). A partir de una metodología de catación a ciegas ya que los jueces desconocían la temperatura y los tiempos de los tratamientos expuestos, identificando de manera interna cada muestra para su catación aleatoria. Se emplearon los siguientes códigos (D1T1: 5 días de fermentación + 35 °C en la estufa; D1T2: 5 días de fermentación + 40 °C en la estufa; D2T1: 10 días de fermentación + 35 °C en la estufa; D2T2: 10 días de fermentación + 40 °C en la estufa; D3T1: 15 días de fermentación + 35 °C en la estufa; D3T2: 15 días de fermentación + 40 °C en la estufa; testigo).

El análisis se efectuó dentro de una sala con condiciones ambientales controladas, sin estímulos de ruidos u olores y a las 10h30 de la mañana, con la finalidad de descartar desviaciones por llenura y/o hambre en los jueces consumidores. El jurado calificó el atributo olor de cada una de las muestras, empleando una escala exhibida del 1 al 5, que asigna una puntuación progresiva que va desde malo, regular, bueno, muy bueno y excelente. Fue indispensable dar de beber una pequeña cantidad de agua y dejar transcurrir cinco minutos entre cada catación (Carpenter *et al.*, 2012).

- Sabor

Se estructuró un panel sensorial con 32 jueces no entrenados (García, 2008: p. 38), conformado por estudiantes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Chone (Guillen, 2020). A partir de una metodología de catación a ciegas ya que los jueces desconocían la temperatura y los tiempos

de los tratamientos expuestos, identificando de manera interna cada muestra para su catación aleatoria. Se emplearon los siguientes códigos (D1T1: 5 días de fermentación + 35 °C en la estufa; D1T2: 5 días de fermentación + 40 °C en la estufa; D2T1: 10 días de fermentación + 35 °C en la estufa; D2T2: 10 días de fermentación + 40 °C en la estufa; D3T1: 15 días de fermentación + 35 °C en la estufa; D3T2: 15 días de fermentación + 40 °C en la estufa; testigo).

El análisis se efectuó dentro de una sala con condiciones ambientales controladas, sin estímulos de ruidos u olores y a las 10h30 de la mañana, con la finalidad de descartar desviaciones por llenura y/o hambre en los jueces consumidores. El jurado calificó el atributo olor de cada una de las muestras, empleando una escala exhibida del 1 al 5, que asigna una puntuación progresiva que va desde malo, regular, bueno, muy bueno y excelente. Fue indispensable dar de beber una pequeña cantidad de agua y dejar transcurrir cinco minutos entre cada catación (Carpenter *et al.*, 2012).

- Textura

Se estructuró un panel sensorial con 32 jueces no entrenados (García, 2008: p. 38), conformado por estudiantes de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador Chone (Guillen, 2020). A partir de una metodología de catación a ciegas ya que los jueces desconocían la temperatura y los tiempos de los tratamientos expuestos, identificando de manera interna cada muestra para su catación aleatoria. Se emplearon los siguientes códigos (D1T1: 5 días de fermentación + 35 °C en la estufa; D1T2: 5 días de fermentación + 40 °C en la estufa; D2T1: 10 días de fermentación + 35 °C en la estufa; D2T2: 10 días de fermentación + 40 °C en la estufa; D3T1: 15 días de fermentación + 35 °C en la estufa; D3T2: 15 días de fermentación + 40 °C en la estufa; testigo).

El análisis se efectuó dentro de una sala con condiciones ambientales controladas, sin estímulos de ruidos u olores y a las 10h30 de la mañana, con la finalidad de descartar desviaciones por llenura y/o hambre en los jueces consumidores. El jurado calificó el atributo olor de cada una de las muestras, empleando una escala exhibida del 1 al 5, que asigna una puntuación progresiva que va desde malo, regular, bueno, muy bueno y excelente. Fue indispensable dar de beber una pequeña cantidad de agua y dejar transcurrir cinco minutos entre cada catación (Carpenter *et al.*, 2012).

2.3.2.2. Análisis físicos – químicos

- pH

Para la preparación de la muestra se disolvió 1 ml de muestra en 100 ml de agua destilada, homogenizando y duplicando el procedimiento para obtener dos muestras por cada tratamiento, vertiéndolas sobre un vaso de precipitación perfectamente limpio y rotulado. Se procedió a introducir el electrodo del potenciómetro (previamente calibrado) en la solución, cuidando que no toque las paredes ni el fondo del recipiente. Finalmente, efectuar la lectura en la escala de pH en forma inmediata (SERVICIO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN, 2013).

- Acidez

Para determinar la acidez total se colocó 250 cm³ de agua destilada recientemente hervida y neutralizada en un matraz Erlenmeyer de 500 cm³. Se añadió 25 cm³ de muestra y 5 gotas de la solución de fenolftaleína. Se procedió a titular empleando una bureta con la solución 0,1 N de hidróxido de sodio.

Para determinar la acidez fija a partir de la solución anterior se evapora a sequedad 25 cm³ de muestra contenidos en un crisol de platino o de porcelana sobre un baño de vapor. Se colocó el

crisol y su contenido en la estufa a 100° C durante 30 minutos. Se disolvió y transfirió el residuo seco utilizando porciones de alcohol neutro (aproximadamente 25 cm³) a un matraz Erlenmeyer de 500 cm³, que debe contener 250 cm³ de agua destilada, recientemente hervida y neutralizada (NTE INEN, 1978).

- Grados de alcohol

Para la toma de la muestra se sigue el procedimiento establecido en NTE INEN 339. Se destiló previamente la muestra de la bebida alcohólica que contienen extracto seco de la siguiente manera: Se lavó cuidadosamente el aparato de destilación con agua destilada y procedió a armarlo. Se enjuagó un matraz de fondo plano, con una porción de la muestra de la bebida alcohólica, llenando con la muestra hasta sobrepasar la marca de 250 cm³ y tapar el matraz. Se colocó el matraz de fondo plano con la muestra en el baño de agua a temperatura constante de 20 °C ± 0,5 °C durante 20 minutos y retiró el exceso de muestra que sobrepasa la marca, utilizando una pipeta hasta obtener el volumen exacto de 250 cm³ (NTE INEN, 2016).

Se transfirió el contenido de la muestra a un matraz de fondo redondo para la destilación y enjuagó con agua destilada, recogiendo el agua en el mismo matraz y se añadieron los núcleos de ebullición. Se añadieron previamente 10 cm³ de agua destilada en el matraz de fondo plano y se destiló lentamente la muestra, recogiendo el condensado en el mismo matraz, el cual debe estar en un baño de agua con hielo y suspender la destilación cerca del aforo. Se procedió a colocar el matraz de fondo plano en el baño de agua a temperatura constante de 20 °C ± 0,5 °C, durante 20 minutos y luego añadir cuidadosamente agua destilada a 20 °C hasta completar el volumen de 250 cm³ y homogeneizar (NTE INEN, 2016).

Una vez preparada la muestra, se lavó una probeta varias veces con la muestra de alcohol destilada a fin de que el vidrio tome la misma temperatura de la muestra. Se llenó la probeta con la muestra destilada hasta unos 5 cm por debajo de su borde y se leyó la temperatura de la muestra destilada con el termómetro calibrado. Se procedió a lavar y secar bien el alcoholímetro de vidrio volumétrico, ya que cualquier cuerpo extraño fijado en la superficie podría variar la masa del alcoholímetro alterando los valores de lectura. Se colocó el alcohol en la probeta y se dejó que el alcoholímetro de vidrio volumétrico se estabilice y flote libremente sin presentar adherencia con las paredes, para proceder a la lectura del valor indicado en el vástago que coincida con la línea de flotación. Para la lectura se consideró la base del menisco (NTE INEN, 2016).

- Grados brix

Para la preparación de la muestra se procedió a tarar el matraz Erlenmeyer de 500 cm³ en la balanza de precisión. Se pesaron 50 g de melaza de la muestra promedio bien homogenizada. Se añadió agua destilada al matraz Erlenmeyer que contenía la muestra hasta obtener un peso final de 250 g y tapar el matraz. Se llevó a un agitador mecánico hasta que la muestra se disolvió completamente. La muestra así preparada constituye la solución estándar (NTE INEN, 1990)

Una vez transferida la muestra transferir aproximadamente 100 cm³ de la solución estándar, en el matraz Erlenmeyer de 250 cm³ y añadir 2 g de tierra de diatónicas y mezclar bien. Filtrar través de papel filtro previamente acanalado mientras cubre el embudo con el vidrio de reloj. Se descartaron los primeros 10 cm³ filtrados y con la suficiente cantidad de filtrado, se determinó el grado brix mediante el refractómetro a 20° C. (NTE INEN, 1990).

2.3.2.3. Análisis Microbiológicos

Para efectuar la determinación de mohos y levaduras se empleó el método de ensayo, basado en el cultivo entre 22°C y 25°C de las unidades propagadoras de mohos y levaduras, utilizando la técnica de recuento en placa por siembra en profundidad y un medio que contenga extracto de levadura, glucosa y sales minerales.

Para la correcta gestión de las muestras y previo a su manipulación, limpiar el área de trabajo y sus proximidades, e inmediatamente desinfectar el área con etanol al 70% o con cualquier otro desinfectante. En muchos casos la unidad de muestreo, sin preparación adicional alguna, puede utilizarse como unidad de muestra. Si se necesita mezclar dos o más unidades de muestreo para formar la unidad de muestra, transferir las unidades de muestreo a un recipiente estéril suficientemente grande y mezclar bien (NTE INEN, 1999).

Antes de abrir cualquier envase, sean éstos rígidos o semirrígidos, limpiar externamente el envase con jabón o detergente y agua, secarlos con papel toalla y, en las proximidades de la tapa o en el área donde se va a abrir el envase flamear (con o sin etanol al 70% v/v evitando sobrecalentamientos) o aplicar una mezcla desinfectante que se le deja secar sin aplicar calor; sin embargo, cuando el envase o el material del embalaje es muy delgado y no resiste el proceso de limpieza omitir este paso y desinfectar con mucho cuidado. Cuando el envase puede removerse sin riesgo alguno de contaminar el producto, entonces, la limpieza y desinfección del envase no son necesarias. Todas las manipulaciones, durante y después de la abertura deben realizarse en condiciones tan asépticas como posible y de preferencia sin interrupciones; utilizar una cámara de flujo laminar vertical, si es posible. Durante cualquier interrupción se debe mantener el producto bajo refrigeración. El intervalo entre la agitación de la muestra y la remoción de la unidad analítica

no debe ser mayor de tres minutos, y se debe tener cuidado para eliminar, incluso, cualquier espuma de la unidad analítica (NTE INEN, 1999).

Abrir los envases de lata por la tapa no codificada, cuidando de no dañar el doble cierre. Al tomar muestras de latas abombadas deben observarse las siguientes precauciones a fin de disminuir la salida violenta del contenido: Abrir las latas abombadas en sitios especiales y NUNCA deben abrirse en áreas destinadas a pruebas de esterilidad. Antes de abrir, refrigerar la lata lavada y seca. Colocar la lata en una bandeja poco profunda que contenga una mezcla desinfectante, si se sospecha la presencia de *Clostridium botulinum*, la bandeja debe contener una solución saturada de carbonato de sodio (NTE INEN, 1999).

