



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS RECURSOS
NATURALES Y DEL AMBIENTE
ESCUELA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

TEMA:

“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”

Tesis de Grado Previo a la Obtención del Título de Ingeniero Agroindustrial, Otorgado por la Universidad Estatal de Bolívar a Través de la Facultad de Ciencias Agropecuarias Recursos Naturales y del Ambiente, Escuela de Ingeniería Agroindustrial.

Autor:

Jenrry Aurelio López Limones

Director:

Ing. Vicente Domínguez N.

Guaranda-Ecuador

2013

TEMA

“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”

REVISADO POR:

.....
ING. VICENTE DOMÍNGUEZ NARVAEZ.
DIRECTOR DE TESIS

.....
ING. IVÁN GARCÍA CÁCERES
BIOMETRÍSTA

APROBADO POR LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE CALIFICACIÓN DE TESIS:

.....
ING: EDWIN SOLORZANO SALTOS.
ÁREA TÉCNICA

.....
ING. MARCELO GARCÍA MUÑOZ.
ÁREA REDACCIÓN TÉCNICA M. Sc

DEDICATORIA

Dedico este proyecto de tesis a Dios y a mis padres. A Dios porque ha estado conmigo a cada paso que doy, cuidándome y dándome fortaleza para continuar, a mis padres, quienes a lo largo de mi vida han velado por mi bienestar y educación siendo mi apoyo en todo momento. Depositando su entera confianza en cada reto que se me presentaba sin dudar ni un solo momento en mi capacidad. Es por ello que soy lo que soy ahora. Los amo con mi vida.

Jenrry

AGRADECIMIENTO

Me complace de sobre manera a través de este trabajo exteriorizar mi sincero agradecimiento a la Universidad Estatal de Bolívar en la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Escuela de Ingeniería Agroindustrial y en ella a los distinguidos docentes quienes con su profesionalismo y ética puesto de manifiesto en las aulas enrumban a cada uno de los que acudimos con sus conocimientos que nos servirán para ser útiles a la sociedad.

Al Ingeniero Vicente Domínguez quien con su experiencia como docente ha sido la guía idónea, durante el proceso que ha llevado el realizar esta tesis, además me ha brindado el tiempo necesario, con la información para que este anhelo llegue a ser felizmente culminado.

Jenrry

ÍNDICE DE CONTENIDO

CAPÍTULO	DENOMINACIÓN	PÁGINAS
I	INTRODUCCIÓN.	1
II	MARCO TEÓRICO.	3
2.1	Generalidades.	3
2.2	El Cacao.	3
2.2.1	Theobroma Cacao.	3
2.2.2	Características técnicas.	4
2.2.3	Historia de la fermentación de cacao.	5
2.2.4	Aroma Fino.	6
2.2.5	Pulpa y cotiledón fresco de cacao.	7
2.2.6	Proceso químico de fermentación.	8
2.3	Los Alcoholes.	8
2.3.1	Propiedades generales de los alcoholes.	8
2.3.2	Alcoholes primarios, secundarios y terciarios.	8
2.3.2.1	Alcohol primario.	8
2.3.2.2	Alcohol secundario.	8
2.3.2.3	Alcohol terciario.	8
2.3.3	<i>Oxidación de alcoholes.</i>	9
2.3.3.1	Alcohol primario.	9
2.3.3.2	Alcohol secundario.	9
2.3.3.3	Alcohol terciario.	9
2.3.4	La fermentación alcohólica. Cómo se produce y aplicaciones.	9
2.3.5	Elaboración de bebidas destiladas.	11
2.3.6	Productos obtenidos por destilación.	12
2.3.6.1	Los que se obtienen directamente por destilación.	12
2.3.6.2	Los que se obtienen mezclando uno o más ingredientes con el destilado original para dar al destilado ciertos caracteres deseados.	12
CAPÍTULO	DENOMINACIÓN	PÁGINAS
2.3.7	Fundamento teórico de la destilación por arrastre de vapor.	13
2.3.8	Destilación y tipos de destilación.	13
2.3.8.1	Destilación simple.	13
2.3.8.2	Destilación simple a presión atmosférica.	13
2.3.8.3	Destilación simple a presión reducida.	14
2.3.8.4	Destilación fraccionada.	14
2.3.8.5	Destilación por arrastre de vapor.	15
2.3.9	Bebidas alcohólicas.	15
2.3.10	Licor.	16
III.	MATERIALES Y MÉTODOS.	17
3.1	Materiales.	17
3.1.1	Localización del Experimento.	17
3.1.2	Situación geográfica y climática de la localidad.	17
3.1.3	Zona de vida.	17
3.1.4	Material experimental.	18
3.1.5	Material de oficina.	18
3.1.6	Material de campo.	18
3.1.7	Material de planta.	18

3.1.8	Material de laboratorio.	19
3.2	Métodos.	19
3.2.1	Método experimental.	19
3.2.1.1	Factores de estudio.	19
3.2.1.2	Tratamientos.	20
3.2.1.3	Tipo de diseño experimental.	20
3.2.1.4	Características del experimento.	21
3.3	Análisis Estadístico.	21
3.3.1	Procedimiento.	22
3.3.2	Mediciones experimentales.	22
3.3.2.1	En la materia prima.	22

CAPÍTULO	DENOMINACIÓN	PÁGINAS
3.3.2.2	Producto terminado.	23
3.3.2.3	Mejor tratamiento.	23
3.4	Manejo de la investigación.	23
3.4.1	Recepción de mucílago.	23
3.4.2	Tamizado.	24
3.4.3	Preparación del mosto.	24
3.4.4	Fermentado.	24
3.4.5	Destilación.	25
3.4.6	Envasado.	25
3.4.7	Diagrama del proceso para la elaboración de una bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.	26
IV	RESULTADOS Y DISCUSIONES.	27
4.1	En la materia prima.	27
4.1.2	Determinación de Brix y pH.	27
4.2	Producto terminado.	27
4.3	Análisis económico en la relación costo beneficio.	39
V.	VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS.	41
5.1	Planteo de hipótesis.	41
5.1.1	Procedimiento.	41
5.2	Verificación de la hipótesis.	41
VI.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.	44
6.1	Conclusiones.	44
6.2	Recomendaciones.	45
XI.	RESUMEN Y SUMMARY.	46
7.1	Resumen.	46
7.2	Summary.	47
XII.	BIBLIOGRAFÍA.	48

ÍNDICE DE CUADRO

CUADRO	DENOMINACIÓN	PÁGINAS
Nº 1	Factores en estudio.	19
Nº 2	Combinación de factores.	20

N° 3	Contenido de los análisis de °Brix y pH en la materia prima	27
N° 4	Análisis de varianza del rendimiento.	28
N° 5	Comparación de rendimiento por el método de Tukey al 5%, de la bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.	30
N° 6	Análisis de varianza del pH de una bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.	31
N° 7	Comparación de promedios del pH por el método de Tukey al 5%, en la bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.	33
N° 8	Análisis de varianza de grados alcohólicos (°GL) en una bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.	34
N°9	Comparación de promedios de grados alcohólicos (°gl) por el método de Tukey al 5%, en la bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.	35
N° 10	Análisis sensorial del producto terminado (sabor y color aroma olor).	36
N° 11	Análisis Físico químico del mejor tratamiento.	38

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA	DENOMINACIÓN	PÁGINAS
Nº1	Composición físico química de la pulpa de cacao.	6
Nº2	Situación geográfica y climática de la localidad.	17
Nº3	Esquema de análisis de varianza.	22
Nº4	Análisis económico de relación costo beneficio en la bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.	39
Nº5	Frecuencias observadas (FO) y frecuencias esperadas (FE).	42

ÍNDICE DE GRÁFICO

GRÁFICO	DENOMINACIÓN	PÁGINAS
Nº1	Rendimiento de la bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.	30
Nº2	PH de la bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.	33
Nº3	°GL de la bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao	35
Nº4	Análisis sensorial de la bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.	38
Nº5	Gráfico de distribución JI cuadrado.	43

I. INTRODUCCIÓN

El cacao, es un cultivo que tiene una larga tradición en la historia de nuestro País, ya que desde antes de la llegada de los españoles se cultivaba este producto. Incluso llegó a tener tal importancia, que en algunos lugares se utilizó como moneda por su alto valor. De todas las variedades de cacao, las tres de mayor importancia económica son: el criollo, el forastero y el trinitario. (UNIDA, 2009).

La producción mundial del cacao se concentra esencialmente a 10 grados en el Norte y 10 grados en el Sur del Ecuador. Encontrando sus orígenes en América del Sur, el cacao aparece primero en España gracias a Hernán Cortés en 1528. Con el fin de satisfacer la demanda de las clases españolas, las primeras tentativas de plantaciones son emprendidas en Los Caribes, sin éxito, luego particularmente en Ecuador hacia 1635 por los hermanos Capuchinos. (ZONADIET, 2011).

Consecuentemente, ante la industrialización del cacao se obtiene varios subproductos o productos derivados de entre los cuales se mencionan: chocolate cacao en polvo y licor de cacao; en éste último, a nivel mundial en relación al sentido general de la producción de derivados del producto en estudio (cacao) alcanzan niveles por añadidura, es decir, que el derivado en sí es poco expandido en su presentación específica, sino que más vale es uno de los ingredientes esenciales para la producción del chocolate. (MAGAP, 2011).

En el Ecuador, el cacao es el tercer producto tradicional no petrolero más importante de las exportaciones del Ecuador. En el último año representó aproximadamente USD 350 millones. Debido a sus condiciones climáticas, el Ecuador tiene cerca del 70% de la producción mundial de cacao fino de aroma, con 10.119 hectáreas sembradas en 12 de las 24 provincias del país. (ANECACAO, 2011).

El mucílago, o pulpa, se descompone en sustancias líquidas cuando se incurre en el proceso de fermentación del cacao.

Durante la fermentación, el mucílago, o pulpa, se descompone en sustancias líquidas. El azúcar de la pulpa se transforma primero en alcohol, y seguidamente en ácido acético. 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. (ANECACAO, 2011).

En el presente trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Establecer el mejor tiempo de fermentación del mucílago.
- Determinar el mejor porcentaje de levadura para la fermentación del mucílago.
- Caracterizar bromatológicamente el mejor tratamiento.
- Hacer el estudio costo/beneficio del producto terminado del mejor tratamiento.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. GENERALIDADES

La palabra cacao hace referencia a tres conceptos muy relacionados entre sí:

- Cacao puede referirse, en primer lugar, al fruto del cacaotero, entendido este bien como la mazorca que crece directamente de su tronco, bien como las semillas contenidas en ese fruto.
- En segundo lugar, el cacao es también el producto que resulta de la fermentación y el secado de esas semillas (o *habas* o *maracas*) del fruto del árbol del cacao. El cacao, entendido así, es el componente básico del chocolate.
- Por último, se denomina además cacao al polvo seco que se obtiene moliendo los granos y extrayendo, total o parcialmente, la grasa o manteca de cacao. (MOTAMAYOR, 2002).

2.2. EL CACAO

2.2.1 *Theobroma Cacao* L.

Es la denominación científica del árbol del cacao, y lo que significa su nombre genérico es "alimento de los dioses" (del griego *theo*: Dios; y *broma*: alimento). Si se coge un fruto de dicho árbol y lo abrimos, encontraremos en su interior unas semillas blanquecinas recubiertas de una pulpa pegajosa de sabor dulzón. Si uno se lo lleva a la boca una de esas semillas y la muerde le aseguró que no tendrá una experiencia agradable. Su sabor es muy amargo y desagradable. El fruto necesita ser fermentado y procesado para elaborar el chocolate. (SCHWAN R, 2004).

Cada fruto contiene entre 30 y 40 semillas, que una vez secas y fermentadas se convierten en cacao en grano. Las semillas son de color marrón-rojizo en el exterior y están cubiertas de una pulpa blanca y dulce. (INFOCOMM, 2011).

2.2.2. Características técnicas

El árbol de cacao, (*Theobroma cacao* L. de la familia Sterculiaceae) es normalmente un árbol pequeño, entre 4 y 8 metros de alto, aunque si recibe sombra de árboles grandes, puede alcanzar hasta los 10 metros de alto. El tallo es recto, la madera de color claro, casi blanco, y la corteza es delgada, de color café. El fruto (la nuez de cacao) puede alcanzar una longitud de 15-25 centímetros. (ADICACAO, 2011).

Las semillas de cacao están rodeadas por una pulpa aromática la cual procede de sus tegumentos. La pulpa mucilaginosa está compuesta por células esponjosas parenquimatosas, que contienen células de savia ricas en azúcares (10-13%), pentosas (2-3%), ácido cítrico (1-2%), y sales (8-10%). Durante el proceso de cosecha de las semillas de cacao (el producto de exportación), la pulpa es removida por fermentación e hidrolizada por microorganismos.

La pulpa hidrolizada es conocida en la industria como "exudado". Durante la fermentación la pulpa provee el sustrato para varios microorganismos que son esenciales para el desarrollo de los precursores del sabor del chocolate, los cuales son expresados completamente después, durante el proceso de tostado. Aunque la pulpa es necesaria para la fermentación, a menudo hay más pulpa de la necesaria. El exceso de pulpa, que tiene un delicioso sabor tropical, ha sido usado para hacer los siguientes productos: jalea de cacao, alcohol y vinagre, nata y pulpa procesada. Aproximadamente 40 litros de pulpa se pueden obtener de 800 kilos de semillas frescas. (KALVATCHEV Z, 2000).

Para obtener una producción ideal, los árboles de cacao necesitan una precipitación anual entre 1150 y 2500 mm y temperaturas entre 21°C y 32°C. (INFOCOMM, 2011).

El cacaotero es un árbol indígena de América del Sur, pero hoy día se cultiva principalmente en el África occidental. Es un cultivo de bosque higrofitico

tropical, que se cultiva por sus granos, los cuales se hallan contenidos en grandes mazorcas rojas o amarillas que nacen directamente de los tallos y ramas del árbol. Cada mazorca contiene, aproximadamente, una tercera parte de su peso de granos empotrados en un mucílago blanco. (MAGAP, 2011).

Más de dos millones de toneladas métricas de cacao son producidas cada año en el trópico húmedo, donde la mayoría es para el consumo del primer mundo. El cacao para muchos agricultores es la principal fuente de ingreso. A diferencia de otros cultivos, como banano, aproximadamente el 70% del cacao del mundo es producido por pequeños agricultores, con menos de dos hectáreas de tierra. (GARCÍA, 2011).

El mucílago y los granos se sacan de la mazorca y se fermentan. Los granos fermentados y desecados se elaboran en las fábricas de chocolate, tostándolos primero para que adquieran sabor y aroma. Después de enfriados, los granos se abren y se avientan las cáscaras, quedando la almendra o grano de la semilla abierta. El grano se muele y da una masa de cacao con un licor de chocolate, del cual se extrae, por prensado, la grasa del cacao (manteca de cacao). La torta se pulveriza para obtener cacao en polvo. (MAGAP, 2011).

2.2.3. Historia de la fermentación de cacao

Los que descubrieron la fermentación del cacao fueron los indios mesoamericanos hace unos 3.000 años. Dicho proceso casi no ha sufrido modificaciones desde entonces. El árbol del cacao produce unas grandes vainas que contienen entre 30 a 40 semillas rodeadas por una pulpa pegajosa. A las semillas se las conoce generalmente como "judías". Cuando las vainas están maduras se recolectan y se cortan con un machete liberando la pulpa y las semillas para que la fermentación comience lo antes posible. Las vainas así cortadas se amontonan.

Tradicionalmente se cubrían los montones con hojas de banano, pero cada vez más frecuentemente se almacenan en unas cámaras de calentamiento para dejarlas

fermentar. La inoculación de los microorganismos se produce de forma natural. Es decir, es la microflora de la vaina, de los machetes y de las manos de los trabajadores la que va a producir la fermentación.

Los primeros microorganismos que comienzan a crecer son levaduras, en concreto *Cándida rugosa*, *Kluyveromyces marxianus* y por supuesto *Sacharomyces cereviseae*. Estas levaduras comienzan a degradar la pectina que rodea a las judías, además de comenzar a fermentar los azúcares de la pulpa produciendo etanol y CO₂. (ADICACAO, 2011).

Tabla N° 1. Composición físico química de la pulpa de cacao

Composición de la pulpa		
	Antes de la fermentación	Después de la fermentación
Sacarosa	12%	0%
Ácido cítrico	1-3%	0.5%
Pectina	1-1.5%	-
pH	3.7	6.5
Etanol	-	0.5%
Ácido acético	-	1.6%

Fuente: (Schwan RF, & Wheals AE, 2004)

2.2.4. Aroma Fino

El cacao de Ecuador es reconocido como uno de los mejores del mundo porque tiene un fino aroma frutal y floral. La variedad “Nacional” es una variedad de cacao criollo, endémica de Ecuador y que por muchos años ha sido cultivado por los pueblos indígenas y más recientemente por los colonos en un sistema de sombra con árboles nativos. (MOTAMAYOR, 2002).

2.2.5. Pulpa y cotiledón fresco de cacao

Durante la fermentación, el mucílago, o pulpa, se descompone en sustancias líquidas. El azúcar de la pulpa se transforma primero en alcohol, y seguidamente en ácido acético. 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. (MAGAP, 2011).

La semilla de cacao está recubierta por una pulpa mucilaginosa de color blanco, sabor azucarado y ácido. Al eliminar el mucílago o pulpa aparece una envoltura delgada de color rosado que constituye el tegumento o cáscara de la semilla. Las dimensiones de ésta son variables, oscilando el largo entre 20 y 30 mm, el ancho entre 10 y 17 mm y el espesor entre 7 y 12 mm. La forma también es variable y puede ser triangular, ovoide, alargada, redondeada, aplanada, dependiendo de las condiciones ambientales y del número de semillas por fruto.

Estas características, al igual que el color de los cotiledones, están relacionadas con los factores genéticos y han sido ampliamente utilizadas para tipificar los cultivares de cacao y para catalogar comercialmente los diferentes tipos. El cacao ha sido clasificado en tres grupos: criollo, forastero amazónico y trinitaria, cuyas diferencias morfológicas no son suficientes para constituir especies o variedades. El tipo criollo presenta semillas grandes y carnosas con cotiledones blancos o ligeramente pigmentados, de sabor dulce o levemente amargo. En el forastero, las semillas son pequeñas y algo aplanadas con cotiledones de color violeta oscuro, algunas veces casi negro, de forma triangular y sabor astringente. El grupo trinitaria está constituido por poblaciones híbridas de cruzamientos espontáneos de criollos y forasteros, presentando las semillas características intermedias entre los dos tipos que le dieron origen. (ANGULO, 2000).

2.2.6. Proceso químico de fermentación

La fermentación elimina los restos de pulpa pegados al grano, mata el germen dentro del grano y lo más importante inicia el desarrollo del aroma, sabor y color de la almendra para obtener un cacao de aroma fino, apto para las mejores fábricas de chocolate. (CONACADO, 2011).

2.3. LOS ALCOHOLES

2.3.1. Propiedades generales de los alcoholes

Los alcoholes son líquidos incoloros de baja masa molecular y de olor característico, solubles en el agua en proporción variable y menos densa que ella. Al aumentar la masa molecular, aumentan sus puntos de fusión y ebullición, pudiendo ser sólidos a temperatura ambiente por ejemplo el pentaeritritol funde a 260 °C. (ORTEGA, 2010).

2.3.2. Alcoholes primarios, secundarios y terciarios

2.3.2.1. **Alcohol primario:** los alcoholes primarios reaccionan muy lentamente. Como no pueden formar carbocationes, el alcohol primario activado permanece en solución hasta que es atacado por el ión cloruro. Con un alcohol primario, la reacción puede tomar desde treinta minutos hasta varios días.

2.3.2.2. **Alcohol secundario:** los alcoholes secundarios tardan menos tiempo, entre 5 y 20 minutos, porque los carbocationes secundarios son menos estables que el terciario.

2.3.2.3. **Alcohol terciario:** los alcoholes terciarios reaccionan casi instantáneamente, porque forman carbocationes terciarios relativamente estables.

2.3.3. Oxidación de alcoholes

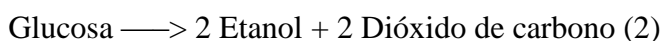
2.3.3.1. **Alcohol primario:** se utiliza la Piridina (Py) para detener la reacción en el aldehído $\text{CrO}_3 / \text{H}^+$ se denomina reactivo de Jones, y se obtiene un ácido carboxílico.

2.3.3.2. **Alcohol secundario:** se obtiene una cetona + agua.

2.3.3.3. **Alcohol terciario:** si bien se resisten a ser oxidados con oxidantes suaves, si se utiliza uno enérgico como lo es el permanganato de potasio, los alcoholes terciarios se oxidan dando como productos una cetona con un número menos de átomos de carbono, y se libera metano. (ORTEGA, E. 2010).

2.3.4. La fermentación alcohólica. Cómo se produce y aplicaciones

La fermentación alcohólica es un proceso anaerobio en el que las levaduras y algunas bacterias, descarboxilan el piruvato obtenido de la ruta Embden-Meyerhof-Parnas (glicólisis) dando acetaldehído, y éste se reduce a etanol por la acción del NADH_2 . Siendo la reacción global (1), conocida como la ecuación de Gay-Lussac:



El balance energético de la fermentación puede expresarse de la siguiente forma:



La transformación de glucosa en alcohol supone la cesión de 40 kcal. Mientras que la formación de un enlace de ATP necesita 7,3 kcal, por tanto se requerirán 14,6 kcal, al crearse dos enlaces de ATP, tal y como se muestra en la reacción (3). Esta energía es empleada por las levaduras que llevan a cabo la fermentación alcohólica para crecer. De forma que sólo quedan, $40 - 14,6 = 25,6$ kcal que se liberan, calentando la masa de fermentación. No obstante, la fermentación

alcohólica no es una utilización eficiente del sustrato glucídico, fundamentalmente por su carácter anaerobio. Si se compara con la degradación aeróbica de la glucosa, se llega a la conclusión de que esta última pone a disposición de la actividad celular de las levaduras, un 40,4 % del total de la energía. En cambio, en la fermentación sólo se consigue abastecer a las células de las levaduras con un 2,16 % de la energía total, almacenada en forma de ATP.

Pese a esta baja eficiencia energética con respecto al proceso aerobio, se recurre a la fermentación alcohólica en la fabricación de diversos productos alimenticios como: pan, vino, cerveza, champagne, todo tipo de bebidas alcohólicas fermentadas y chocolate. Asimismo, las bebidas destiladas, como por ejemplo el brandy, se obtienen a partir de las bebidas fermentadas, en concreto del vino blanco, por simple evaporación del agua. Además, una característica importante de la fermentación alcohólica, es que produce gran cantidad de CO₂, responsable de las burbujas del champagne y de la textura esponjosa del pan.

Las cepas de levadura más empleadas en la fabricación del vino, cerveza y pan, son las correspondientes a la especie *Saccharomyces cerevisiae*. Esta levadura sigue un metabolismo fermentativo cuando está en condiciones anaerobias, pero cuando hay oxígeno hace una respiración aerobia y no produce alcohol. Este fenómeno se conoce como efecto Pasteur y es determinante en la industria de bebidas alcohólicas, pues para que la producción de etanol sea correcta, las levaduras deben desarrollarse en ausencia de oxígeno.

Aunque existen otras, como pueden ser: *Kloeckera apiculata* (levadura de bajo poder fermentativo, presente en las vinificaciones) y *Saccharomyces bayanus* (de alto poder fermentativo, presente también en las vinificaciones). Otra utilidad interesante de la fermentación alcohólica es la producción a gran escala de bioetanol a partir de biomasa. Éste supone una alternativa competitiva y más limpia al uso de combustibles fósiles como el petróleo. Un inconveniente de este proceso, es la gran generación de CO₂, la cual provoca un impacto sobre el medio ambiente que contribuye al cambio climático, y por esa razón debe de ser

controlado. En definitiva, se puede concluir que la fermentación alcohólica es un proceso biológico ampliamente utilizado en la industria, ya que se ve implicada en la elaboración de productos esenciales en la alimentación, así como en el desarrollo de biocombustibles. (PÉREZ L, 2011).

2.3.5. Elaboración de bebidas destiladas

Las bebidas destiladas son las descritas generalmente como aguardientes y licores; sin embargo la destilación, agrupa a la mayoría de las bebidas alcohólicas que superen los 20° de carga alcohólica. Entre ellas se encuentran bebidas de muy variadas características, y que van desde los diferentes tipos de brandy y licor, hasta los de whisky, anís, tequila, ron, vodka, cachaca y gin entre otras. (ZONADIET, 2011).

El ingreso monetario que aporta la elaboración de estas bebidas a los gobiernos de los distintos países del mundo es tan grande, que la destilación es una de las industrias y actividades más supervisadas y reguladas a lo largo del planeta. Esto, al punto que en muchos países la supervisión es efectuada directamente por dependencias de recaudación de impuestos o agentes del tesoro.

El principio de la destilación se basa en las diferencias que existen entre los puntos de fusión del agua (100°C) y el alcohol (78,3°C). Si un recipiente que contiene alcohol es calentado a una temperatura que supera los 78.3°C, pero sin alcanzar los 100°C, el alcohol se vaporizará y separará del líquido original, para luego juntarlo y recondensarlo en un líquido de mayor fuerza alcohólica. Así, de comprender el proceso de destilación se deduce que los mayores componentes de las bebidas destiladas son el alcohol etílico (C₂H₅OH) y el agua. La combinación de estas dos sustancias en una mezcla directa no produce una bebida sabrosa, aunque esto cambia al adicionarle componentes con carácter propio, y que dan aroma y sabor que hacen sumamente atractivo su consumo. (ZONADIET, 2011).

2.3.6. Productos obtenidos por destilación

Los licores y alcoholes que se encuentran en el comercio se dividen en dos categorías:

1. Los que se obtienen directamente por destilación.
2. Los que se obtienen mezclando uno o más ingredientes con el destilado original para dar al destilado ciertos caracteres deseados.