Desinfectar la lata frotando una mezcla desinfectante y dejando secarse, pero, nunca aplicando calor. Para tapar la lata, utilizar un embudo de vidrio que tenga el vástago largo y firmemente taponado con algodón hidrófilo, a través del cual pasa una varilla de acero con su extremidad inferior afilada (todo el aparato debe estar envuelto, y esterilizado). Cubrir la lata con el embudo y sobre la tapa de ésta hacer descansar el extremo afilado de la varilla, y luego, cuidadosamente, golpear la varilla (NTE INEN, 1999).

Abrir la lata después que la presión ha descendido. Si el espacio de cabeza es lo suficientemente grande, se debe mezclar el producto agitando el envase 25 veces en 10 segundos haciendo un arco de 300 mm. Se puede utilizar un homogeneizador estandarizado para asegurar una distribución uniforme de los microorganismos Si el espacio de cabeza es pequeño, mezclar el producto invirtiendo el envase 25 veces y luego: a) retirar una porción de líquido hasta que haya suficiente espacio de cabeza y entonces mezclar mediante agitación; o b) transferir la muestra completa, o

un parte de ella, a un envase estéril de tamaño adecuado y agitando mezclar bien. En el caso de muestras líquidas con gas, incorporar unas perlas de vidrio estériles y agitar (NTE INEN, 1999).

Una vez preparada la muestra, agregar Agar sal-levaduras de Davis (Ver NTE INEN 1529-1.) y clorhidrato de clortetraciclina. Para evitar el crecimiento bacteriano, se utilizó cloranfenicol (50 mg / l) y clortetraciclina (50 mg / l), con un medio de base con 50 mg de cloranfenicol, se dispensó en cantidades de 100 ml y se esterilizó. Se preparó un 0,1% (en masa concentración) solución de clorhidrato de clortetraciclina en agua (relativamente inestables en solución, que debe ser recién preparada) y esterilizar por filtración. Justo antes de usar, añadir 5 ml de esta solución asépticamente a 100 ml del medio de base, y verter en placas. La gentamicina no es recomendable, ya que se ha informado que puede causar inhibición de algunas especies de levaduras.

Adición opcional de elementos traza. A fin de que los mohos exhiban su morfología completa, en particular los pigmentos que producen normalmente, necesitan rastrear los elementos que no pueden estar presentes en DRBC (Dichloran-rose bengal chloramphenicol agar). Para identificar los mohos en este medio, se agregó una solución de elementos ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 1g; $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 0,5 g) en 1 ml por litro del medio, 100 ml de agua destilada o des ionizada, previo de la esterilización en autoclave (NTE INEN, 2013).

2.4. TRATAMIENTOS

Se desarrolló un diseño factorial AxB, con 6 tratamientos y 3 repeticiones, delineados de la siguiente manera:

Tabla 1. Tratamientos estudiados en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

Nomenclatura	Combinación
D1T1	5 días de fermentación + 35 °C en la estufa.
D1T2	5 días de fermentación + 40 °C en la estufa.
D2T1	10 días de fermentación + 35 °C en la estufa.
D2T2	10 días de fermentación + 40 °C en la estufa.
D3T1	15 días de fermentación + 35 °C en la estufa.
D3T2	15 días de fermentación + 40 °C en la estufa.

2.5. UNIDADES EXPERIMENTALES

Se implementó un total de 18 unidades experimentales. Cada unidad experimental se constituyó de un recipiente de 1900 cm³ de capacidad total, que contenía 1000 cm³ de mucílago y 220 cm³ de levadura activada (*S. cerevisiae*). Esta concentración es la máxima sugerida según metodología establecida por Hinostroza, García y Leandro (2017).

2.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

Tabla 2. Análisis de varianza en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

FUENTE DE VARIACIÓN	G.L.
Total	17
Repeticiones	2
Tratamientos	5
Factor A	2
Factor B	1
A X B	2
Error	29

2.6.1. ANÁLISIS FUNCIONAL

Se empleó para el análisis funcional la prueba de Tukey al 5% de probabilidad a cada una de las variables en las que el análisis de varianza determine diferencias significativas.

2.7. MANEJO DEL ENSAYO

2.7.1. EXTRACCIÓN DEL MUCÍLAGO

La extracción del mucilago se realizó en el laboratorio de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, sede Chone. Se procedió a someter al cacao recién cosechado a la fermentación para la extracción o separación del mucilago de cacao de la almendra. En este proceso se recicló la materia prima en recipientes higiénicamente adecuados. El mucilago se recolectó durante las ocho primeras horas de la fermentación, para evitar la aceleración de la misma.

2.7.2. TAMIZADO

En esta etapa se separaron las partículas sólidas o impurezas encontradas en el mucilago de cacao para eliminarlas de la materia prima a través de un colador. Este proceso se desarrolló con la finalidad de separar las partículas sólidas o impurezas evidenciadas en el mucilago de cacao.

2.7.3. ACTIVACIÓN DE LA LEVADURA

La activación de la levadura es un proceso mediante el que la cepa de *S. cerevisiae* es dispuesta en un medio especial para la activación biológica de los microorganismos. Este proceso se cumplió en un medio compuesto de 220 cm³ de agua destilada, sobre el que depositaron 22 g de levadura (La Reposterita levapan) por cada litro. Esta solución se agitó por 30 minutos a una temperatura constante entre los 28 y 32 °C.

2.7.4. PREPARACIÓN DEL MOSTO

El mosto antes de la fermentación se compone principalmente de mucilago, agua y azúcares, así como ácidos (málico y tartárico). También contiene otros componentes químicos en menor cantidad que son responsables de la composición final de la fermentación alcohólica. Gran parte

de los azúcares del mosto se transformaron en alcohol etílico, para lo cual se agregó el 2% de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) en envases de capacidad de 1900 cm³.

2.7.5. FERMENTADO

Al adicionar levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) presentación comercial La Reposterita (levapan) en la fermentación, no se alteró el estado del medio, únicamente se aceleró el proceso. La fermentación fue anaerobia, es decir, sin la presencia del oxígeno. Se empleó el mismo envase donde se preparó anteriormente el mosto, de acuerdo a los niveles de tiempo establecidos. La fermentación se efectuó a las temperaturas acordadas según el delineamiento dentro de la estufa.

2.7.6. ENVASADO

Se procedió a envasar la bebida alcohólica en botellas de vidrio previa esterilización con capacidad de 1900 cm³. El sellado se efectuó de forma manual, tapando los envases con tapas tipo rosca para evitar posibles alteraciones del producto y mantener las características propias del mismo.

2.7.7. . ALMACENADO

Una vez extraídos los tratamientos de la estufa, fueron almacenados en recipientes de vidrio de 1000 ml a 4 °C y debidamente etiquetados en función de los códigos establecidos por el diseño experimental.

2.7.8. DIAGRAMA DEL PROCESO PARA LA ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO.

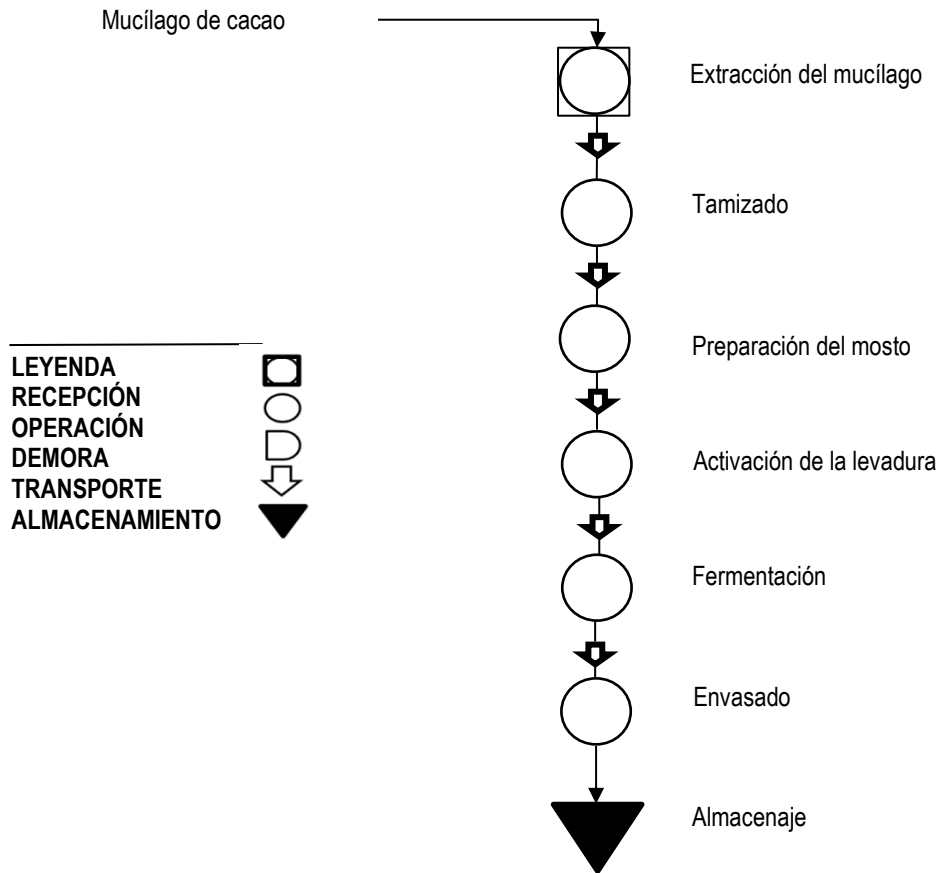


Gráfico 1.: Diagrama del proceso para la elaboración de una bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao

Fuente: López (2013)

3. RESULTADOS

3.1. VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS

3.1.1. PH

En la tabla 3 se registra el análisis de varianza para la variable pH. Según el ADEVA existen diferencias estadísticas altamente significativas (p-valor <0.0001) entre los tratamientos estudiados. En la tabla 4 se expone la prueba de Tukey al 5 % de significancia determinando cuatro categorías estadísticas que difieren entre sí. En la categoría A se halla el D1T1 y D1T2 con 4.69 y 4.49 pH promedio.