2.3.6.1. Los que se obtienen directamente por destilación

Los productos obtenidos por destilación. Pueden llamarse “rectificados” si han sido sometidos a purificación posterior, o “desnaturalizados” si se les añade sustancias para hacerlos irreversibles para la preparación de bebidas. Los licores toman distintos nombres según la materia prima de donde proceden: así se llama coñac el obtenido de la destilación del vino y ron obtenido a través de melazas de caña.

2.3.6.2. Los que se obtienen mezclando uno o más ingredientes con el destilado original para dar al destilado ciertos caracteres deseados

A los que se obtienen mezclando por destilado con sustancias aromáticas, esencias naturales o artificiales, azúcares y sustancias amargas, etc., se les da el nombre de licores compuestos y en el comercio se conocen como anisados, cremas, etc.

Los ensayos que pueden realizarse sobre licores comprenden cierto número de investigaciones que son normales para todos los productos como el grado alcoholimétrico, el extracto de las cenizas, el reconocimiento de las impurezas, los desnaturalizantes y los azúcares. (SIMUNOVIC Y, 1999).

2.3.7. Fundamento teórico de la destilación por arrastre de vapor

En una mezcla formada por dos líquidos inmiscibles, A y B, la presión de vapor total a una temperatura determinada es igual a la suma de las presiones de vapor que tendrían, a esta temperatura, ambos componentes sin mezclar, es decir, que cada componente ejerce su propia presión de vapor independientemente del otro ($P_T = P_A + P_B$).

La mezcla hervirá a aquella temperatura en la cual la presión de vapor total sea igual a la presión externa. Además esta temperatura se mantiene constante durante toda la destilación y es inferior a la de A y a la de B. (IMMACULADA A, 2012).

2.3.8. Destilación y tipos de destilación

2.3.8.1. Destilación simple

La destilación simple se utiliza cuando la mezcla de productos líquidos a destilar contiene únicamente una sustancia volátil, o bien, cuando ésta contiene más de una sustancia volátil, pero el punto de ebullición del líquido más volátil difiere del punto de ebullición de los otros componentes en, al menos, 80 °C. El resultado final es la destilación de un solo producto, ya sea:

Porque en la mezcla inicial sólo había un componente.

Porque en la mezcla inicial uno de los componentes era mucho más volátil que el resto. (IMMACULADA A, 2012).

2.3.8.2. Destilación simple a presión atmosférica

La destilación a presión atmosférica es aquella que se realiza a presión ambiental, se utiliza fundamentalmente cuando la temperatura del punto de ebullición se

encuentra por debajo de la temperatura de descomposición química del producto. (IMMACULADA A, 2012).

2.3.8.3. Destilación simple a presión reducida

La destilación a presión reducida o al vacío consiste en disminuir la presión en el montaje de destilación con la finalidad de provocar una disminución del punto de ebullición del componente que se pretende destilar.

Se utiliza fundamentalmente cuando el punto de ebullición del compuesto a destilar es superior a la temperatura de descomposición química del producto.

Para llevar a cabo este tipo de destilación es necesario un sistema de vacío y un adaptador de vacío. (IMMACULADA A, 2012).

2.3.8.4. Destilación fraccionada.

La destilación fraccionada se utiliza cuando la mezcla de productos líquidos que se pretende destilar contiene sustancias volátiles de diferentes puntos de ebullición con una diferencia entre ellos menor a 80 °C.

Al calentar una mezcla de líquidos de diferentes presiones de vapor, el vapor se enriquece en el componente más volátil y esta propiedad se aprovecha para separar los diferentes compuestos líquidos mediante este tipo de destilación. El rasgo más característico de este tipo de destilación es que necesita una columna de fraccionamiento.

La destilación fraccionada se puede realizar a presión atmosférica o a presión reducida, tal como se ha comentado para la destilación simple en el apartado anterior. (IMMACULADA A, 2012).

2.3.8.5. Destilación por arrastre de vapor

La destilación por arrastre de vapor posibilita la purificación o el aislamiento de compuestos de punto de ebullición elevado mediante una destilación a baja temperatura (siempre inferior a 100 °C). Es una técnica de destilación muy útil para sustancias de punto de ebullición muy superior a 100 °C y que se descomponen antes o al alcanzar la temperatura de su punto de ebullición.

La destilación por arrastre de vapor es una técnica de destilación que permite la separación de sustancias insolubles en H₂O y ligeramente volátiles de otros productos no volátiles. A la mezcla que contiene el producto que se pretende separar, se le adiciona un exceso de agua, y el conjunto se somete a destilación. En el matraz de destilación se recuperan los compuestos no volátiles y/o solubles en agua caliente, y en el matraz colector se obtienen los compuestos volátiles e insolubles en agua. Finalmente, el aislamiento de los compuestos orgánicos recogidos en el matraz colector se realiza mediante una extracción. (IMMACULADA A, 2012).

2.3.9. Bebidas alcohólicas

Las bebidas alcohólicas son bebidas que contienen etanol (alcohol etílico). Atendiendo a la elaboración se pueden distinguir entre bebidas producidas por fermentación alcohólica (vino, cerveza, hidromiel, sake) en las que el contenido en alcohol no supera los 15 grados, y las producidas por destilación, generalmente a partir de un producto de fermentación (licores, aguardientes, etc.).

La cantidad de alcohol de un licor u otra bebida alcohólica se mide bien por el volumen de alcohol que contenga o bien por su grado de alcohol.

El alcohol es una droga legal en la mayor parte del mundo y causa millones de muertes al año por alcoholismo. (ROBLEDO DE DIOS T, 2000).

2.3.10. Licor

La expresión “licor” suele emplearse en diferentes sentidos. Así, en un sentido amplio incluiría a todas las bebidas alcohólicas, salvo el vino, la cerveza y la sidra. Dicho de otro modo serían licores los destilados, incluso el aguardiente, grapa y brandy.

No obstante las normas le dan a la expresión “licor”, un sentido restringido, al definirlo como bebida alcohólica compuesta de un alcohol etílico o un fermentado o ambos, a los que puede agregarse cualquier aditivo permitido, lo que excluye los destilados vínicos antes mencionados. (SIMUNOVIC Y, 1999).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. MATERIALES

3.1.1. Localización del Experimento

El presente trabajo de investigación se realizó en la Provincia de Bolívar, Universidad Estatal de Bolívar, en la Planta de Frutas y Hortalizas de la Facultad de Ciencias Agropecuarias, Recursos Naturales y del Ambiente, Escuela de Ingeniería Agroindustrial.

3.1.2. Situación geográfica y climática de la localidad

Tabla N° 2. Situación geográfica y climática de la localidad

PARÁMETRO	VALOR
Altitud.	2800 msnm
Longitud	79° 0' 02''
Latitud	01° 34' 15''
Temperatura media anual	13°C
Temperatura máxima	18°C
Temperatura mínima	8°C
Humedad	75 %

Fuente: (Estación Meteorológica Lagucoto II Guaranda-Ecuador ,2011).

3.1.3. Zona de vida

Ecológicamente el área del cantón Guaranda de acuerdo con la clasificación de la zona de vida de L. Holdridge, corresponde a la zona de vida Bosque Húmedo Montano Bajo (B.H.M.B).

3.1.4. Material Experimental

En la presente investigación se utilizó mucílago de cacao del Cantón Las Naves, de la Unión Cantonal de Organizaciones Campesinas Sociales Las Naves. (UCOCS) para la extracción de una bebida alcohólica.

3.1.5. Material de oficina

- Calculadora
- Computadora
- Impresora
- Papel de impresión
- Libretas
- Esferos
- Cámara Digital
- Etiquetas

3.1.6. Material de campo

En la presente investigación se utilizó:

- Mucílago de cacao (*Theobroma cacao l*)
- Levadura

3.1.7. Material de planta

- Destilador
- Recipiente de vidrio
- Tamiz
- Fermentador
- Embudo
- Cilindro de gas

3.1.8. Material de laboratorio

- Balanza
- Alcohólímetro
- PH-metro
- Brixómetro

3.2. MÉTODOS

3.2.1. Método experimental

3.2.1.1. Factores de estudio

Cuadro N° 1. FACTORES EN ESTUDIO

MÉTODOS	CÓDIGO	NIVELES
Variedad de Cacao.	A	a ₁ : NACIONAL a ₂ : CCN51
Porcentaje de levadura	B	b ₁ : 0% b ₂ : 5% b ₃ : 10%
Tiempo de fermentación	C	c ₁ : 5 días c ₂ : 10 días c ₃ : 15 días

Experimentales: (López J, 2013).

3.2.1.2. Tratamientos

Cuadro N° 2. COMBINACIÓN DE FACTORES

TRATAMIENTO	CÓDIGO	FACTORES		
		A	B	C
		VARIEDAD	%LEVADURA	TIEMPO DE FERMENTACIÓN
1	a1 b1 c1	NACIONAL	0	5 DIAS
2	a1 b1 c2	NACIONAL	0	10 DIAS
3	a1 b1 c3	NACIONAL	0	15 DIAS
4	a1 b2 c1	NACIONAL	5	5 DIAS
5	a1 b2 c2	NACIONAL	5	10 DIAS
6	a1 b2 c3	NACIONAL	5	15 DIAS
7	a1 b3 c1	NACIONAL	10	5 DIAS
8	a1 b3 c2	NACIONAL	10	10 DIAS
9	a1 b3 c3	NACIONAL	10	15 DIAS
10	a2 b1 c1	CCN51	0	5 DIAS
11	a2 b1 c2	CCN51	0	10 DIAS
12	a2 b1 c3	CCN51	0	15 DIAS
13	a2 b2 c1	CCN51	5	5 DIAS
14	a2 b2 c2	CCN51	5	10 DIAS
15	a2 b2 c3	CCN51	5	15 DIAS
16	a2 b3 c1	CCN51	10	5 DIAS
17	a2 b3 c2	CCN51	10	10 DIAS
18	a2 b3 c3	CCN51	10	15 DIAS

Experimentales: (López J, 2013).

3.2.1.3. Tipo de diseño experimental

Para la presente investigación se aplicó un diseño de bloques completamente al azar (DBCA) en arreglo factorial 3x3x3 con 2 repeticiones; el mismo que responde al siguiente modelo matemático:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + C_k + AB_{ij} + AC_{ik} + BC_{jk} + ABC_{ijk} + \sum_{ijk}$$

Dónde:

Y_{ijk}	= Cualquier variable sujeta de medición
μ	= Media General
A_i	= Efecto del Factor A
B_j	= Efecto del Factor B
C_k	= Efecto del Factor C
AB_{ij}	= Efecto de la Interacción (AxB)
AC_{ik}	= Efecto de la Interacción (AxC)
BC_{jk}	= Efecto de la Interacción (BxC)
ABC_{ijk}	= Efecto de la Interacción (AxBxC)
ϵ_{ijk}	= Efecto del Error Experimental

3.2.1.4. Características del experimento

Factor de estudio (Fe) = 3

Tratamientos (t) = 18

Repeticiones (r) = 2

UE (t x r) = 36

Tamaño de la unidad experimental 1lt. de mucílago

3.3. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para la determinación del mejor tratamiento se aplicó la prueba de Medias, y para este caso específico se aplicó la prueba de Tukey al 5%, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Tukey} = q \sqrt{\frac{\text{CME}}{n}}$$

3.3.1. Procedimiento

Tabla N° 3. Esquema de análisis de varianza

F.V.	GI
Tratamientos.	17
Factor A	1
Factor B	2
Factor C	2
Factor A x B	2
Factor A x C	2
Factor B x C	4
Factor A x B x C	4
Error	18
Total	35

Experimentales: (López J, 2013).

Para determinar si hay diferencia entre tratamientos se realizó:

- Esquema de Análisis de Varianza.
- Para factores en estudio A x B xC prueba de Tukey al 5%,
- Análisis económico en la relación costo/beneficio

3.3.2. Mediciones Experimentales

Para la presente investigación se realizaron las siguientes mediciones experimentales:

3.3.2.1. En la materia prima

Determinación de °Brix. Según las normas INEN273

Determinación de pH. Según las normas INEN 389.

3.3.2.2. **Producto terminado**

Determinación de pH.	Según las normas INEN 389
Determinación de Grado alcohólico.	Según las Normas INEN 340
Análisis sensorial del producto terminado	(olor, sabor color aceptabilidad)

3.3.2.3. **Mejor Tratamiento**

Además se realizó al mejor tratamiento el análisis físico químico:

Determinación de Acidez	Según las Normas INEN 341
Determinación de Metanol.	Según las Normas INEN 347

3.4. MANEJO DE LA INVESTIGACIÓN

3.4.1. **Recepción de Mucílago**

Se transportó la materia prima (mucilago de cacao) tal como lo cosecha el agricultor al centro de acopio UCOCS, en diferentes medios de transporte, en este lugar se somete al cacao recién cosechado a la fermentación para la extracción o separación del mucilago de cacao de la almendra, en este proceso se recicla la materia prima en recipientes higiénicamente adecuados, luego él mismo fue envasado en recipientes plásticos para la transportación, hasta el lugar donde se realizó la presente investigación (planta de frutas y hortalizas de la Universidad Estatal de Bolívar, matriz Guaranda).

Los recipientes utilizados para transportar el mucilago fueron envases plásticos con capacidad de un 1lt, previamente congelados para evitar una posible fermentación, debido a la variabilidad de la temperatura.

3.4.2. Tamizado

En esta etapa se separó las partículas sólidas o impurezas que se encontraban en el mucílago de cacao para eliminarlas de la materia prima, para lo cual se utilizó un colador.

Este proceso se lo realizo con la finalidad de separar las partículas solidadas o impurezas que se encuentran en el mucilago de cacao; al cambiar el mucilago de un recipiente a otro se colocó en la parte superior del nuevo recipiente un colador, de esta manera separamos los objetos o materiales extraños.

3.4.3. Preparación del mosto

El mosto antes de la fermentación se compone principalmente de mucílago, agua y azúcares, así como ácidos (málico y tartárico), además otros componentes químicos en menor cantidad, que son responsables de la composición final de la fermentación alcohólica, que gran parte de los azúcares del mosto se transformará en alcohol etílico, para lo cual se agregó el 5% y 10% de levadura en envases de capacidad de un litro, determinados en la investigación.

3.4.4. Fermentado

Al adicionar levadura en la fermentación no alteramos su estado únicamente estamos acelerando el proceso.

La fermentación que se realizo en este proceso fue anaerobia es decir sin la presencia del oxígeno utilizamos el mismo envase donde se preparó anteriormente el mosto, de acuerdo a los niveles de tiempo establecidos. La fermentación se lo realizó a temperatura ambiente, para realizar este proceso se utilizó una caja de espuma Flex de 1x70cm., diseñado específicamente para el efecto, con la finalidad de mantener una temperatura ambiente y prevenir los cambios bruscos de temperatura.

El lugar se mantuvo de acuerdo a los requisitos de higiene pertinente para la obtención de la bebida alcohólica. El fermentado es el punto esencial para que los azúcares naturales del mucílago dispuesto en el mosto se conviertan en alcohol, componente preponderante para la obtención de la bebida alcohólica.

3.4.5. Destilación

Mediante la tecnología implementada en el laboratorio general de suelo de la Universidad Estatal de Bolívar, matriz Guaranda, se destiló el mosto ya fermentado, para extraer el alcohol, acorde a los tratamientos establecidos y aplicados.

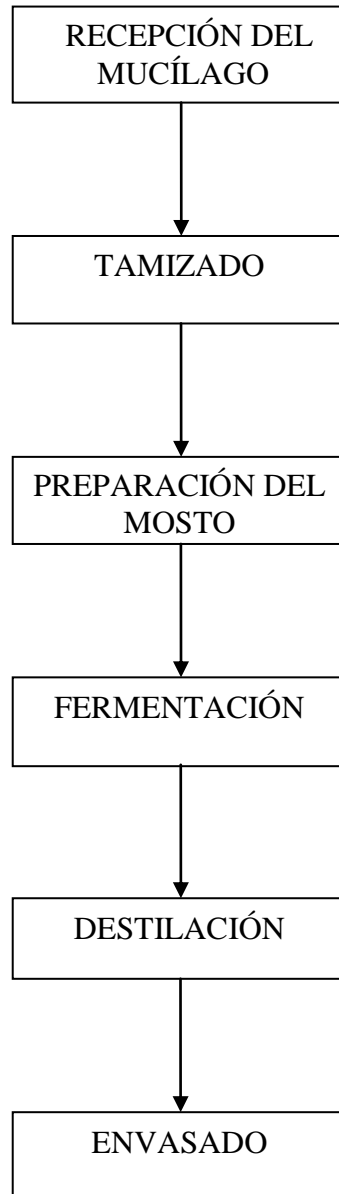
Este proceso se lo realizo en un destilador (capacidad de 2 lt.) a escala de laboratorio a temperaturas de que va entre 83°C a 85°C, con un tiempo aproximado de 20 minutos

3.4.6. Envasado

Procedí a envasar la bebida alcohólica en botellas de vidrio previa esterilización, con capacidad de 500cm³.

El sellado se lo realizo de forma manual el mismo que consistió en sellar los envases utilizando tapas tipo rosca completamente segura para evitar posibles alteraciones del producto, con la finalidad de mantener las características propias del mismo.

3.4.7. Diagrama del proceso para la elaboración de una bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao



IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 EN LA MATERIA PRIMA

4.1.2 Determinación de °Brix y pH

Cuadro N° 3. CONTENIDO DE LOS ANÁLISIS DE °BRIX Y PH EN LA MATERIA PRIMA

ANÁLISIS	NACIONAL	CCN-51
°Brix	15,3	14,2
pH	4,1	4,2

Experimentales: (López J, 2013).

Como podemos observar en el cuadro N° 3 los resultados de los análisis de °Brix y pH, se aprecia que en la variedad de Cacao Nacional obtuvo 15,3 °Brix, y un pH de 4,1 mientras que en los resultados del Cacao CCN-51 se observa 14,2 °Brix y un pH de 4,2 lo que nos indica que el pH es ácido.

4.2. Producto terminado

Se realizó el análisis del rendimiento de mucílago de cacao, para la obtención de una bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.

Para determinar el rendimiento de 1 litro de mucilago de cacao fermentado se midió el volumen de licor en una probeta graduada de 500 ml de capacidad, que nos arrojó como resultado 250 ml de rendimiento, cuyo proceso se detalla a continuación:

Se procedió a destilar el mosto en un destilador a escala laboratorio, el producto obtenido de la destilación fue colocado en el Erlenmeyer, luego se depositó en una probeta graduada de 500 ml de capacidad, la cantidad de cada tratamiento, en este caso específico el mejor fue, el T12 codificado (a1 b1 c3) con una cantidad de 250ml, siendo esta la cantidad más alta en relación con los demás tratamientos.

Cuadro N ° 4. ANÁLISIS DE VARIANZA DEL RENDIMIENTO

F.V.	SC	GI	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	2823.56	17	166.09	33.59	<0.0001**
FACTOR A	4.00	1	4.00	0.81	0.3803NS
FACTOR B	62.89	2	31.44	6.36	0.0081*
FACTOR C	1947.56	2	973.78	196.94	<0.0001**
INTERACCIÓN A X B	44.67	2	22.33	4.52	0.0257*
INTERACCIÓN A X C	72.00	2	36.00	7.28	0.0048*
INTERACCIÓN B X C	237.11	4	59.28	11.99	0.0001**
INTERACCIÓN A X B X C	455.33	4	113.83	23.02	<0.0001**
Error	89.00	18	4.94		
Total	2912.56	35			

CV = 1,19%

Experimentales: (López J, 2013).

***Diferencia significativa**

****Diferencia altamente significativa**

En el cuadro N° 4, en lo que se refiere al análisis de varianza del rendimiento para obtener una bebida alcohólica partir del mucílago de cacao, en cuanto a los tratamientos se observa que existen diferencias altamente significativas, debido a que el tiempo de fermentación influyó en el metabolismo fermentativo en condiciones anaerobios, es decir en algunos tratamientos no completaron el proceso de fermentación.

En lo que se refiere al Factor A que corresponde a las variedades de cacao se aprecia que no existe influencia entre las variedades en el rendimiento de la bebida alcohólica, además se puede observar que existen diferencias altamente significativas esto se debe a que el tiempo influye en la fermentación para la elaboración de una bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.

En lo que se refiere a la interacción AxB se observa que existen diferencias significativas esto se debe a que los grados brix de la variedad nacional es mayor

a la de la variedad CCN-51, por lo que influye con los diferentes porcentajes de levadura para la fermentación.

En la interacción BxC se observa que existen diferencias altamente significativas debido a que el porcentaje de levadura influye en la fermentación según se establece el fenómeno de Pasteur.

En cuanto a la interacción AxBxC se observa que existen diferencia altamente significativas en la obtención de bebida alcohólica a partir de mucilago de cacao porque el porcentaje de levadura y tiempo de fermentación influyeron en el rendimiento del producto terminado.

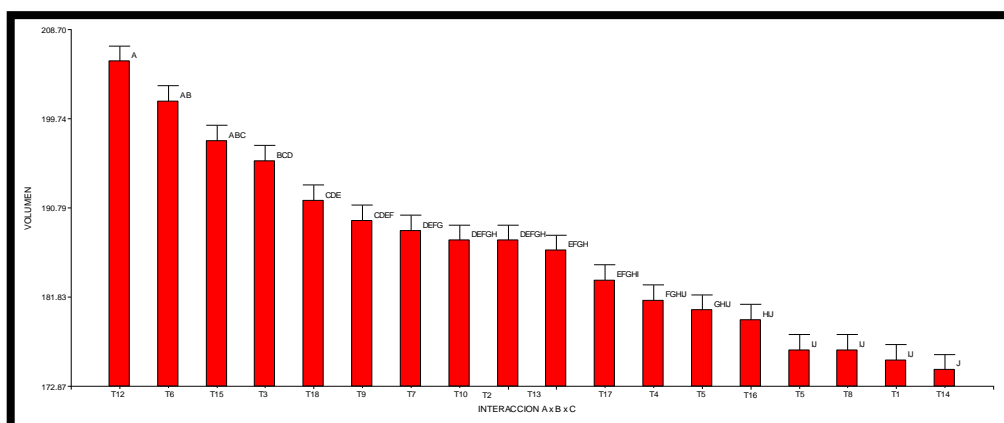
Cuadro N° 5. COMPARACIÓN DE RENDIMIENTO POR EL MÉTODO DE TUKEY AL 5%, DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO

TRATAMIENTOS	MEDIAS	
T12	205,50	A
T6	201,50	A B
T15	197,50	A B C
T3	195,50	B C D
T18	191,50	C D E
T9	189,50	C D E F
T7	188,50	C D E F G
T10	187,50	D E F G
T2	187,50	D E F G
T13	186,50	D E F G
T17	183,50	E F G H
T4	181,50	F G H
T5	180,50	F G H
T16	179,50	G H
T11	176,50	H
T8	176,50	H
T1	175,50	H
T14	174,50	H

DMS=8, 94341

Experimentales: (López J, 2013).

Gráfico N° 1. RENDIMIENTO DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO



Experimentales: (López J, 2013).

Como se observa en el cuadro N° 5 y el gráfico N° 1, en lo que corresponde a las pruebas de rendimiento, para la comparación de medias por el método de Tukey a un nivel del 5% de significancia se aprecia que existen diferencias altamente significativas siendo el mejor tratamiento el T12 que corresponde a los niveles (a2b1c3) al mucílago de la variedad CCN-51, al 0% de levadura a 15 días de fermentación. En lo que respecta al rendimiento de la bebida alcohólica obtenida a partir del mucílago de cacao.

Cuadro N° 6. ANÁLISIS DE VARIANZA DEL pH DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO

F.V.	SC	GI	CM	F	P-valor
TRATAMIENTO	0.19	17	0.01	3.27	0.0083*
FACTOR A	4.4E-03	1	4.4E-03	1.33	0.2633NS
FACTOR B	2.2E-03	2	1.1E-03	0.33	0.7209NS
FACTOR C	0.09	2	0.05	14.08	0.0002*
INTERACCIÓN A X B	0.01	2	4.4E-03	1.33	0.2884NS
INTERACCIÓN A X C	5.6E-04	2	2.8E-04	0.08	0.9204NS
INTERACCIÓN B X C	0.03	4	0.01	2.58	0.0722NS
INTERACCIÓN A X B X C	0.04	4	0.01	3.08	0.0425*
Error	0.06	18	3.3E-03		
Total	0.25	35			

CV = 1,5%

Experimentales: (López J, 2013).

En el cuadro N° 6, en lo que se refiere al análisis de varianza del pH en la obtención de una bebida alcohólica a partir de mucílago de cacao, en cuanto a los tratamientos se observa que existen diferencias significativas, esto se debe a que el tiempo de fermentación y el porcentaje de levadura influyeron en el pH de los tratamientos.

En lo que se refiere al Factor A que corresponde a las variedades de cacao se aprecia que existe diferencias no significativas es decir que el mucílago de las dos variedades de cacao no influyeron en el pH del producto terminado, al igual que el Factor B no existen diferencias significativas debido a que el porcentaje de levadura no influye en el pH del producto terminado, además se puede observar

que en el Factor C existen diferencias significativas esto se debe a que el tiempo de fermentación influye en el pH para la elaboración de una bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.

En lo que se refiere a la interacción AxB se observa que existen diferencias no significativas, esto se debe a que el mucilago de las dos variedades de cacao y los porcentajes de levadura no influyeron en el pH del producto terminado.

Con respecto a la interacción AxC se observa que existen diferencias no significativas debido a que el mucilago de las dos variedades de cacao y el tiempo de fermentación no influyeron en el producto terminado.

En la interacción BxC se observa que existen diferencias no significativas debido a que el porcentaje de levadura y el tiempo de fermentación no influyeron en el pH del producto terminado.

En cuanto a la interacción AxBxC se observa que existen diferencias significativas porque el mucilago de las dos variedades de cacao, el porcentaje de levadura y tiempo de fermentación influye en el pH de la bebida alcohólica a partir del mucilago.