Tabla 3. Adeva para variable pH en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

Variable	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3.05	5	0.61	38.04	<0.0001
TRATAMIENTOS	3.05	5	0.61	38.04	<0.0001
Error	0.19	12	0.02		
Total	3.24	17			

Tabla 4. Prueba de Tukey para variable pH en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
D1T1	4.69	3	0.1	A
D1T2	4.49	3	0.1	A
D3T2	4.04	3	0.1	B
D3T1	3.79	3	0.1	B C
D2T1	3.73	3	0.1	B C
D2T2	3.55	3	0.1	C

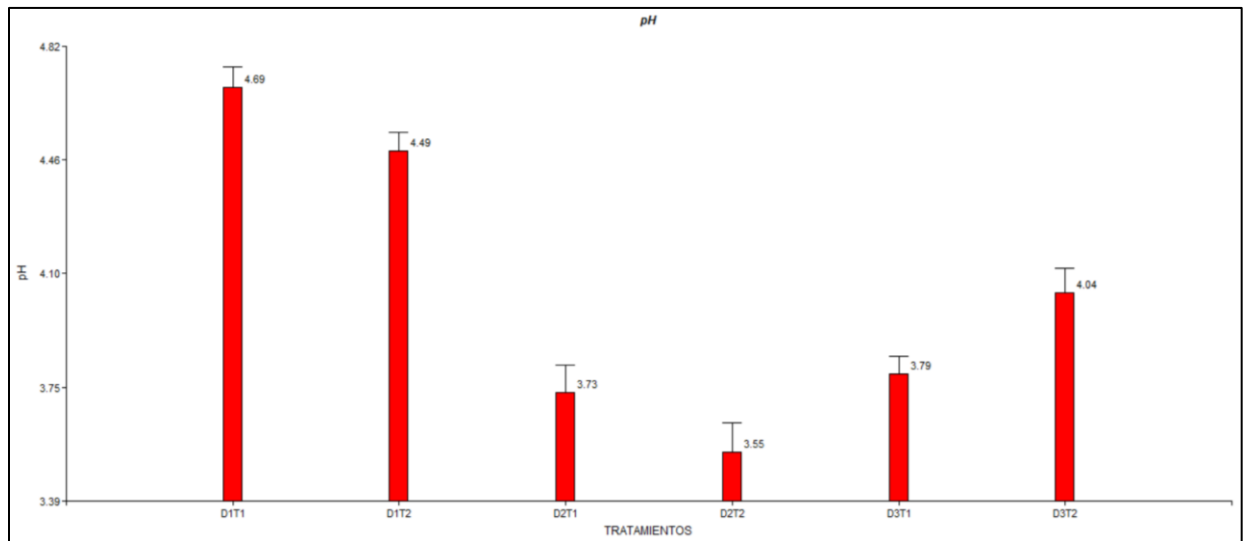


Figura 1. Promedios para variable pH en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

3.1.2. GRADOS BRIX

En la tabla 5 se presenta el análisis de varianza para la variable grados brix. Según el ADEVA no existen diferencias estadísticas significativas (p -valor >0.1172) entre los tratamientos estudiados.

Tabla 5. Adeva para variable Grados brix en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

Variable	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	12.44	5	2.49	2.24	0.1172
TRATAMIENTOS	12.44	5	2.49	2.24	0.1172
Error	13.33	12	1.11		
Total	25.78	17			

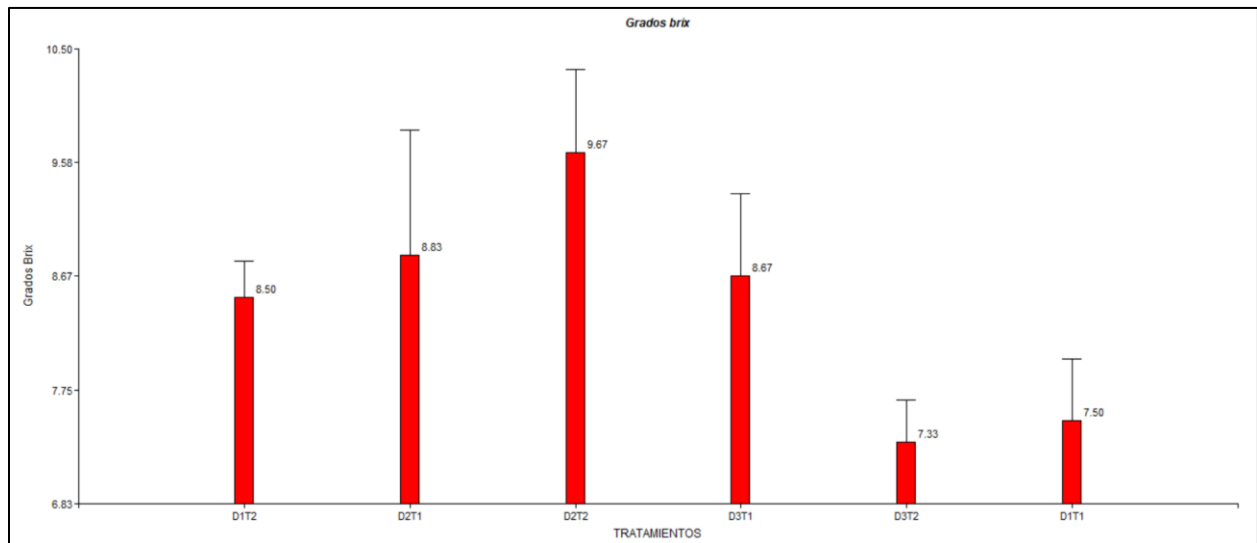


Figura 2. Promedios para variable grados brix en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

3.1.3. ACIDEZ

En la tabla 6 se presenta el análisis de varianza para la variable acidez. Según el ADEVA no existen diferencias estadísticas significativas ($p\text{-valor} > 0.3212$) entre los tratamientos estudiados.

Tabla 6. Adeva para variable acidez en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

Variable	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	38194.62	5	7639	1.32	0.3212
TRATAMIENTOS	38194.62	5	7639	1.32	0.3212
Error	69674.1	12	5806		
Total	107868.72	17			

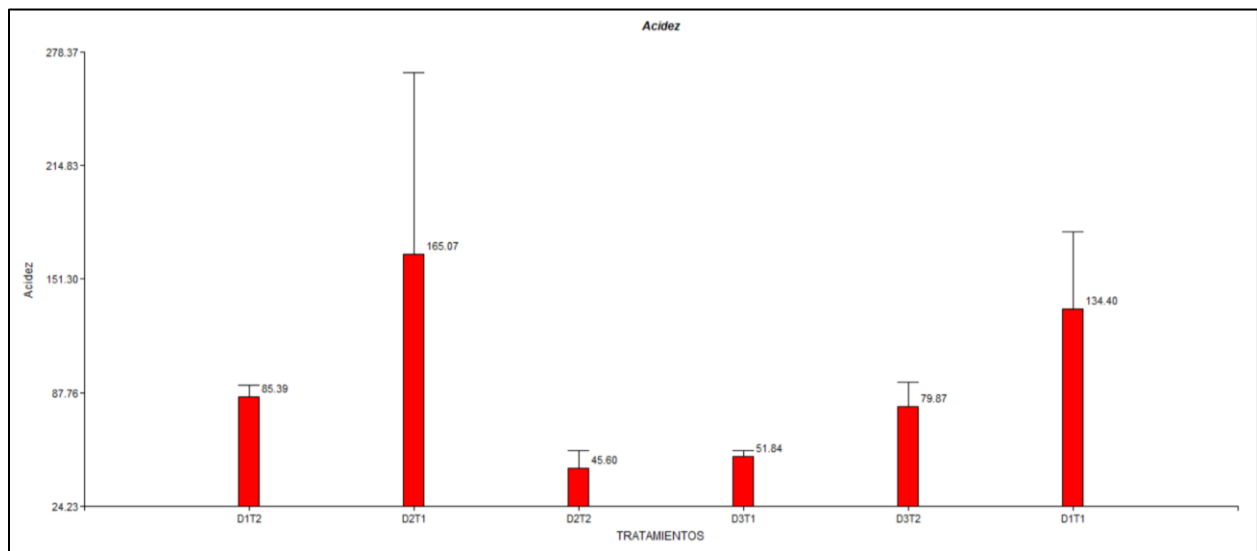


Figura 3. Promedios para variable acidez en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

3.1.4. GRADOS DE ALCOHOL

En la tabla 7 se exhibe el análisis de varianza para la variable grados de alcohol. Según el ADEVA existen diferencias estadísticas significativas (p-valor <0.0327) entre los tratamientos estudiados. En la tabla 8 se presenta la prueba de Tukey al 5 % de significancia determinando tres categorías estadísticas que difieren entre sí. En la categoría A se registró el D2T2 con 2.67 grados de alcohol promedio, mientras que el D1T1 alcanzó el menor grado de alcohol con 0.67 grados promedio.

Tabla 7. Adeva para variable Grados de alcohol en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

Variable	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	7.68	5	1.54	3.58	0.0327
TRATAMIENTOS	7.68	5	1.54	3.58	0.0327
Error	5.15	12	0.43		
Total	12.84	17			

Tabla 8. Prueba de Tukey para variable grados de alcohol en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
D2T2	2.67	3	0.4 A
D3T1	2.17	3	0.4 A B
D3T2	1.5	3	0.4 A B
D1T2	1.27	3	0.4 A B
D2T1	1.27	3	0.4 A B
D1T1	0.67	3	0.4 B

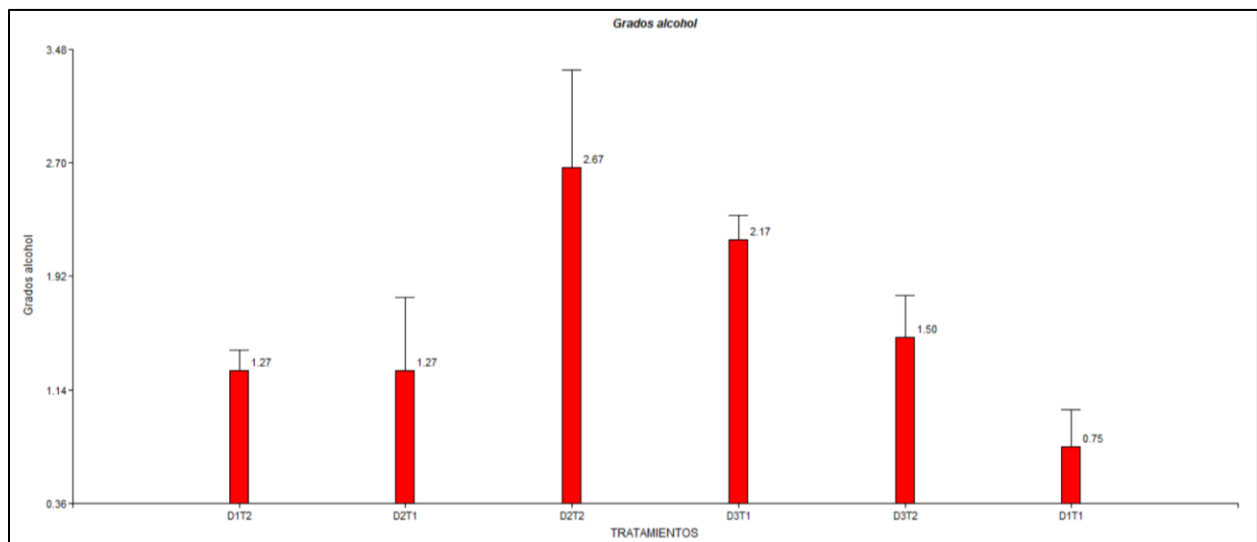


Figura 4. Promedios para variable grados de alcohol en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

3.2. VARIABLES MICROBIOLÓGICAS

3.2.1. MOHOS

En la tabla 9 se expone el cuadro de resumen para variable presencia de mohos. De acuerdo a los análisis de laboratorio (anexo 3-8), no existe presencia de mohos en ninguno de los tratamientos estudiados.