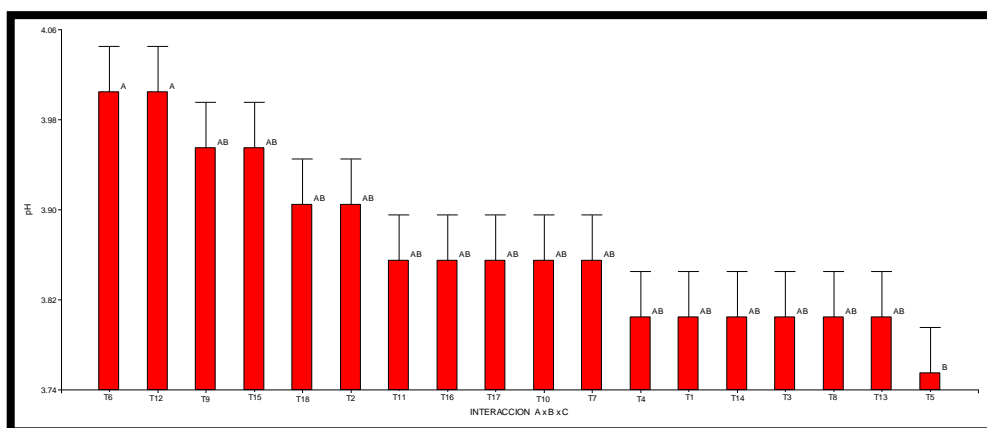
Cuadro N° 7. COMPARACIÓN DE PROMEDIOS DEL pH POR EL MÉTODO DE TUKEY AL 5%, EN LA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO

TRATAMIENTO	MEDIAS	SIGNIFICANCIA
T6	4.00	A
T12	4.00	A
T9	3.95	A B
T15	3.95	A B
T18	3.90	A B
T2	3.90	A B
T11	3.85	A B
T16	3.85	A B
T17	3.85	A B
T10	3.85	A B
T7	3.85	A B
T4	3.80	A B
T1	3.80	A B
T14	3.80	A B
T3	3.80	A B
T8	3.80	A B
T13	3.80	A B
T5	3.75	B

DMS=0.23221

Experimentales: (López J, 2013).

Gráfico N° 2. PH DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO



Experimentales: (López J, 2013).

Como se puede apreciar en el cuadro N° 7 y el grafico N° 2, que corresponden a las pruebas de pH, para la comparación de medias por el método de Tukey a un nivel de significancia al 5% se aprecia que existen diferencias significativas siendo el T6 que corresponde a los niveles (a1b2c3) al mucílago de la variedad Nacional, al 5% de levadura a 15 días de fermentación el mejor tratamiento en lo que respecta al pH de una bebida alcohólica obtenida a partir del mucílago de cacao.

Cuadro N° 8. ANÁLISIS DE VARIANZA DE GRADOS ALCOHÓLICOS (°GL) EN LA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO.

F.V.	SC	Gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTO	223.67	18	12.43	35.87	<0.0001**
FACTOR A	205.44	1	205.44	593.08	<0.0001**
FACTOR B	0.22	2	0.11	0.32	0.7299NS
FACTOR C	9.39	2	4.69	13.55	0.0003*
INTERACCIÓN A X B	0.89	2	0.44	1.28	0.3027NS
INTERACCIÓN A X C	0.06	2	0.03	0.08	0.9233NS
INTERACCIÓN B X C	3.44	4	0.86	2.49	0.0825NS
INTERACCIÓN A X B X C	4.11	4	1.03	2.97	0.0499NS
Error	5.89	17	0.35		
Total	229.56	35			

CV = 1,63%

Experimentales: (López J, 2013).

En el cuadro N° 8, en lo que se refiere al análisis de varianza del °GL en la obtención de una bebida alcohólica a partir de mucílago de cacao, en cuanto a los tratamientos se observa que existen diferencias altamente significativas, esto se debe a que el tiempo de fermentación y el porcentaje de levadura influyeron en el °GL de la bebida alcohólica a partir de mucílago de cacao.

En lo que se refiere al Factor A que corresponde a las variedades de cacao se aprecia que existe diferencias no significativas es decir que el mucílago de las dos variedades de cacao no influyeron en el °GL del producto terminado, al igual que el Factor B no existen diferencias significativas debido a que el porcentaje de levadura no influye en el °GL del producto terminado, además se puede observar

que en el Factor C existen diferencias significativas esto se debe a que el tiempo de fermentación influye en el °GL para la elaboración de una bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao.

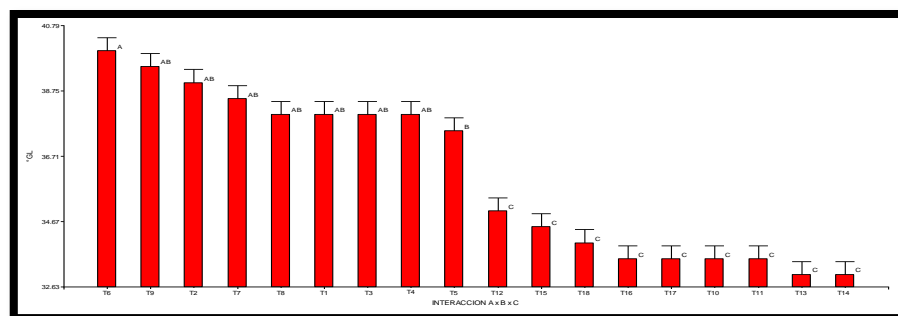
Cuadro N° 9. COMPARACIÓN DE PROMEDIOS DE GRADOS ALCOHÓLICOS (°GL) POR EL MÉTODO DE TUKEY AL 5%, EN LA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO

TRATAMIENTOS	MEDIAS	SIGNIFICANCIA
T6	40.00	A
T9	39.50	A B
T2	39.00	A B
T7	38.50	A B
T8	38.00	A B
T1	38.00	A B
T3	38.00	A B
T4	38.00	A B
T5	37.50	B
T12	35.00	C
T15	34.50	C
T18	34.00	C
T16	33.50	C
T17	33.50	C
T10	33.50	C
T11	33.50	C
T13	33.00	C
T14	33.00	C

DMS=2.32212

Experimentales: (López J, 2013).

Gráfico N° 3. °GL DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO



Experimentales: (López J, 2013).

Como apreciamos en el cuadro N° 9 y el grafico N°3, que corresponden a las pruebas de °GL, para la comparación de medias por el método de Tukey a un nivel del 5% de significancia se aprecia que existen diferencias significativas siendo el T6 que corresponde a los niveles (a1b2c3) al mucílago de la variedad Nacional, al 5% de levadura a 15 días de fermentación como el mejor tratamiento en lo que respecta a grado alcohólico (°GL) de la bebida alcohólica obtenida a partir del mucílago de cacao.

Cuadro N° 10. ANÁLISIS SENSORIAL DEL PRODUCTO TERMINADO (SABOR Y COLOR AROMA OLOR)

ANÁLISIS SENSORIAL				
TRATAMIENTO	SABOR	COLOR	AROMA	ACEPTABILIDAD
T1	2,8	3,3	2,7	3,2
T2	3,0	3,6	3,0	3,3
T3	1,8	3,4	2,9	3,3
T4	3,3	3,7	3,2	3,5
T5	3,2	3,6	3,3	3,5
T6	3,1	3,8	3,6	4,0
T7	2,7	3,5	3,3	3,5
T8	2,5	3,3	3,1	3,5
T9	2,7	3,2	2,8	3,4
T10	2,5	3,5	2,4	3,6
T11	2,5	3,4	2,6	4,0
T12	3,1	3,5	3,1	3,6
T13	3,5	3,8	3,3	3,9
T14	3,3	3,3	2,9	3,9
T15	3,5	3,9	3,5	4,0
T16	3,2	3,4	3,2	3,5
T17	2,7	3,6	3,1	3,8
T18	3,4	3,6	3,2	3,7
Σ	52,8	63,4	55,2	65,2
Ī	2,93	3,52	3,06	3,62

Experimentales: (López J, 2013).

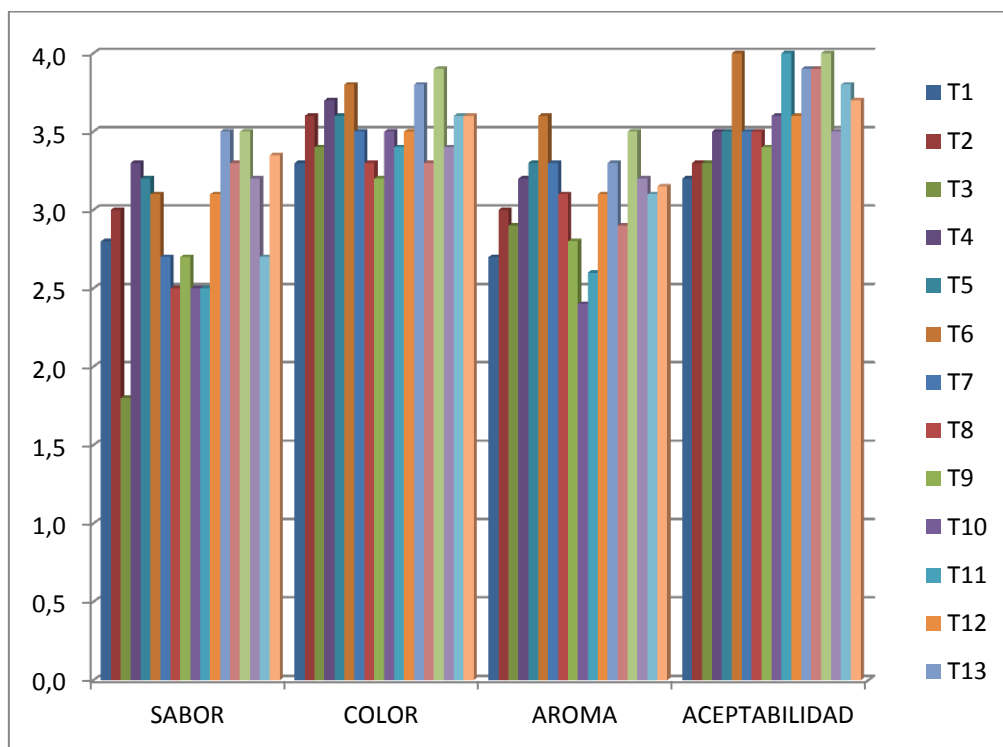
En el cuadro N° 10, podemos comparar los resultados de las características organolépticas de los tratamientos de una bebida alcohólica obtenida por la fermentación del mucílago de cacao, los resultados fueron obtenidos por catadores no entrenados como fueron los estudiantes de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Estatal de Bolívar, matriz Guaranda.

Como se puede apreciar en el cuadro N° 10, tanto para sabor, aroma, color y aceptabilidad se obtuvieron como promedio más alto los tratamientos T6 y T11 T15.

Cabe mencionar que el tratamiento que resulto mejor según los catadores en cuanto a la variable sabor fue el tratamiento T15 con una puntuación de 3.5, mayor en comparación con los demás. Para la variable color el tratamiento que resulto mejor fue tratamiento T15 codificado (a2 b2 c3) con una puntuación de 3.9 en comparación con los demás. Para la variable aroma el tratamiento que resulto mejor en comparación con los demás fue el T6 codificado (a1 b2 c3) con una puntuación de 3.6 y para la variable de aceptabilidad los mejores tratamientos fueron el T6, T11 y T15 que alcanzaron una puntuación de 4.0 superando a los demás tratamientos.

Todos los resultados son muy buenos en lo que corresponde a los promedios obtenidos por los catadores, pero según las normas antes indicadas, mencionan que: “Toda bebida alcohólica deberá tener el color, aroma y sabor característico de la fruta de la que proceden”, esto se debe a que los catadores no son entrenados para este tipo de producto, a pesar que se les impartió una charla previa a la catación.

Gráfico N° 4. ANÁLISIS SENSORIAL DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO



Experimentales: (López J, 2013).

Cuadro N° 11. ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICO DE LOS MEJORES TRATAMIENTOS

ANÁLISIS	T6 (a1 b1 c3)	T15(a2 b2 c3)
Ph	3,7	4,1
TEMPERATRURA	17,5	20,5
GRADO ALCOHÓLICO	40,0	36,0
ACIDEZ TITULABLE	0,74	0,43
METANOL	NEGATIVO	NEGATIVO

En el cuadro N°11, de lo que respecta al análisis Físico Químico del mejor tratamiento se aprecia que el pH del mucílago de cacao de la variedad CCN-51 es de 4,1, en cuanto el de la variedad nacional es de 3,7, estos resultados nos indican que son ácidos ya que están bajo de lo neutro que es 7; el grado alcohólico del mucílago de cacao de la variedad CCN-51 fue de 20,5, en cuanto al grado alcohólico del mucílago de cacao de la variedad nacional es de 40, estos resultados nos indican que son aceptables para el consumo; la acidez titulable del mucílago de cacao de la variedad CCN-51 fue 0,43, en cuanto a la acidez titulable del mucílago de cacao de la variedad nacional fue 0,74, estos resultados nos indican que se encuentran dentro de los rangos según las norma INEN 362 de las bebidas alcohólicas, rangos permitidos en grados alcohólicos de 15 a 85°GL acides titulable, 40 *mg/100 cm³ y del metanol 10 *mg/100 cm³ de alcohol.

4.3. Análisis económico en la relación costo beneficio

Tabla N° 4. Análisis económico de relación costo beneficio en la bebida alcohólica a partir del mucílago de cacao

T₆ (Mejor Tratamiento)		
Rubros	Cantidad	Costo (\$)
Mucilago.	1000ml	0,10
Levadura	0,05gr	0,05
Envases plásticos para fermentar	1 Unidad	0,15
Envases de vidrio	1 Unidad	0,20
Costos Directos		0,50
Costos Indirectos		0,25
Producto obtenido	205,5ml	0,75
Precio para la venta		1,00
Total egresos		0,75
Total ingresos		1,00
BENEFICIO/COSTO		1,33

Experimentales: (López J, 2013).

IB=Ingreso Bruto= 1,00

$$\text{Beneficio / costo} = \frac{IB}{CD+CI} \text{BC} = \frac{\$1,00}{\$0,75} = 1,33$$

En la tabla N° 4, se puede observar el análisis de costo beneficio en la cual se determinó que el costo total de producción para la elaboración de 205,5ml de bebida alcohólica a partir de mucílago de cacao es de USD 0,75 ofertándolo al consumidor un producto al precio de USD 1,00 obteniendo una ganancia de USD 0,25 por cada 205,5ml de producto vendido.

V. VERIFICACIÓN DE LA HIPÓTESIS

5.1. Planteo de Hipótesis

Ho: La interacción de levadura y tiempo de fermentación influyen en la obtención de una bebida alcohólica en base a mucílago de cacao.

Hi: La interacción de levadura y tiempo de fermentación no influyen en la obtención de una bebida alcohólica en base a mucílago de cacao.

5.1.1. Procedimiento

5.2. Verificación de la Hipótesis

De acuerdo al tema planteado y de conformidad con la hipótesis planteada, fue necesario trabajar con las Frecuencias observadas que se obtuvieron de la investigación en que se detecta que la interacción de levadura y tiempo de fermentación influirán en la obtención de una bebida alcohólica en base a mucílago de cacao.

Para comprobar esta hipótesis se basó en los resultados de las cataciones dirigida a los estudiantes no entrenados, de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial.

Tabla N° 5. Frecuencias observadas (FO) y frecuencias esperadas (FE)

FRECUENCIAS OBSERVADAS	VARIABLES		TOTAL
	I	II	
Sabor	3,10	3,50	6,60
Color	3,80	3,90	7,70
Aroma	3,60	3,50	7,10
Aceptabilidad	4,00	4,00	8,00
TOTAL	7,6	7,5	15,1

FRECUENCIAS ESPERADAS			TOTAL
	VI	VD	
Apariencia	3,32	3,28	6,60
Color	3,88	3,82	7,70
aceptabilidad	3,57	3,53	7,10
Sabor	4,03	3,97	8,00
TOTAL	7,60	7,50	15,10

GRADOS DE LIBERTAD

$$gl = (f - 1)(c - 1)$$

FILAS (f) =4-1 3

COLUMNAS (C) 2-1 1

$$gl = 3$$

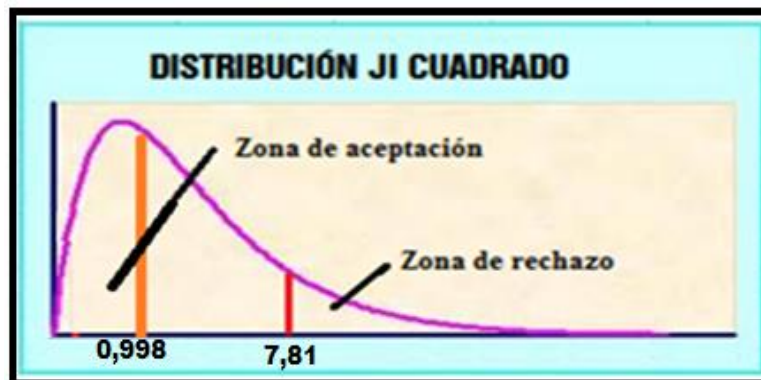
Calculo del Chi²

FO	FE	$\chi^2 = \sum \frac{(Fo - Fe)^2}{Fe}$
3,60	3,57	0,000196368
3,50	3,53	0,000198986
4,00	4,03	0,000174277
4,00	3,97	0,0001766
TOTAL		0,000746232

Función Chi² para graficar: 0,998

El valor crítico se obtiene de la tabla de distribución Chi² con 3 grados de libertad
VALOR CRÍTICO = 7,81

Gráfico N° 5. GRÁFICO DE DISTRIBUCIÓN JI CUADRADO



Interpretación:

Como podemos observar en el gráfico de distribución ji cuadrado, el valor ji cuadrado se encuentra en la zona de aceptación, porque el valor ji cuadrado es menor que el valor crítico, por lo tanto se acepta la hipótesis nula.

Es decir que, la interacción de levadura y tiempo de fermentación influirá en la obtención de una bebida alcohólica en base a mucílago de cacao.

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1. CONCLUSIONES

Del presente trabajo de investigación se pueden expresar las siguientes conclusiones:

- El mejor tiempo de fermentación para la obtención de una bebida alcohólica a partir de la fermentación de mucílago de cacao fue de 15 días, esto indica que a este tiempo las levaduras realizaron el proceso anaerobio de fermentación del mucilago.
- El mejor porcentaje de levadura en la fermentación del mucílago, para la obtención de una bebida alcohólica fue de 5%, ya que este porcentaje se califico como el mejor en este trabajo de investigación.
- En esta investigación se obtuvieron dos tratamientos con las mejores características, así el tratamiento T6 que corresponde al código (a1b2c3) es decir el mucílago de cacao de la variedad nacional, con 5% de levadura y 15 días de fermentación; obtuvo las siguientes características bromatológicas, pH 3,7; temperatura 17,5°C grado alcohólico 40°GL, una acidez titulable de 0,74 y el tratamiento T15 que corresponde al código (a2b2c3) es decir el mucílago de cacao de la variedad CCN-51, con 5% de levadura y a 15 días de fermentación del cual se obtuvo las siguientes características bromatológicas, pH 4,1; temperatura 20,5°C grado alcohólico, 36°GL y una acidez titulable de 0,43 y con respecto al resultado para la investigación de metanol fue negativo en los dos tratamientos.
- En el análisis costo beneficio se establece que para obtener 205,5 ml se invirtió USD 0,75, ofertándolo al consumidor al precio de USD 1,00, obteniendo una ganancia de USD 0,25 por cada producto vendido es decir que por cada dólar invertido se obtuvo una ganancia de 33%.

6.2. RECOMENDACIONES

Tomando en cuenta que el presente trabajo de investigación está enfocado a un producto novedoso me permito recomendar lo siguiente:

- Usar las B.P.M. (Buenas prácticas de manufactura) en todos los procesos del experimento para obtener un producto de buena calidad.
- Para obtener una bebida alcohólica usar mucílago de cacao de la variedad Nacional o CCN-51 con 5% de levadura a 15 días de fermentación.
- Mantener la temperatura lo más estable posible pues la variación excesiva de este parámetro trae consigo serios problemas en la fermentación.
- Impartir una charla al panel de catadores, como realizar su evaluación de una manera eficaz.
- Utilizar mucilago de cacao en buen estado para obtener un mejor producto
- Incentivar a continuar con la Investigación de productos derivados del mucilago de cacao para encontrar una mayor rentabilidad a el mismo.

VII. RESUMEN Y SUMMARY

7.1. RESUMEN

La presente investigación se realizó en el cantón Guaranda provincia Bolívar. Los objetivos planteados en esta investigación fueron:

Establecer el mejor tiempo de fermentación del mucílago, determinar el mejor porcentaje de levadura para la fermentación del mucílago, caracterizar bromatológicamente el mejor tratamiento, hacer el estudio costo/beneficio del producto terminado del mejor tratamiento.

El material experimental utilizado fue mucílago de cacao de dos variedades de cacao. Se aplicó un diseño de bloques completamente al azar con arreglo factorial 2x3x3 con dos repeticiones. El análisis funcional se basó en una prueba Tukey al 5% para comparar promedios de los tratamientos.

Al realizar la evaluación sensorial de las características organolépticas de los atributos; sabor, olor, aroma y textura, al comparar los tratamientos los panelistas han seleccionado como el mejor tratamiento al T₆ (a1b2c3) que corresponde a la variedad de cacao nacional, al 5% de levadura y 5 días de fermentación y el T₁₅ (a2 b2 c3), que corresponde a la variedad de cacao CCN-51, al 5% de levadura y 5 días de fermentación.

Como los tratamientos T₆ y T₁₅ fueron determinados los mejores por medio de la evaluación sensorial, se caracterizaron bromatológicamente los dos tratamientos encontrándose dentro de los parámetros exigidos en la normativa de control (INEN 340, 341, 347).

Además se realizó el análisis de costo beneficio en la cual se determinó que el costo total de producción para la elaboración de 205,5ml de bebida alcohólica a partir de mucílago de cacao es de USD 0,75 ofertándolo al consumidor un producto al precio de USD 1,00 obteniendo una ganancia de 0,25 ctvs. es decir que por cada dólar invertido se obtuvo 0,33 % de ganancia.

7.2. SUMMARY

The present investigation was carried in the canton Guaranda Provincia Bolívar. The objectives outlined in this investigation were:

To establish the best time in fermentation of the mucilage, to determine the best yeast percentage for the fermentation of the mucilage, to characterize bromatológicamente the best treatment, to make the study costo/beneficio of the ended product of the best treatment.

The utilized experimental material was mucilage of cocoa of two varieties of cocoa. A design of blocks was applied totally at random with factorial arrangement 2x3x3 with two repetitions. The functional analysis was based on a Tukeytestto 5% to compare averages of treatments.

When carrying out the sensorial evaluation of the organoleptic characteristics of the attributes; flavor, scent, aroma and texture, when comparing the treatments the panelists have selected as the best treatment to the T6 (a1b2c3) that corresponds to the variety of national cocoa, to 5% yeast and 5 days of fermentation and T15 (a2b2c3) that corresponds to the variety of cocoa CCN-51, to 5 % yeast and 5 days of fermentation.

As the treatments T6 and T15 the best were determined by means of the sensorial evaluation, bromatológicamente the two treatments were characterized being inside the parameters demanded in the control regulatory scheme (INEN 340, 341, 347).

Y were also carried out the analysis of cost benefit in which was determined that the total cost of production for the elaboration of 205,5 ml of alcoholic drink starting from mucilage of cocoa is of USD 0,75 offering it to the consumer a product to the price of USD1,00 obtaining a gain of 0,25 ctvs. That is to say that for each overturned dollar 0,33% of gain was obtained.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. ADICACAO. 2011. Funciones del cacao (en línea). Consultado 20 dic 2011. Disponible en <http://blog.espol.edu.ec/mepachec/producto/>
2. ANECACAO. 2011. Cacao ecuatoriano fue galardonado en dos categorías en el Salón de París (en línea). Quito, Ecuador. Consultado 20 dic 2011. Disponible en <http://www.anecacao.com/>
3. ANGULO, JOHANNA. GRAZIANI, LUCÍA. ORTIZ, LIGIA. PARRA, PABLO. 2000. Caracterización física de la semilla de cacao criollo, forastero amazónico y trinitario de la localidad de Cumboto, estado Aragua. Universidad Central de Venezuela. Consultado 20 dic 2011. Disponible en http://sian.inia.gob.ve/repositorio/revistas_ci/Agronomia%20Tropical/at5102/art/angulo_j.htm
4. GARCÍA, MÓNICA. 2011. Cacao – Ecuador (en línea). Consultado 20 dic 2011. Disponible en <http://monicagz-comercioexterior.blogspot.com/2010/09/cacao-ecuador.html>
5. IMMACULADAANGUREL. 2012. Operaciones básicas en el laboratorio de química; Universitat de Barcelona http://www.ub.edu/oblq/oblq%20castellano/destilacio_tipus.html#simple
6. INFOCOMM (INFORMACIÓN DE MERCADO SOBRE PRODUCTOS BÁSICOS.COM). 2011. Cacao (en línea). Consultado 20 dic 2011. Disponible en <http://unctad.org/infocomm/espagnol/cacao/descripc.htm>
7. KALVATCHEV ZLATKO. 2000. Theobroma Cacao L Un nuevo enfoque para nutrición y salud. Venezuela.
8. LAURA PÉREZ ORTIZ. 2011. Blogs de Ciencia y Tecnología de Fundación Telefónica, Biotecnología <http://blogs.creamoselfuturo.com/bio-tecnologia/2011/03/14/la-fermentacion-alcoholica-como-se-produce-y-aplicaciones/>.
9. MAGAP (Ministerio de Agricultura, Acuicultura y Pesca, Ecuador). 2011. Agrocadena de cacao y elaborados - Panorama Internacional. Consultado 20 dic 2011. Disponible en http://www.magap.gob.ec/sinagap/charts/cacao_panoramaint.htm
10. MOTAMAYOR, J. 2002. Theobroma cacao (en línea). Consultado 20 dic 2011. Disponible en http://es.wikipedia.org/wiki/Theobroma_cacao