Tabla 9. Cuadro de resumen para variable mohos en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

TRATAMIENTOS/RÉPLICAS	R1	R2	R3
D1T1	Ausencia	Ausencia	Ausencia
D1T2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
D2T1	Ausencia	Ausencia	Ausencia
D2T2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
D3T1	Ausencia	Ausencia	Ausencia
D3T2	Ausencia	Ausencia	Ausencia

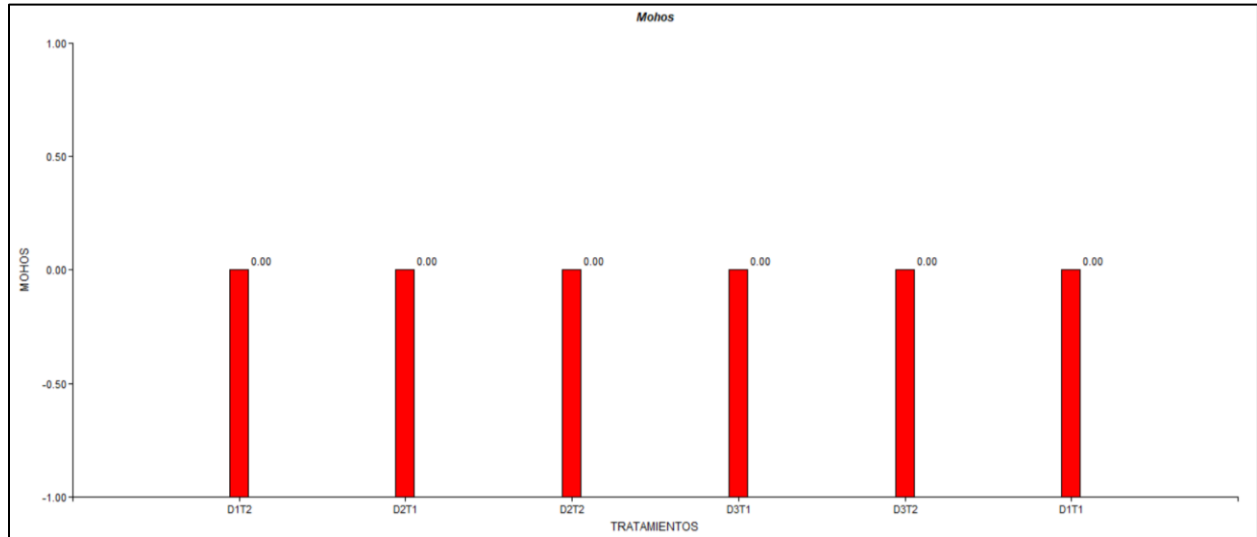


Figura 5. Promedios para variable mohos en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

3.2.2. LEVADURAS

En la tabla 10 se representa el cuadro de resumen para variable presencia de levaduras. De acuerdo a los análisis de laboratorio (anexo 3-8), no existe presencia de mohos en ninguno de los tratamientos estudiados.

Tabla 10. Cuadro de resumen para variable Levaduras en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

TRATAMIENTOS/RÉPLICAS	R1	R2	R3
D1T1	Ausencia	Ausencia	Ausencia
D1T2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
D2T1	Ausencia	Ausencia	Ausencia
D2T2	Ausencia	Ausencia	Ausencia
D3T1	Ausencia	Ausencia	Ausencia
D3T2	Ausencia	Ausencia	Ausencia

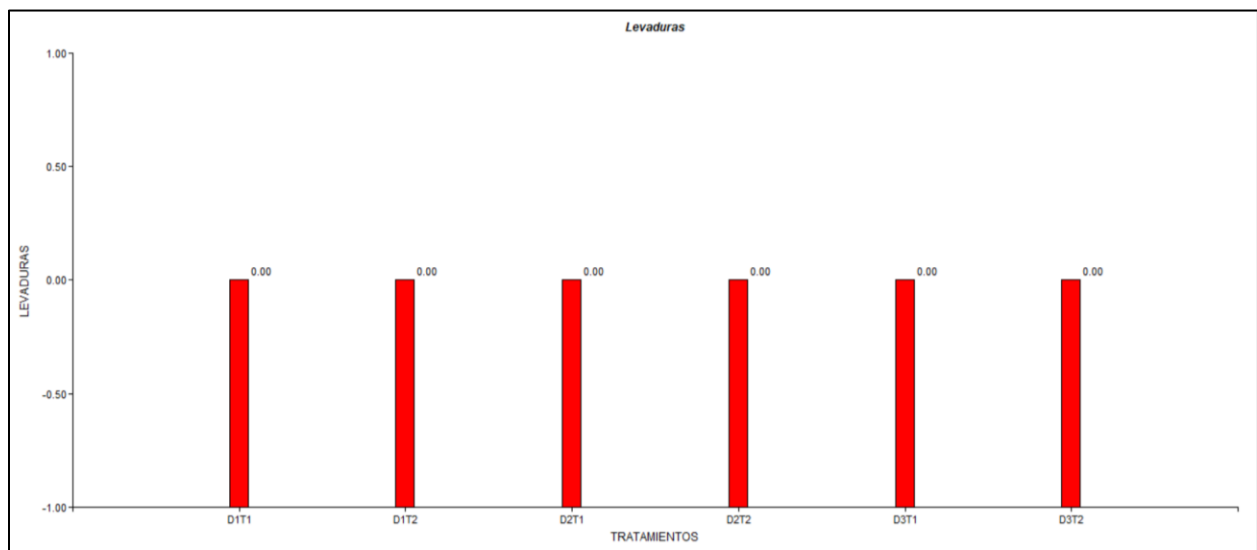


Figura 6. Promedios para variable levaduras en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

3.3. ANÁLISIS SENSORIALES

3.3.1. OLOR

En la tabla 11 se registra la prueba de Kruskal-Wallis para la variable olor (análisis sensorial), denotando estadísticas significativas (p-valor <0,0063) entre los tratamientos estudiados. En la tabla 12 se presenta el análisis de pares Kruskal-Wallis, determinando cinco categorías estadísticas que difieren entre sí. En la categoría A se registró el D2T1 con 3,5 puntos en la escala promedio, mientras que el D3T2 alcanzó el peor desempeño en relación con el olor de la muestra con 2,7 puntos en la escala promedio.

Tabla 11. Prueba de Kruskal-Wallis para variable Olor (análisis sensorial) en evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

Variable	TRATAMIENTOS	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
OLOR	D1T1	3	2,8	0,1	2,8	17,79	0,0063
OLOR	D1T2	3	2,8	0,1	2,8		
OLOR	D2T1	3	3,5	0,1	3,5		
OLOR	D2T2	3	3,2	0,1	3,2		
OLOR	D3T1	3	3,1	0,1	3,1		
OLOR	D3T2	3	2,7	0,1	2,7		
OLOR	T	3	3,3	0,1	3,3		

Tabla 12. Análisis de pares (Kruskal-Wallis) para variable Olor (análisis sensorial) en evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao, variedad CCN51.

Tratamiento	Medias	Ranks	cat.
D2T1	3,5	19,83	A
T	3,3	16,33	AB
D2T2	3,2	14,00	AB
D3T1	3,1	11,83	B
D1T1	2,8	5,83	BC
D1T2	2,8	5,83	BC
D3T2	2,7	3,33	C

Tabla 13. Análisis de pares (Kruskal-Wallis) para variable Olor con la escala cualitativa en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
D2T1	Muy bueno	3	0.1 A
T	Bueno	3	0.1 A B
D2T2	Bueno	3	0.1 B
D3T1	Bueno	3	0.1 B
D1T1	Bueno	3	0.1 C
D1T2	Bueno	3	0.1 C
D3T2	Bueno	3	0.1 C

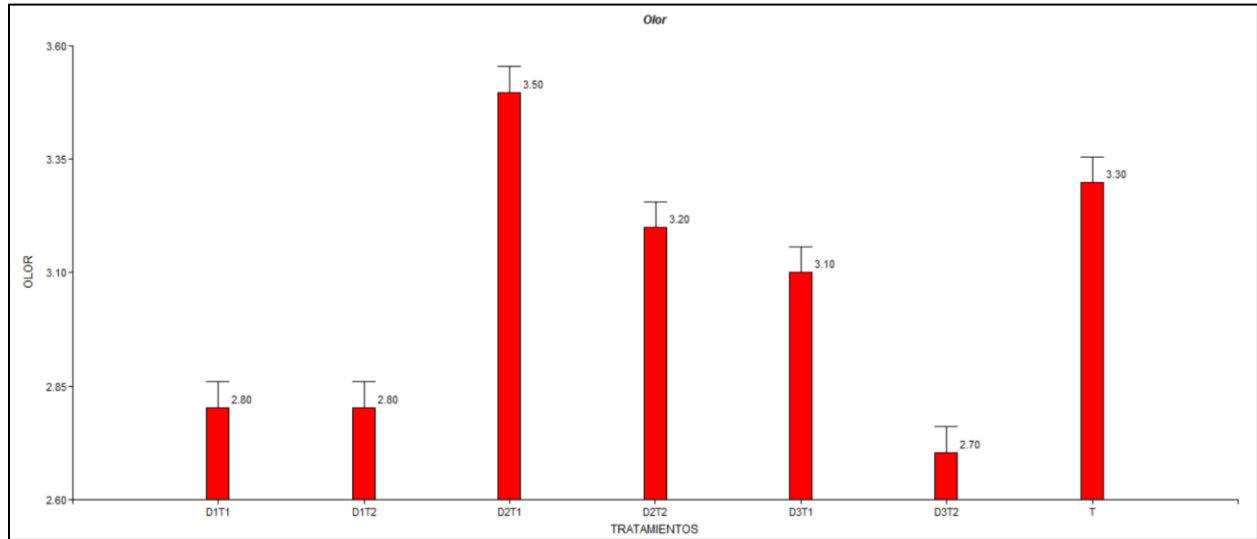


Figura 7. Promedios para variable olor en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

3.3.2. COLOR

En la tabla 13 se registra la prueba de Kruskal-Wallis para la variable color (análisis sensorial), demostrando diferencias estadísticas significativas (p -valor $<0,0044$) entre los tratamientos estudiados. En la tabla 14 se presenta el análisis de pares Kruskal-Wallis, determinando cinco categorías estadísticas que difieren entre sí. En la categoría A se registró el D2T1 con 3,9 puntos en la escala promedio, mientras que el D1T2 alcanzó el peor desempeño en relación con el color de la muestra con 2,8 puntos en la escala promedio.

Tabla 14. Prueba de Kruskal-Wallis para variable Color (análisis sensorial) en evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

Variable	TRATAMIENTOS	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
COLOR	D1T1	3	2,9	0,1	2,9	18,75	0,0044
COLOR	D1T2	3	2,8	0,1	2,8		
COLOR	D2T1	3	3,9	0,1	3,9		
COLOR	D2T2	3	3,4	0,1	3,4		
COLOR	D3T1	3	3,4	0,1	3,4		
COLOR	D3T2	3	3,2	0,1	3,2		
COLOR	T	3	3,7	0,1	3,7		

Tabla 15. Análisis de pares para variable Color en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

Trat.	Medias	Ranks	Cat.
D2T1	3,9	19,83333333	A
T	3,7	17,16666667	AB
D2T2	3,4	12,33333333	ABC
D3T1	3,4	12,33333333	ABC
D3T2	3,2	8,33333333	BC
D1T1	2,9	4,33333333	C
D1T2	2,8	2,66666667	C

Tabla 16. Análisis de pares (Kruskal-Wallis) para variable Color con la escala cualitativa en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
D2T1	Muy bueno	3	0.1 A
T	Muy bueno	3	0.1 A B
D2T2	Bueno	3	0.1 B
D3T1	Bueno	3	0.1 B
D3T2	Bueno	3	0.1 C
D1T1	Bueno	3	0.1 C
D1T2	Bueno	3	0.1 C

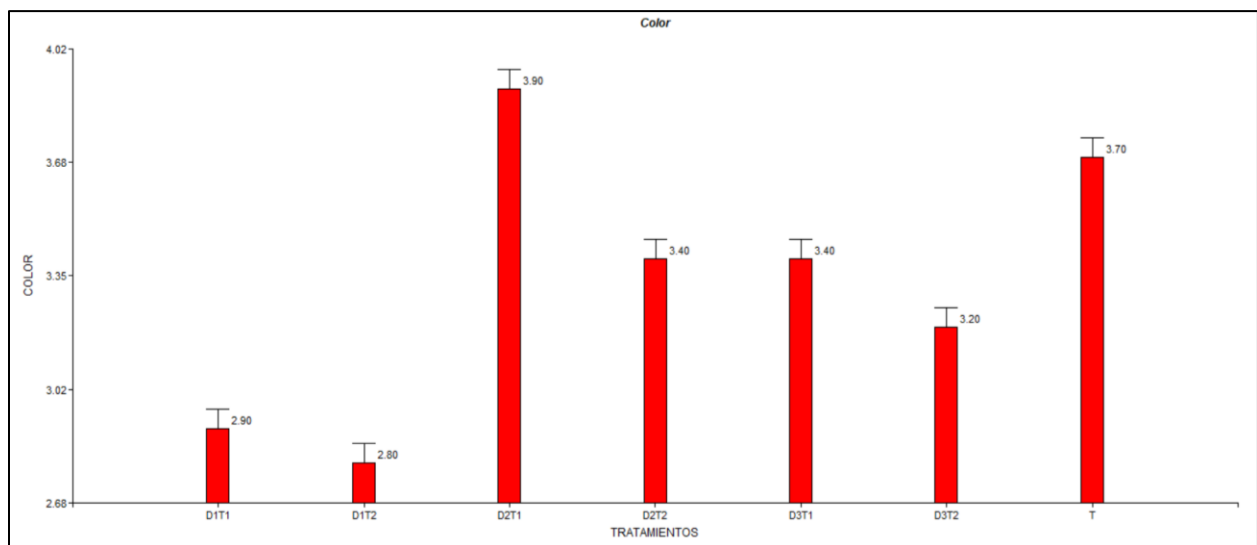


Figura 8. Promedios para variable color en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

3.3.3. SABOR

En la tabla 15 se registra el análisis de varianza para la variable sabor (análisis sensorial). Según el ADEVA existen diferencias estadísticas altamente significativas (p-valor <0.0001) entre los tratamientos estudiados. En la tabla 16 se presenta la prueba de Tukey al 5 % de significancia, determinando cinco categorías estadísticas que difieren entre sí. En la categoría A se registró el D2T1 con 3.9 puntos en la escala promedio.

Tabla 17. Adeva para variable Sabor (análisis sensorial) en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

Variable	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	4.05	6	0.67	67.43	<0.0001
TRATAMIENTOS	4.05	6	0.67	67.43	<0.0001
Error	0.14	14	0.01		
Total	4.19	20			

Tabla 18. Prueba de Tukey para variable Sabor (análisis sensorial) en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao, variedad CCN51.

TRATAMIENTOS	Medias	n		E.E.
D2T1	3.9	3	0.1	A
D2T2	3.2	3	0.1	B
D3T1	3.1	3	0.1	B C
T	2.9	3	0.1	C
D3T2	2.6	3	0.1	D
D1T2	2.6	3	0.1	D
D1T1	2.6	3	0.1	D

Tabla 19. Prueba de Tukey para variable Sabor con la escala cualitativa en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

TRATAMIENTOS	Medias	n		E.E.
D2T1	Muy bueno	3	0.1	A
T	Bueno	3	0.1	A B
D2T2	Bueno	3	0.1	B
D3T1	Bueno	3	0.1	B
D1T2	Bueno	3	0.1	C
D1T1	Bueno	3	0.1	C
D3T2	Bueno	3	0.1	C

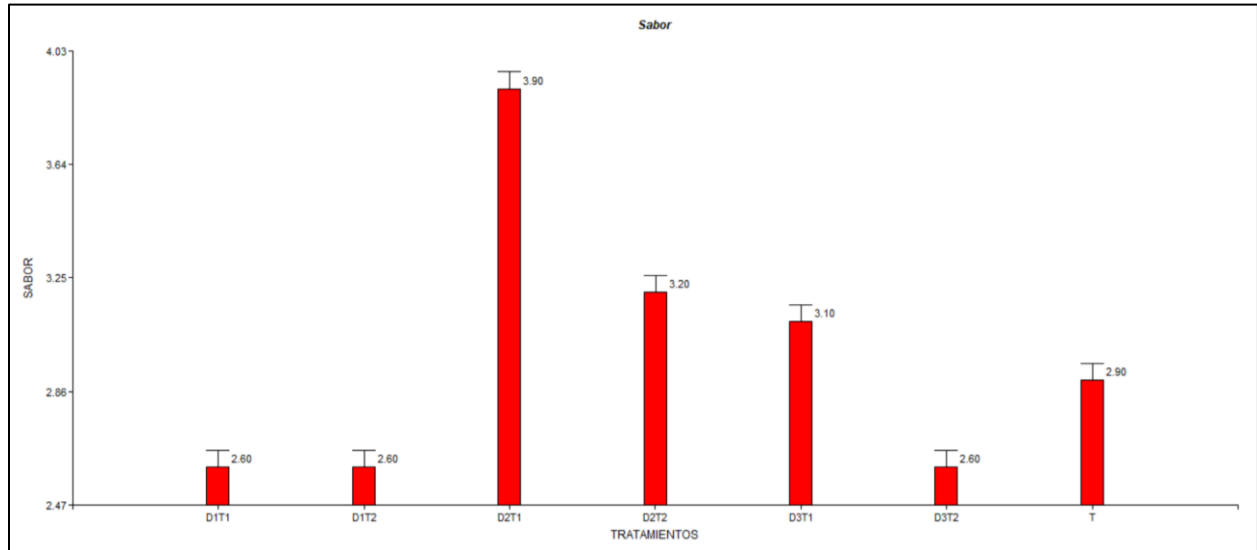


Figura 9. Promedios para variable sabor en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

3.3.4. TEXTURA

En la tabla 17 se registra el análisis de varianza para la variable textura (análisis sensorial). Según el ADEVA existen diferencias estadísticas altamente significativas (p -valor <0.0001) entre los tratamientos estudiados. En la tabla 18 se presenta la prueba de Tukey al 5 % de significancia, determinando cinco categorías estadísticas que difieren entre sí. En la categoría A se registró el D2T1 y D2T2 con 4.1 y 4 puntos en la escala promedio, mientras que el testigo alcanzó el peor desempeño en relación con la textura de la muestra con 2.7 puntos en la escala promedio.

Tabla 20. Adeva para variable textura (análisis sensorial) en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

Variable	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3.82	6	0.64	63.71	<0.0001
TRATAMIENTOS	3.82	6	0.64	63.71	<0.0001
Error	0.14	14	0.01		
Total	3.96	20			

Tabla 21. Prueba de Tukey para variable textura (análisis sensorial) en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.		
D2T1	4.1	3	0.1	A	
D2T2	4	3	0.1	A	
D1T1	3.7	3	0.1	B	
D1T2	3.6	3	0.1	B	C
D3T1	3.5	3	0.1	B	C
D3T2	3.4	3	0.1	C	
T	2.7	3	0.1	D	

Tabla 22. Prueba de Tukey para variable Olor con la escala cualitativa en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
D2T1	Muy bueno	3	0.1	A
T	Muy bueno	3	0.1	A B
D2T2	Muy bueno	3	0.1	B
D3T1	Muy bueno	3	0.1	B
D1T2	Muy bueno	3	0.1	C
D1T1	Bueno	3	0.1	C
D3T2	Bueno	3	0.1	C

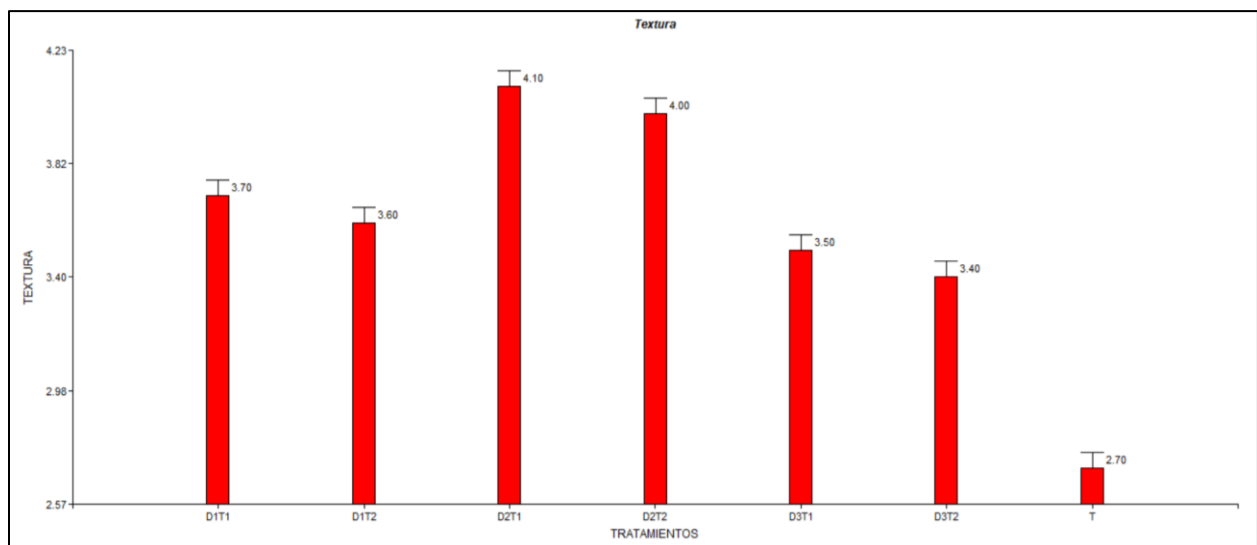


Figura 10. Promedios para variable textura en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

3.3.5. ANÁLISIS SENSORIAL GENERAL

En la tabla 19 constan los registros (promedios) de campo (sala de catación) obtenidos para todos los tratamientos en torno a las variables olor, color, sabor y textura. Se identifica que el tratamiento 10 días de fermentación + 35 °C en la estufa (D2T1), registró el mejor promedio (3.8) para cada una de las variables. El peor desempeño lo registró el tratamiento 5 días de fermentación + 35 °C en la estufa (D1T1), tratamiento 5 días de fermentación + 40 °C en la estufa (D1T2) y 15 días de fermentación + 40 °C en la estufa (D3T2).