11. ORTEGA, ELLERY. 2010. Propiedades generales y químicas de los alcoholes (en línea). Consultado 20 dic 2011. Disponible en <http://www.monografias.com/trabajos79/propiedades-generalres-quimicas-alcoholes/propiedades-generalres-quimicas-alcoholes2.shtml>
12. ROBLEDO DE DIOS TERESA. 2000. MINISTERIO DE SANIDAD Y CONSUMO SECRETARÍA GENERAL TÉCNICA, España http://es.wikipedia.org/wiki/Bebida_alcoh%C3%B3lica
13. SCHWAN RF, & WHEALS AE.2004. The microbiology of cocoa fermentation and its role in chocolate quality. *Critical reviews in food science and nutrition*, 44 (4), 205-21 PMID: 15462126; <http://curiosidadesdelamicrobiologia.blogspot.com/2010/02/microbios-divinos.html>
14. SIMUNOVICYERKO ESTAY. 1999. MANUAL DE BEBIDAS ALCOHOLICAS Y VINAGRES. dicción y Diseño: Subdepartamento Divulgación Técnica Servicio Agrícola y Ganadero, noviembre, Pg. 48 <http://www.derechoagrario.cl/libros/5.pdf>
15. UNIDAD DE INVESTIGACIÓN Y DESARROLLO EN ALIMENTOS (UNIDA). 2009. Calzada Miguel Ángel de Quevedo #2779 Col. Formando Hogar Veracruz, Ver C. P. 91860 <http://www.buenastareas.com/ensayos/Evaluaci%C3%B3n-De-La-Producci%C3%B3n-De-Etanol/248802.html>
16. ZONADIET. 2011. Bebidas alcohólicas destiladas (en línea). Consultado 20 dic 2011. Disponible en <http://www.zonadiet.com/bebidas/destilacion.htm>

ANEXOS

ANEXO 1

UBICACIÓN GEOGRÁFICA



ANEXO 2

MODELO DE FICHA PARA LA EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DEL MUCÍLAGO DE CACAO

CARACTERÍSTICA DECALIDAD	CÓDIGO	VALORACIÓN
SABOR	1	Suave
	2	Ligeramente suave
	3	Fuerte
	4	Ligeramente Fuerte
COLOR	1	Semi oscuro
	2	Obscuro
	3	Semi transparente
	4	Transparente
AROMA	1	Desagradable
	2	Poco agradable
	3	Agradable
	4	Muy agradable
ACEPTABILIDAD	1	Nada aceptable
	2	Poco aceptable
	3	Ligeramente aceptable
	4	Aceptable

ANEXO 3

IMÁGENES DEL DIAGRAMA DEL PROCESO PARA LA ELABORACIÓN DE LICOR DE CACAO



Recepción del mucílago



Tamizado



Preparación del mosto



Fermentación



Destilación



Envasado

ANEXO 4

IMÁGENES DE LA EVALUACIÓN ORGANOLÉPTICA



ANEXO 5

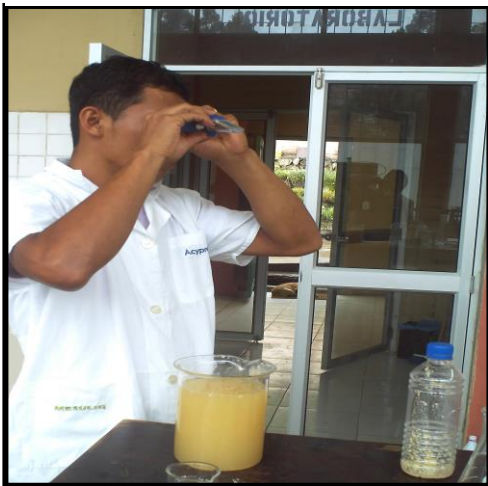
IMÁGENES ANÁLISIS



Grados Brix



Grados Brix



Grados Brix



PH.



PH.



PH.

IMÁGENES ANÁLISIS DE GRADOS ALCOHÓLICOS



ANEXO 7

RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS

Análisis 1

Ministerio de Salud Pública
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE Y MEDICINA TROPICAL
"LEOPOLDO IZQUIETA PÉREZ"
SUBPROCESO DE TOXICOLOGIA

Of. N° -0806-ST-2012
Mayo 31 del 2012

RECEPCIÓN
LAB. PROVINCIALES
I. M. H.
Fecha: 4/06/12 Hora: 10:00
Firma del Empleado Responsable

Doctora
Laura Gualoto Orozco
Gestión de los Laboratorios
Litoral e Insular
En el Instituto.-

De mis consideraciones:

Por medio de la presente remito a Usted, resultados de las muestras de alcohol enviadas desde la ciudad de Guaranda por la Lic. Beatriz Llanos Y., las mismas que fueron analizadas por la Dra. Amalia Palacios Alejandro:

Tipo de Prueba: Cualitativa

DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA	ASPECTO DE LA MUESTRA	RESULTADO PARA INVESTIGACIÓN DE METANOL
Muestra # 1 (Envase de vidrio conteniendo licor de 150 ml cada uno, perteneciente al Sr. Jenrry López)	Líquido Transparente	NEGATIVO
Muestra # 2 (Envase de vidrio conteniendo licor de 150 ml cada uno, perteneciente al Sr. Jenrry López)	Líquido Transparente	NEGATIVO

Atentamente,


Dr. Eduardo Sandoval Villamar
JEFE DEL SUBPROCESO DE TOXICOLOGIA

Lourdes

Análisis 2

LABORATORIO DE SUELOS

Muestra : ALCOHOL
Lugar: LAS NAVES
Parroquia, Cantón: LAS NAVES
Propietario: JENRY LOPEZ
L
Solicitante: JENRY LOPEZ
L
Fecha de Ingreso: MAYO 23 2012
Fecha de Entrega de Resultados: MAYO 28 2012

ALCOHOL OBTENIDO DE MUCLAGO DE CACAO

	CCN51	NACIONAL
PH	4,1	3,7
TEMPERATURA °C	20,5	17,5
GRADO ALCOHOLICO	36	40
ACIDEZ TITULABLE	0,43	0,74


DRA. EDITH YANEZ
TEC. LABORATORISTA

fmc

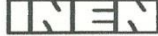


ANEXO 8

NORMAS INEN

Norma 1

CDU: 663.5
ICS: 3131

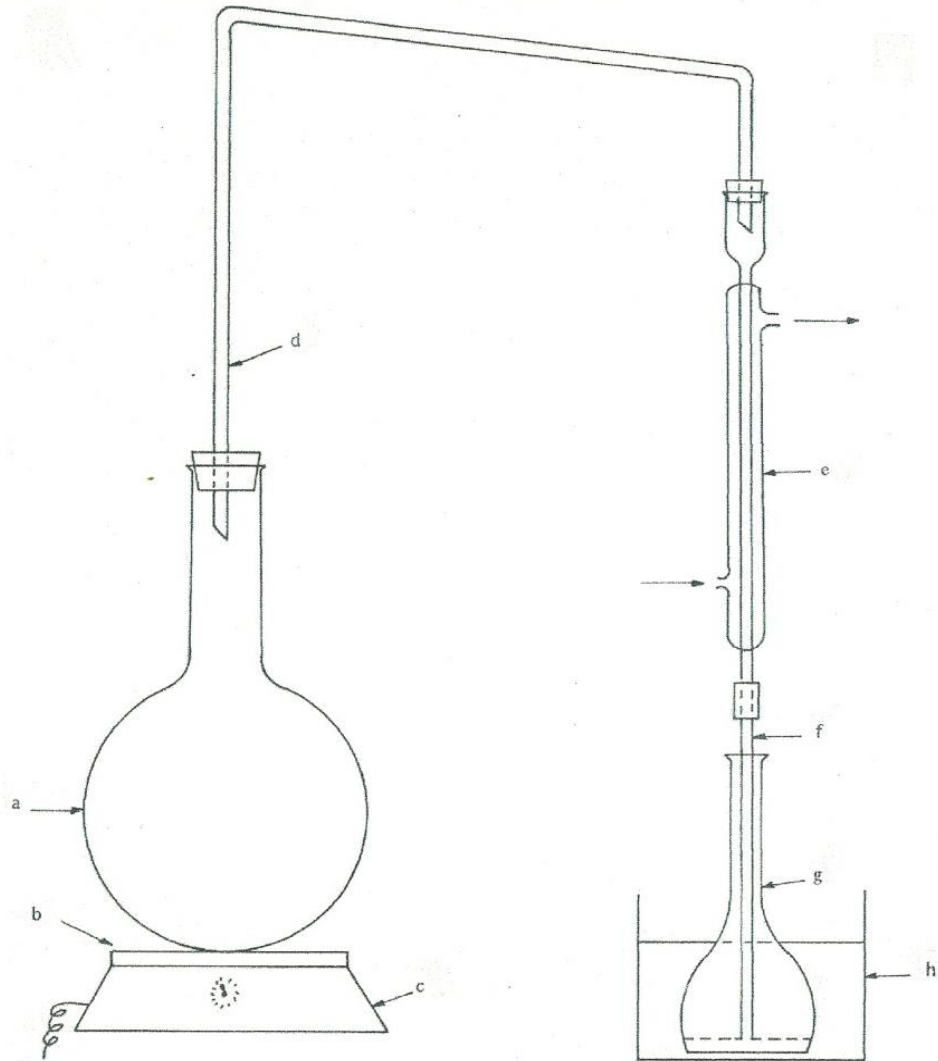


AL 04.02-302

Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria	BEBIDAS ALCOHOLICAS. DETERMINACIÓN DEL GRADO ALCOHOLICO.	NTE INEN 340:1994 Primera revisión 1994-10
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta Norma establece el método para determinar el grado alcohólico en bebidas alcohólicas.</p> <p style="text-align: center;">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta Norma se aplica a bebidas alcohólicas destiladas, alcohol etílico, materias primas y subproductos alcohólicos.</p> <p style="text-align: center;">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 Grado alcohólico. Es el volumen de alcohol etílico, expresado en centímetros cúbicos, contenido en 100 cm³ de bebida alcohólica, a una temperatura determinada.</p> <p>3.2 Grado alcohólico. Es el grado de una mezcla hidroalcohólica pura, indicado por el alcoholímetro centesimal de Gay Lussac en una temperatura diferente a la de referencia. La lectura de un grado aparente debe darse siempre indicando la temperatura a la cual dicha lectura fue tomada. También se considera grado aparente la lectura alcoholimétrica de una mezcla que no sea pura, debido a la adición de sustancia que altera la densidad de la mezcla. En este caso, para determinar el grado alcohólico real, debe someterse a un proceso de destilación, hasta obtener una mezcla hidroalcohólica pura.</p> <p style="text-align: center;">4. METODO DE ENSAYO</p> <p>4.1 Resumen</p> <p>4.1.1 El método consiste en efectuar una destilación simple de la bebida alcohólica, llevar a un volumen inicial con agua destilada y determinar en el destilado hidroalcohólico, el grado alcohólico volumétrico, por alcoholimetría.</p> <p>4.2 Instrumental</p> <p>4.2.1 Alcoholímetro de Gay-Lussac, calibrado a 15°C y 20°C graduados en décimas de grado alcohólico, de calidad certificada.</p> <p>4.2.2 Termómetro graduado en décimas de grado Celsius (centígrados).</p> <p>4.2.3 Matraz volumétrico, de 250 cm³.</p> <p>4.2.4 Probeta de capacidad y diámetro adecuados para evitar rozamiento con el alcoholímetro.</p> <p>4.2.5 Aparato para destilación (ver figura 1), compuesto por:</p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p> <p>DESCRIPTORES: Bebidas espirituosas, alcoholes, aguardientes, licores, fermentación, destilación, infusión, percolación, maceración, método de ensayo.</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquerizo Moreno E8-29 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

FIGURA 1. Apartado para destilación



(Continúa)

- a) matraz de destilación, de 1000 cm³, con fondo redondo,
- b) malla de asbesto,
- c) fuente eléctrica de calentamiento,
- d) tubo de vidrio delgado, de aproximadamente 6 mm de diámetro interno y de dimensiones 300 x 300 mm x 150 mm,
- e) refrigerante de Liebig de longitud igual o mayor a 400 mm,
- f) tubo de vidrio adecuado para dirigir el destilado al recipiente colector,
- g) matraz volumétrico, de 250 cm³, y
- h) baño de agua con hielo, en el que debe sumergirse el matraz volumétrico.

4.2.6 Baño de agua, con temperatura constante de $15 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, ó $20 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, según el caso, de profundidad igual o superior a 30 cm.

4.2.7 Núcleos de ebullición.

4.3 Preparación de la muestra.

4.3.1 Para productos alcohólicos que contienen extracto seco, debe destilarse previamente la muestra, y determinar en el destilado el grado alcohólico volumétrico utilizando el alcoholímetro Gay-Lussac.

4.3.2 Lavar cuidadosamente el equipo para destilación con agua destilada y proceder a armarlo.

4.3.3 Enjuagar el matraz con una porción de la muestra de bebida alcohólica, llenarlo con la muestra hasta sobrepasar la marca de 250 cm³ y tapar el matraz.

4.3.4 Colocar el matraz en el baño de agua, a temperatura constante de $15^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ó $20^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, según el caso, durante 20 minutos y retirar el exceso de muestra que sobrepasa la marca, utilizando una pipeta, hasta obtener el volumen exacto de 250 cm³.