Según la tabla 23, los mejores registros para las pruebas sensoriales desde la escala cualitativa, fueron alcanzados por el tratamiento 10 días de fermentación + 35 °C en la estufa (D2T1). olor (Muy bueno), color (Muy bueno), sabor (Muy bueno) y textura (Muy bueno).

Tabla 23. Registros de sala para variable Análisis Sensorial en Evaluación de tiempos y temperatura en la fermentación alcohólica del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.), variedad CCN51.

MUESTRAS							
ATRIBUTOS	D1T1	D1T2	D2T1	D2T2	D3T1	D3T2	T
OLOR	2.8 B	2.8 B	3.5 MB	3.2 B	3.1 B	2.7 B	3.3 B
COLOR	2.9 B	2.8 B	3.9 B	3.4 B	3.4 B	3.2 B	3.7 MB
SABOR	2.6 B	2.6 B	3.9 MB	3.2 B	3.1 B	2.6 B	2.9 B
TEXTURA	3.7 MB	3.6 MB	4.1 MB	4.0 MB	3.5 MB	3.4 B	2.7 B
Media	3.0 B	3.0 B	3.8 MB	3.5 MB	3.3 B	3.0 B	3.1 B

4. DISCUSIÓN

El presente estudio estableció diferencias significativas (p -valor <0.0001) entre los tratamientos para la variable pH. El tratamiento con mejor desempeño fue el D1T1 (5 días de fermentación + 35 °C en la estufa) y D1T2 (5 días de fermentación + 40 °C en la estufa). Estos resultados indican que los días de fermentación sí inciden sobre el nivel de pH del alcohol, ratificando los resultados de Vera *et al.* (2014), quienes registraron diferencias estadísticas entre los tratamientos sometidos a diferentes frecuencias de fermentación.

No obstante, los resultados difieren de los evidenciados por Torres *et al.* (2016), quienes demostraron que el pH de las jaleas de cacao debe ser regulado artificialmente hasta alcanzar el valor de 3,5 mediante la adición de ácido cítrico, obteniendo un promedio de pH de 3,4. El presente estudio obtuvo un promedio de 4,05.

Por su parte, Espinoza y Mendieta (2018) establecieron que los tratamientos expuestos a la aplicación de 30% de lactosuero y 70% de mucílago de cacao al cabo de 60 horas de fermentación, registraron descensos de pH mayores en comparación a los demás tratamientos, demostrando la incidencia de una mayor exposición sobre el pH del alcohol.

En relación con los grados brix, la presente investigación no evidenció diferencias estadísticas entre los tratamientos estudiados (p -valor >0.1172). Según este dato, ni la frecuencia de fermentación (factor A), ni los niveles de temperatura (factor B), tienen incidencia sobre los grados brix del alcohol a base de mucílago de cacao.

Estos resultados tienen incidencia sobre el volumen de alcohol producido a partir del mucílago, se acuerdo a lo expuesto por Luna (2018). Según este autor la producción de etanol es directamente

proporcional a la cantidad de azúcares presentes del mucílago de cacao, ya que en el transcurso del tiempo de fermentación existe una disminución gradual de la concentración de los azúcares reductores disponibles y un incremento de producción de etanol. Dándonos a conocer que a partir de $20,85 \pm 0,05$ % de azúcares reductores se puede generar mediante fermentación alcohólica 11,62% de etanol (Luna, 2018).

La acidez es otra variable que parece no estar incidida por los factores estudiados (frecuencia de fermentación-temperatura). El presente estudio evidenció que no existen diferencias estadísticas significativas (p-valor > 0.3212) entre los tratamientos estudiados.

Con estos resultados coinciden Vera *et al.* (2014); López (1985) y Jiménez y Bonilla (2012), quienes evidenciaron que la acidez es un factor proporcional al pH, sin encontrar diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos estudiados.

Para la variable grados de alcohol, el presente estudio determinó la existencia de diferencias estadísticas significativas (p-valor < 0.0327). Este dato estima que tanto la frecuencia de fermentación y la temperatura de exposición del mosto, inciden sobre el grado de alcohol de cada uno de los tratamientos. El mejor desempeño fue alcanzado por D2T2 (10 días de fermentación + 40 °C en la estufa) con 2.67 grados de alcohol promedio, demostrando que el incremento de los días de fermentación (de 5 a 10) es proporcional al incremento de los grados de alcohol.

Estos resultados difieren a los registrados por Hinostroza, García y Leandro (2017), quienes evidenciaron un grado de alcohol promedio de 13°, determinando que la fermentación se reduce en un menor tiempo de 47,67 y se incrementa a una mayor fracción de tiempo de fermentación (108 horas).

Adicionalmente, el incremento de los grados de alcohol está incidido por el aumento de la temperatura de 35 °C a 40 °C. Estos resultados ratifican los obtenidos por Goya (2013), quien identificó a los parámetros de temperatura como incidentes en el incremento del grado alcohol y de la calidad del mismo.

En relación con los parámetros microbiológicos, ninguno de los tratamientos experimentó presencia de mohos y levaduras. Este efecto parece estar relacionado a la propia naturaleza alcohólica del producto obtenido. Se evidencia que cada tratamiento suprime el crecimiento de cepas.

Resultados similares a los de Vera *et al.* (2014); Castaño y Mejía (2018); Chang, Apolo y Tamayo (2019); Corrales, Leiva y Lazo (2015) y Espinoza y Mendieta (2018). Estas investigaciones determinaron la inexistencia de mohos y levaduras sobre mostos de alcohol en base a mucílago de cacao.

En relación con las características sensoriales de los tratamientos, la sala de catación determinó diferencias estadísticas altamente significativas para la variable olor (p-valor <0,0063) con un mejor desempeño del tratamiento D2T1 (10 días de fermentación + 35 °C en la estufa) con 3,5 puntos en la escala promedio. Este tratamiento también obtuvo un mejor desempeño para la variable color (3,9 puntos), evidenciando diferencias estadísticas significativas (p-valor <0,0044).

Adicionalmente, se establecieron diferencias estadísticas altamente significativas para la variable sabor (p-valor <0.0001), con un rendimiento sobresaliente del mismo D2T1 (10 días de fermentación + 35 °C en la estufa) con 3,9 puntos en la escala promedio. Finalmente, se evidenciaron diferencias estadísticas altamente significativas para la variable textura (p-valor

<0.0001), con un mejor rendimiento de D2T1 (10 días de fermentación + 35 °C en la estufa) y D2T2 (10 días de fermentación + 40 °C en la estufa) con 4.1 y 4 puntos en la escala promedio.

Los resultados registrados para las variables sensoriales evidenciaron al D2T1 (10 días de fermentación + 35 °C en la estufa) liderando el ranking de desempeño para las variables olor, color sabor y textura. Evidentemente, la frecuencia de fermentación tiene incidencia sobre las características sensoriales que miden la calidad organoléptica del alcohol en base al mucílago de cacao.

Resultados que ratifican los de Espinoza y Mendieta (2018). Estos autores demostraron que el tratamiento con el 10% de lactosuero y 90% de mucílago de cacao presentó las mejores propiedades fisicoquímicas y la mejor aceptabilidad por parte de los catadores. Este resultado registra una mayor incidencia del mucílago sobre las variables sensoriales.

5. CONCLUSIONES

- La presente investigación evidenció que el tiempo de fermentación del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN51 idóneo para la obtención de alcohol, es de 10 días. Los tratamientos desarrollados con esta frecuencia de fermentación alcanzaron mejores registros de acidez (10 días de fermentación + 40 °C en la estufa: 45,60 grados), grados de alcohol (2,67 °GL), olor (3,5 puntos), color (3,9 puntos), sabor (3,9 puntos) y textura (4,1 puntos).
- El rango de temperatura idóneo en el proceso de fermentación para la extracción de etanol a partir del cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad CCN51 fue el tratamiento con exposición del mosto a 40 °C. Se obtuvieron registros superiores que el resto de tratamientos para la variable grados brix (7,33 °Bx), acidez (45,60 %) y grados de alcohol (2,67 °GL).
- Los resultados registrados para las variables sensoriales evidenciaron al D2T1 (10 días de fermentación + 35 °C en la estufa) liderando el ranking de desempeño para las variables olor (3,5 puntos), color (3,9 puntos), sabor (3,9 puntos) y textura (4,1 puntos). Se concluye que la frecuencia de fermentación tiene incidencia sobre las características sensoriales que miden la calidad organoléptica del alcohol en base al mucílago de cacao.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta, C. (2012). *Evaluación de la fermentación alcohólica para la producción de hidromiel*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.
- Arteaga, Y. (2013). Estudio del desperdicio del mucilago de cacao en el cantón Naranjal. *Revista ECA Sinergia*, 4(4), 49-59.
- Asociación Nacional de Exportadores de Cacao (ANECACAO). (2017). Sabor Arriba. *Revista Especializada en Cacao*, 1 (2): 23-27.
- Carpenter, R., Lyon, D., Hasdell, T., & Aguilera, M. (2012). *Análisis sensorial en el desarrollo y control de la calidad de alimentos*. Zaragoza: Acribia.
- Castaño, H., & Mejía, C. (2018). Producción de etanol a partir de almidón de yuca utilizando la estrategia de proceso sacarificación-fermentación simultáneas (SSF). *Vitae*, 15(2), 251-258.
- Chang, F., Apolo, M., & Tamayo, L. (2019). Calidad física de almendras en veintiún cruces interclonales de cacao (*Theobroma Cacao* L.) en Ecuador. *Universidad y Sociedad*, 11(2), 402-408.
- Corrales, V., Leiva, M., & Lazo, Z. (2015). Evaluación y determinación de la producción de vino y alcohol a partir de exudado de cacao, cooperativa multifuncional cacaotera la campesina R. *El Higo Revista Científica*, 5(1), 2-16.
- Cuenca, E., Puentes, Y., & Menjivar, J. (2019). Efficient use of nutrients in fine aroma cacao in the province of Los Ríos-Ecuador. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 72(3), 8963-8970.

- Espinoza, H., & Mendieta, E. (2018). *Efectos de la fermentación láctica del lactosuero y alcohólica del mucílago de cacao en la concentración final de una bebida alcohólica (Tesis de Ingeniería Agroindustrial)*. Calceta: ESPAM MFL.
- García, J. (2008). *Meridaje, Enología y Cata de vinos*. Málaga: Innovación y Cualificación.
- Goya, M. (2013). *Obtención de una bebida alcohólica a partir de mucílago de cacao, mediante fermentación anaerobia en diferentes tiempos de inoculación (Bachelor's thesis)*. Quevedo: Universidad Técnica de Quevedo.
- Guillen, J. (13 de Enero de 2020). Metodología para análisis sensorial. (Y. Basurto, Entrevistador)
- Hinostroza, Y., García, E., & Leandro, C. (2017). *Rendimiento de alcohol del mucílago de cacao (Thebroma cacao L.) de los clones CCN-51 e IMC-67 con el uso de levadura comercial (Saccharomyces cerevisiae Meyen ex EC Hansen)*. Pucallpa: Universidad Nacional de Ucayali.
- INEC. (2013). *Consumo de alcohol en Ecuador*. Obtenido de <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/mas-de-900->
- INEN. (3 de diciembre de 2019). *Reseña histórica*. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/resena-historica/>
- Instituto Ecuatoriano de Normalización. (1978). *Determinación de la acidez de bebidas alcohólicas*. Quito: NTE INEN 341.
- International Cocoa Organization (ICCO). (2017). *Quartely Bulletin of Cocoa Statistics*. Obtenido de www.icco.org

- Jespersen, L. (2003). Occurrence and taxonomic characteristics of strains of *Saccharomyces cerevisiae* predominant in African indigenous fermented foods and beverages. *FEMS yeast research*, 3(2), 191-200.
- Jiménez, F., & Bonilla, M. (2012). *Aprovechamiento de mucílago y maguey de cacao (Theobroma cacao) fino de aroma para la elaboración de mermelada (Bachelor's thesis)*. Latacunga: Universidad Estatal de Bolívar.
- López, J. (2013). *OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DE LA FERMENTACIÓN DE MUCÍLAGO DE CACAO (Theobroma cacao L.) EN LA PLANTA DE FRUTAS Y HORTALIZAS DE LA UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR*. Guaranda: Universidad Estatal de Bolívar.
- Luna, T. (2018). *Producción de etanol a partir del mucílago de cacao (theobroma cacao) mediante fermentación alcohólica (Bachelor's thesis)*. Machala: Universidad Técnica de Machala.
- Moreno, J. (2015). *BBC*. Obtenido de https://www.bbc.com/mundo/noticias/2015/07/150723_consumo_alcohol_latino
- PROECUADOR. (2 de enero de 2019). *Cacao y Elaborados*. Obtenido de Cacao en Grano y Semielaborados en India: <https://www.proecuador.gob.ec/category/sector/cacao-y-elaborados/page/2/>
- Rodríguez, E. (1998). *Manual de Física General y aplicada a la Agricultura y a la Industria*. Madrid: Editorial Fundición y Librería de Don Eusebio Aguado.
- Rubio, A., Hernández, M., Aguirre, A., & Poutou, R. (2008). Identificación preliminar in vitro de propiedades probióticas en cepas de *S. cerevisiae*. *Revista MVZ Córdoba*, 13(1), 1157-1169.

- Saavedra, M. (2012). Una propuesta para la determinación de la competitividad en la pyme latinoamericana. *Pensamiento & Gestión*, (33), 93-124.
- SERVICIO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (1990). *NTE 273 DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD DE GRADOS BRUX*. Quito: INEN.
- SERVICIO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (1999). *NTE INEN 1 529-2:99 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS TOMA, ENVÍO Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS PARA EL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO*. Quito: INEN.
- SERVICIO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2013). *NTE INEN 1529. CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LOS ALIMENTOS. MOHOS Y LEVADURAS VIABLES. RECUENTOS EN PLACA POR SIEMBRA EN PROFUNDIDAD*. Quito: INEN.
- SERVICIO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2013). *NTE INEN 820 AGENTES SURFACTANTES. DETERMINACIÓN DEL PH*. Quito: INEN.
- SERVICIO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. (2016). *NTE 340 DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ALCOHOL ETÍLICO. MÉTODO DEL ALCOHOLÍMETRO DE VIDRIO*. Quito: INEN.
- Suárez, C., Garrido, N., & Guevara, C. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, 50(1), 20-28.
- Téllez, P., Peraza, F., Fera, A., & Andrade, I. (2012). Optimización del proceso de fermentación para la producción de tequila, utilizando la metodología de superficie de respuesta (MSR). *Revista mexicana de ingeniería química*, 11(1), 163-176.

- Torres, A., Ocampo, R., Rodríguez, W., Velasco, R., Chang, J., & Cedeño, C. (2016). Utilización del mucílago de cacao, tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea. *Revista ESPAMCIENCIA ISSN 1390-8103*, 7(1), 51-58.
- Vallejo, C., Vera, J., Quintana, J., Verdezoto, D., Cajas, L., & Mendoza, T. (2018). Bacterias ácido lácticas presentes en el mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) de dos variedades. *Revista de Investigación Talentos*, 5(1), 59-68.
- Vera, J., Vallejo, C., Pàrraga, D., Macías, J., Ramos, R., & Morales, W. (2014). Propiedades físico-químicas y sensoriales de las almendras de quince clones de cacao Nacional (L.) en el Ecuador. *Revista Ciencia y tecnología*, 7(2):21-27.

7. ANEXOS

Anexo 1. Resultados de análisis microbiológicos tratamiento D1T1



Laboratorio
de
Microbiología



ESPAMMFL
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
AGROPECUARIA DE MANABI MANUEL FÉLIX LÓPEZ



Laboratorio
de
Microbiología

REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS			
CLIENTE:	Yuri Basurto Bravo	CI:	1316463213
DIRECCIÓN:	Chone	Nº DE ANÁLISIS	21
TELÉFONO:	0979179793	FECHA DE RECIBIDO	10/12/2019
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Mucilago de cacao D ₁ T ₁ R ₁ y D ₁ T ₁ R ₃	FECHA DE ANÁLISIS	10/12/2019
CANTIDAD RECIBIDA:	20 ml	FECHA DE MUESTREO	11/12/2019
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	12/12/2019

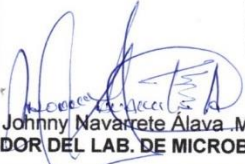
RESULTADOS

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 1 D ₁ T ₁ R ₁ 5 días fermentación Temperatura de 35° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr
MUESTRA # 2 D ₁ T ₁ R ₃ 5 días fermentación Temperatura de 35° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

NOTA:

El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras
 Resultados validos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros productos de la misma precedencia.
 Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.




 Blgo. Johnny Navarrete Alava, MPA
COORDINADOR DEL LAB. DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL ÁREA AGROPECUARIA DE LA ESPAM MFL
 Correo: labmicrobiologiamv@espam.edu.ec

Anexo 2. Resultados de análisis microbiológicos tratamiento D2T1



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS			
CLIENTE:	Yuri Basurto Bravo	CI:	1316463213
DIRECCIÓN:	Chone	Nº DE ANÁLISIS	22
TELÉFONO:	0979179793	FECHA DE RECIBIDO	13/12/2019
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Mucílago de cacao D ₂ T ₁ R ₁ y D ₂ T ₁ R ₃	FECHA DE ANÁLISIS	13/12/2019
CANTIDAD RECIBIDA:	20 ml	FECHA DE MUESTREO	14/12/2019
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	16/12/2019

RESULTADOS

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 1 D ₂ T ₁ R ₁ 10 días fermentación Temperatura de 35° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 2 D ₂ T ₁ R ₃ 10 días fermentación Temperatura de 35° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

NOTA:

El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras
Resultados validos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros
productos de la misma precedencia.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Blgo. Johnny Navarrete Alava .MPA
COORDINADOR DEL LAB. DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL ÁREA AGROPECUARIA DE LA ESPAM MFL
Correo: labmicrobiologiamv@espm.edu.ec

Anexo 3. Resultados de análisis microbiológicos tratamiento D3T1



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS			
CLIENTE:	Yuri Basurto Bravo	CI:	1316463213
DIRECCIÓN:	Chone	Nº DE ANÁLISIS	23
TELÉFONO:	0979179793	FECHA DE RECIBIDO	18/12/2019
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Mucílago de cacao D ₃ T ₁ R ₁ y D ₃ T ₁ R ₃	FECHA DE ANÁLISIS	18/12/2019
CANTIDAD RECIBIDA:	20 ml	FECHA DE MUESTREO	19/12/2019
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	21/12/2019

RESULTADOS

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 1 D ₃ T ₁ R ₁ 15 días fermentación Temperatura de 35° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 2 D ₃ T ₁ R ₃ 15 días fermentación Temperatura de 35° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

NOTA:

El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras
Resultados validos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros productos de la misma precedencia.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Johnny Navarrete Alava
Blgo. Johnny Navarrete Alava .MPA
COORDINADOR DEL LAB. DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL ÁREA AGROPECUARIA DE LA ESPAM MFL
Correo: labmicrobiologia@espam.edu.ec

Anexo 4. Resultados de análisis microbiológicos tratamiento D1T2



Laboratorio
de
Microbiología



ESPAMMFL
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LOPEZ



Laboratorio
de
Microbiología

REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS			
CLIENTE:	Yuri Basurto Bravo	CI:	1316463213
DIRECCIÓN:	Chone	N° DE ANÁLISIS	001
TELÉFONO:	0979179793	FECHA DE RECIBIDO	08/01/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Mucílago de cacao D ₁ T ₂ R ₁ y D ₁ T ₂ R ₃	FECHA DE ANÁLISIS	08/01/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	20 ml	FECHA DE MUESTREO	09/01/2020
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	10/01/2020

RESULTADOS

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 1 D ₁ T ₂ R ₁ 5 días fermentación Temperatura de 40° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 2 D ₁ T ₂ R ₃ 5 días fermentación Temperatura de 40° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

NOTA:

El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras
Resultados validos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros
productos de la misma precedencia.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Blgo. Johnny Navarrete Alava, MPA
COORDINADOR DEL LAB. DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL ÁREA AGROPECUARIA DE LA ESPAM MFL
Correo: labmicrobiologiainmv@espam.edu.ec

Anexo 5. Resultados de análisis microbiológicos tratamiento D2T2



Laboratorio
de
Microbiología



ESPAMMFL
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LOPEZ



Laboratorio
de
Microbiología

REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

CLIENTE:	Yuri Basurto Bravo	CI:	1316463213
DIRECCIÓN:	Chone	Nº DE ANÁLISIS	002
TELÉFONO:	0979179793	FECHA DE RECIBIDO	13/01/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Mucílago de cacao D ₂ T ₂ R ₁ y D ₂ T ₂ R ₃	FECHA DE ANÁLISIS	13/01/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	20 ml	FECHA DE MUESTREO	14/01/2020
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	15/01/2020

RESULTADOS

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 1 D ₂ T ₂ R ₁ 10 días fermentación Temperatura de 40° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 2 D ₂ T ₂ R ₃ 10 días fermentación Temperatura de 40° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

NOTA:

El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras
Resultados validos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros
productos de la misma precedencia.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Blgo. Johnny Navarrete Alava .MPA
COORDINADOR DEL LAB. DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL ÁREA AGROPECUARIA DE LA ESPAM MFL
Correo: labmicrobiologia@espam.edu.ec

Anexo 6. Resultados de análisis microbiológicos tratamiento D3T2



Laboratorio
de
Microbiología



ESPAMMFL
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
AGROPECUARIA DE MANABI MANUEL FÉLIX LÓPEZ



Laboratorio
de
Microbiología

REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

CLIENTE:	Yuri Basurto Bravo	CI:	1316463213
DIRECCIÓN:	Chone	Nº DE ANÁLISIS	003
TELÉFONO:	0979179793	FECHA DE RECIBIDO	17/01/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Mucílago de cacao D ₃ T ₂ R ₁ y D ₃ T ₂ R ₃	FECHA DE ANÁLISIS	17/01/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	20 ml	FECHA DE MUESTREO	18/01/2020
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	19/01/2020

RESULTADOS

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 1 D ₃ T ₂ R ₁ 10 días fermentación Temperatura de 40° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 2 D ₃ T ₂ R ₃ 15 días fermentación Temperatura de 40° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

NOTA:

El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras
Resultados validos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros
productos de la misma precedencia.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Blgo. Johnny Navarrete Alava -MPA
COORDINADOR DEL LAB. DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL ÁREA AGROPECUARIA DE LA ESPAM MFL
Correo: labmicrobiologiamv@espam.edu.ec

Anexo 7. Resultados de análisis microbiológicos tratamiento D1T1



Laboratorio
de
Microbiología



ESPAMMFL
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ



Laboratorio
de
Microbiología

REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS			
CLIENTE:	Yuri Basurto Bravo	CI:	1316463213
DIRECCIÓN:	Chone	Nº DE ANÁLISIS	004
TELÉFONO:	0979179793	FECHA DE RECIBIDO	17/01/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Mucílago de cacao D ₁ T ₁ R ₁ y D ₁ T ₁ R ₃ (2t)	FECHA DE ANÁLISIS	17/01/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	20 ml	FECHA DE MUESTREO	18/01/2020
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	19/01/2020

RESULTADOS

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 1 D ₁ T ₁ R ₁ (2t) 5 días fermentación Temperatura de 35° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 2 D ₁ T ₁ R ₃ (2t) 5 días fermentación Temperatura de 35° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

NOTA:

El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras
Resultados validos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros
productos de la misma precedencia.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Blgo. Johnny Navarrete Alava .MPA
COORDINADOR DEL LAB. DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL ÁREA AGROPECUARIA DE LA ESPAM MFL
Correo: labmicrobiologiamv@espam.edu.ec

Anexo 8. Resultados de análisis microbiológicos tratamiento D2T1



Laboratorio
de
Microbiología



ESPAMMFL
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ



Laboratorio
de
Microbiología

REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS			
CLIENTE:	Yuri Basurto Bravo	CI:	1316463213
DIRECCIÓN:	Chone	Nº DE ANÁLISIS	005
TELÉFONO:	0979179793	FECHA DE RECIBIDO	22/01/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Mucílago de cacao D ₂ T ₁ R ₁ y D ₂ T ₁ R ₃ (2t)	FECHA DE ANÁLISIS	22/01/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	20 ml	FECHA DE MUESTREO	23/01/2020
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	24/01/2020

RESULTADOS

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 1 D ₂ T ₁ R ₁ (2t) 10 días fermentación Temperatura de 35° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 2 D ₂ T ₁ R ₃ (2t) 10 días fermentación Temperatura de 35° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

NOTA:

El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras
Resultados validos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros productos de la misma precedencia.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Bigo. Johnny Navarrete Alava .MPA
COORDINADOR DEL LAB. DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL ÁREA AGROPECUARIA DE LA ESPAM MFL
Correo: labmicrobiologiamv@espam.edu.ec

Anexo 9. Resultados de análisis microbiológicos tratamiento D1T2

 Laboratorio de Microbiología		 ESPAMMFL ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ		 Laboratorio de Microbiología	
REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS					
CLIENTE:	Yuri Basurto Bravo		CI:	1316463213	
DIRECCIÓN:	Chone		Nº DE ANÁLISIS	006	
TELÉFONO:	0979179793		FECHA DE RECIBIDO	24/01/2020	
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Mucilago de cacao D ₁ T ₂ R ₁ y D ₁ T ₂ R ₃ (2t)		FECHA DE ANÁLISIS	24/01/2020	
CANTIDAD RECIBIDA:	20 ml		FECHA DE MUESTREO	25/01/2020	
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad		FECHA DE REPORTE	26/01/2020	

RESULTADOS


MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 1 D ₁ T ₂ R ₁ (2t) 5 días fermentación Temperatura de 40° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 2 D ₁ T ₂ R ₃ (2t) 5 días fermentación Temperatura de 40° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

NOTA:

El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras
 Resultados validos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros
 productos de la misma precedencia.
 Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.




 Blgo. Johnny Navarrete Alaya .MPA
 COORDINADOR DEL LAB. DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL ÁREA AGROPECUARIA DE LA ESPAM MFL
 Correo: labmicrobiologiamv@espam.edu.ec

Anexo 10. Resultados de análisis microbiológicos tratamiento D3T1



Laboratorio
de
Microbiología



ESPAMMFL
ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA
AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ



Laboratorio
de
Microbiología

REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS			
CLIENTE:	Yuri Basurto Bravo	CI:	1316463213
DIRECCIÓN:	Chone	N° DE ANÁLISIS	007
TELÉFONO:	0979179793	FECHA DE RECIBIDO	27/01/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Mucílago de cacao D ₃ T ₁ R ₁ y D ₃ T ₁ R ₃ (2t)	FECHA DE ANÁLISIS	27/01/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	20 ml	FECHA DE MUESTREO	28/01/2020
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	29/01/2020

RESULTADOS

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 1 D ₃ T ₁ R ₁ (2t) 15 días fermentación Temperatura de 35° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 2 D ₃ T ₁ R ₃ (2t) 15 días fermentación Temperatura de 35° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

NOTA:

El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras
Resultados validos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros productos de la misma precedencia.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Blgo. Johnny Navarrete Alava .MPA
COORDINADOR DEL LAB. DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL ÁREA AGROPECUARIA DE LA ESPAM MFL
Correo: labmicrobiologiamv@espam.edu.ec

Anexo 11. Resultados de análisis microbiológicos tratamiento D2T2

  			
ESPAMMFL ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ			
REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS			
CLIENTE:	Yuri Basurto Bravo	CI:	1316463213
DIRECCIÓN:	Chone	Nº DE ANÁLISIS	008
TELÉFONO:	0979179793	FECHA DE RECIBIDO	29/01/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Mucílago de cacao D ₂ T ₂ R ₁ y D ₂ T ₂ R ₃ (2t)	FECHA DE ANÁLISIS	29/01/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	20 ml	FECHA DE MUESTREO	30/01/2020
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	31/01/2020

RESULTADOS

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 1 D₂T₂R₁ (2t) 10 días fermentación Temperatura de 40° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 2 D₂T₂R₃ (2t) 10 días fermentación Temperatura de 40° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

NOTA:

El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras
 Resultados validos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros productos de la misma precedencia.
 Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Blgo. Johnny Navarrete Álava .MPA
COORDINADOR DEL LAB. DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL ÁREA AGROPECUARIA DE LA ESPAM MFL
 Correo: labmicrobiologiamv@espam.edu.ec

Anexo 12. Resultados de análisis microbiológicos tratamiento D3T2



REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS			
CLIENTE:	Yuri Basurto Bravo	CI:	1316463213
DIRECCIÓN:	Chone	Nº DE ANÁLISIS	009
TELÉFONO:	0979179793	FECHA DE RECIBIDO	03/02/2020
NOMBRE DE LA MUESTRA:	Mucilago de cacao D ₃ T ₂ R ₁ y D ₃ T ₂ R ₃ (2t)	FECHA DE ANÁLISIS	04/02/2020
CANTIDAD RECIBIDA:	20 ml	FECHA DE MUESTREO	05/02/2020
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad	FECHA DE REPORTE	05/02/2020

RESULTADOS

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 1 D ₃ T ₂ R ₁ (2t) 15 días fermentación Temperatura de 40° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

MUESTRA POR TRATAMIENTO	PRUEBAS SOLICITADAS	RESULTADOS	UNIDAD
MUESTRA # 2 D ₃ T ₂ R ₃ (2t) 15 días fermentación Temperatura de 40° C	Determinación de Levadura spp	Ausencia	UFC/gr
	Determinación de Mohos	Ausencia	UFC/gr

NOTA:

El laboratorio no se responsabiliza por la toma y traslado de las muestras. Resultados válidos únicamente para las muestras analizadas, no es aceptable para otros productos de la misma precedencia. Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Blgo. Johnny Navarrete Alava MPA
COORDINADOR DEL LAB. DE MICROBIOLOGÍA

LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL ÁREA AGROPECUARIA DE LA ESPAM MFL
Correo: labmicrobiologiamv@espam.edu.ec

Anexo 13. Planilla para registro de datos (análisis sensorial)

ATRIBUTOS	MUESTRAS							OBSERVACIÓN
	D1T1	D1T2	D2T1	D2T2	D3T1	D3T2	T0220	
OLOR								
COLOR								
SABOR								
TEXTURA								

Fuente: Guillen (2020)

Anexo 14. Cualidades a implementar para la calificación de los atributos

PUNTUACIÓN	CUALIDAD
1	MALO
2	REGULAR
3	BUENO
4	MUY BUENO
5	EXCELENTE

Fuente: Guillen (2020)

Anexo 15. Clasificación de materia prima



Anexo 16. Mucílago



Anexo 17. Conservación del mosto



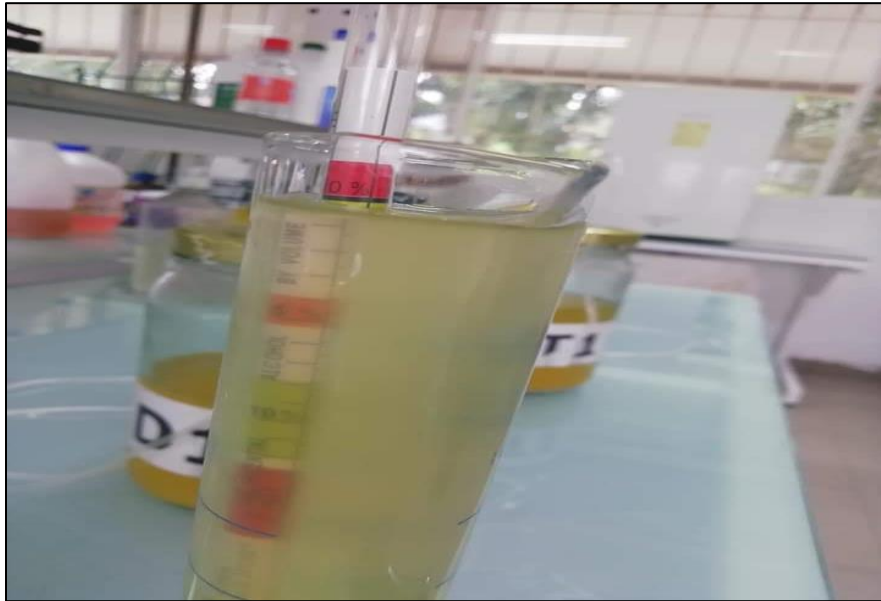
Anexo 18. Preparación del ensayo experimental



Anexo 19. Medición del pH



Anexo 20. Preparación de las muestras



Anexo 21. Pesado de ingredientes



Anexo 22. Establecimiento de tratamientos



Anexo 23. Mezclado de la levadura



Anexo 24. Proceso de fermentación



Anexo 25. Análisis de grados brix



Anexo 26. Preparación de sala de catación



Anexo 27. Proceso de catación