4.3.5 Transferir el contenido al matraz del aparato de destilación y lavar con tres porciones de 10 cm³ de agua destilada, recogiendo el agua de lavado en el mismo matraz del aparato de destilación. Añadir núcleos de ebullición.

4.3.6 Destilar lentamente la muestra, recogiendo el condensado en un matraz volumétrico de 250 cm³, al que se añaden previamente 10 cm³ de agua destilada, hasta que se haya recogido 220 cm³ aproximadamente.

4.3.7 Colocar el matraz en un baño de agua a temperatura constante $15^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ ó $20^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, según el caso, durante 20 minutos y luego añadir cuidadosamente agua destilada a 15°C ó 20°C , según el caso, hasta completar el volumen de 250 cm³ y homogeneizar.

4.4 Procedimiento

4.4.1 Efectuar la determinación en la misma muestra preparada por duplicado.

4.4.2 Colocar la muestra preparada en la probeta perfectamente limpia y seca.

4.4.3 Limpiar y secar cuidadosamente el alcoholímetro y el termómetro e introducirlos suavemente en la probeta con la muestra, manteniéndolos así durante 10 minutos

(Continúa)

4.4.4 Agitar ligeramente para igualar la temperatura del sistema y leer la temperatura.

4.4.5 Dejar en reposo hasta que desaparezcan las burbujas de aire que se forman en el seno del líquido y efectuar la lectura en el alcoholímetro, considerando el nivel real del líquido y no la elevación del menisco, utilizando una lupa, si fuera necesario.

4.4.6 Corregir el grado alcohólico aparente medido a 15°C, utilizando la tabla 1.

4.4.7 Corregir el grado alcohólico aparente medido a 20°C utilizando la tabla 2.

4.4.8 Corregir el grado alcohólico aparente Intermedio, por interpolación.

4.5 Errores de método

4.5.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 0,2 GL; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

4.6 Informe de resultados.

4.6.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación, con aproximación a una centésima.

4.6.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

4.6.3 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

(Continúa)

APENDICE Z**Z,1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR**

Esta norma no requiere de otras para su aplicación,

Z,2 BASES DE ESTUDIO

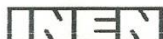
Norma centroamericana ICAITI 33 010 h2, *Bebidas Alcohólicas destiladas, Determinación del grado alcohólico*, Instituto Centroamericano de Investigación y Tecnología Industrial, Guatemala, 1979,

Norma colombiana ICONTEC 74 Primera revisión, *Licores, Determinación del grado alcohólico volumétrico*, Instituto Colombiano de Normas Técnicas, Bogotá, 1978,

Norma peruana ITINTEC 210,011, *Bebidas alcohólicas, Método usual para determinar el grado alcohólico volumétrico*, Instituto de Investigación Tecnológica Industrial y de Normas Técnicas, Lima, 1967,

Norma 2

CDU: 663.5



AL 04.02-302

Norma Técnica
Ecuatoriana

**BEBIDAS ALCOHOLICAS
DETERMINACION DE LA ACIDEZ**

INEN 341
1978-03

1. OBJETO

1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar la acidez en bebidas alcohólicas destiladas.

2. ALCANCE

2.1 Esta norma establece el método para determinar la acidez total, la acidez fija y la acidez volátil.

3. DEFINICIONES

3.1 *Acidez total.* Es la suma de los ácidos valorables obtenida cuando se lleva la bebida alcohólica a neutralidad (pH: 7), por adición de una solución alcalina.

3.2 *Acidez volátil.* Es la suma de los ácidos volátiles valorables por neutralización de la bebida alcohólica, usando una solución alcalina.

3.3 *Acidez fija.* Es la suma de los ácidos fijos valorables por neutralización de la bebida alcohólica, usando una solución alcalina.

4. RESUMEN

4.1 Determinar la acidez total y la acidez fija mediante titulación con hidróxido de sodio y, por diferencia, establecer el valor de la acidez volátil.

5. INSTRUMENTAL

5.1 *Matraz Erlenmeyer*, de 500 cm³.

5.2 *Crisol de platino*, o de porcelana, de 50 cm³.

5.3 *Baño de vapor.*

5.4 *Estufa*, con regulador de temperatura.

5.5 *Bureta*, de 10 cm³ con graduación de 0,05 cm³.

5.6 *Pipeta volumétrica*, de 25 cm³.

6. REACTIVOS

- 6.1 Solución 0,1 N de hidróxido de sodio, debidamente valorada.
- 6.2 Solución indicador de fenolftaleína, solución alcohólica al 1%.
- 6.3 Alcohol neutro.
- 6.4 Agua destilada.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra.

7.2 Determinación de la acidez total.

7.2.1 Colocar 250 cm³ de agua destilada, recientemente hervida y neutralizada, en un matraz Erlenmeyer de 500 cm³ y añadir 25 cm³ de muestra y 5 gotas de la solución de fenolftaleína; proceder a titular, utilizando la bureta, con la solución 0,1 N de hidróxido de sodio.

7.3 Determinación de la acidez fija.

7.3.1 Evaporar a sequedad 25 cm³ de muestra contenidos en un crisol de platino o de porcelana, sobre un baño de vapor.

7.3.2 Colocar el crisol y su contenido en la estufa, a 100°C, durante 30 min.

7.3.3 Disolver y transferir 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.

7.3.4 Adicionar 5 gotas de solución de fenolftaleína y proceder a titular, utilizando la bureta, con la solución 0,1 N de hidróxido de sodio.

8. CALCULOS

8.1 La acidez total en bebidas alcohólicas destiladas se determina utilizando la ecuación siguiente:

$$AT = 2,4 \frac{V_1}{G}$$

Siendo:

AT = acidez total, expresada como ácido acético, en gramos por 100 cm³ de alcohol anhidro.

V₁ = volumen de solución 0,1 N de hidróxido de sodio usado en la titulación, en centímetros cúbicos (ver 7.2.1).

G = grado alcohólico de la muestra (ver INEN 340).

8.2 La acidez fija se determina utilizando la ecuación siguiente:

$$AF = 2,4 \frac{V_2}{G}$$

Siendo:

AF = acidez fija, expresada como ácido acético, en gramos por 100 cm³ de alcohol anhidro.

V₂ = volumen de solución 0,1 N de hidróxido de sodio usado en la titulación, en centímetros cúbicos (ver 7.3.4).

G = grado alcohólico de la muestra (ver INEN 340).

8.3 La acidez volátil se determina utilizando la ecuación siguiente:

$$AV = AT - AF$$

Siendo:

AV = acidez volátil.

AT = acidez total.

AF = acidez fija.

9. ERRORES DE METODO

9.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 1%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

10. INFORME DE RESULTADO

10.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

10.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

10.3 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

Norma 3



CDU: 663.5

AL 04.02-308

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	BEBIDAS ALCOHOLICAS DETERMINACION DEL METANOL	INEN 347 1978-03
1. OBJ ETO 1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de metanol en bebidas alcohólicas destiladas. 2. RESUMEN 2.1 Determinar espectrofotométricamente el contenido de metanol en bebidas alcohólicas, usando ácido cromotrópico. 3. INSTRUMENTAL 3.1 Aparato para destilación (ver figura 1), compuesto por: <ul style="list-style-type: none">a) matraz de destilación, con fondo redondo y de 1 000 cm³ de capacidadb) malla de asbestoc) fuente eléctrica de calentamiento, con regulador de temperatura,d) tubo de vidrio delgado, de 6 mm de diámetro interno aproximadamente y de 30 mm x 300 mm x 150 mm, dimensiones:e) refrigerante de Liebig, de longitud igual o mayor a 400 mm,f) tubo de vidrio adecuado para dirigir el destilado al recipiente colector,g) matraz volumétrico de 250 cm³h) baño de agua, con hielo, en el que debe sumergirse el matraz volumétrico. 3.2 <i>Espectrofotómetro</i> 3.3 <i>Pipeta volumétrica, de 1 y 2 cm³</i> 3.4 <i>Matraz volumétrico, de 50 cm³ y de 250 cm³</i> 3.5 Baño de agua, con temperatura constante en 15 ± 0,5 °C, de profundidad igual o superior a 30 cm. 3.6 <i>Termómetro, graduado en décimas de grado Celsius (°C).</i> 4. REACTIVOS 4.1 <i>Solución de permanganato de potasio.</i> Disolver 3,0 g de permanganato de potasio y 15 cm ³ de ácido fosfórico, en 100 cm ³ de agua destilada. La solución debe prepararse mensualmente. 4.2 <i>Solución de ácido cromotrópico,</i> Solución acuosa al 5% que puede prepararse con el ácido o la sal sódica, semanalmente. Debe filtrarse si no es clara. Para purificación del ácido cromotrópico, ver Anexo A.		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN – Casilla 17-01-3999 – Baquerizo Moreno E8-29 y Almagro – Quito-Ecuador – Prohibida la reproducción

4.3 Bisulfito de sodio, seco.

4.4 Acido su sulfúrico, al 98 %, reactivo para análisis.

4.5 Alcohol etílico absoluto, reactivo para análisis.

4.6 Solución patrón efe metanol. Debe contener 0,025 % en volumen de metanol en alcohol etílico al 5,5%.

4.7 Agua destilada.

4.8 Alcohol metílico

5. REPARACION DE LA MUESTRA

5.1 Lavar cuidadosamente el equipo para destilación con agua destilada y proceder a armarlo.

5.2 Enjuagar el matraz con una porción de la muestra de bebida alcohólica y luego llenarlo con la muestra, hasta sobrepasar la marca de 250 cm³; tapar el matraz.

5.3 Colocar el matraz en el baño de agua a temperatura constante de 15° ± 0,5° C, durante 20 min, y retirar el exceso de muestra que sobrepasa la marca utilizando una pipeta, hasta obtener el volumen exacto de 250 cm³.

5.4 Transferir el contenido al matraz del aparato de destilación y lavar con tres porciones de 10 cm³ de agua destilada, recogiendo el agua de lavado en el mismo matraz del aparato de destilación. Añadir núcleos de ebullición.

5.5 Destilar lentamente la muestra recogiendo el condensado en un matraz volumétrico de 250 cm³, al que se ha añadido 10 cm³ de agua destilada, hasta que se haya recogido 220 cm³ aproximadamente.

5.6 Colocar el matraz en un baño de agua a temperatura constante de 15° ± 0,5° C, durante 20 min, y luego añadir cuidadosamente agua destilada a 15°C, hasta completar el volumen de 250 cm³ homogeneizar.

5.7 Diluir o ajustar la muestra a una concentración alcohólica comprendida entre 5 y 6%.

5.8 Si el contenido de metanol en la muestra es superior a 0,05%, diluir con 5,5% de alcohol etílico.

5.9 Si el contenido de metanol en la muestra es inferior a 0,05%, colocar 200 cm³ de muestra en el destilador de fraccionamiento y destilar durante 15 min con una razón de reflujo alta (de por lo menos 20:1), recogiendo 10 cm³ de destilado; llevar a volumen de 160 cm³ con agua destilada.

6. PROCEDIMIENTO

6.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

6.2 Colocar 2 cm³ de solución de permanganato de potasio en un matraz volumétrico de 50 cm³ y enfriar en un baño de agua con hielo.

6.3 Añadir 1 cm³ de la muestra preparada y dejar en reposo, dentro del baño helado, durante 30 min.

6.4 Decolorar con una pequeña porción de bisulfito de sodio seco y adicionar 1 cm³ de la solución de ácido cromotrópico.

6.5 Añadir 15 cm³ de ácido sulfúrico, lentamente y con agitación; luego, colocar en un baño de agua caliente (60° a 75°C) durante 15 min; enfriar.

6.6 Adicionar agua destilada hasta tener aproximadamente 50 cm³; mezclar y llevar a volumen con agua destilada a temperatura ambiente.

6.7 Determinar la absorbancia (A) a 575 mm, con respecto a una referencia de alcohol etílico al 5,5%, tratado similarmente.

6.8 Tratar la solución patrón de metanol en igual forma y determinar la absorbancia (A₁).

7. CÁLCULOS

7.1 El contenido del metanol en bebidas alcohólicas se determina mediante la ecuación siguiente:

$$M = 0,025 \frac{A}{A_1} \times f$$

Siendo:

- M = contenido de metanol en la muestra, en porcentaje de volumen.
- A = absorbancia correspondiente a la muestra.
- A₁ = absorbancia correspondiente a la solución patrón de metanol.
- f = factor de dilución de la muestra.

9. ERRORES DE MÉTODO

9.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 2%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

10. INFORME DE RESULTADOS

10.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

10.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

10.3 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

6.2 Colocar 2 cm³ de solución de permanganato de potasio en un matraz volumétrico de 50 cm³ y enfriar en un baño de agua con hielo.

6.3 Añadir 1 cm³ de la muestra preparada y dejar en reposo, dentro del baño helado, durante 30 min.

6.4 Decolorar con una pequeña porción de bisulfito de sodio seco y adicionar 1 cm³ de la solución de ácido cromotrópico.

6.5 Añadir 15 cm³ de ácido sulfúrico, lentamente y con agitación; luego, colocar en un baño de agua caliente (60° a 75°C) durante 15 min; enfriar.

6.6 Adicionar agua destilada hasta tener aproximadamente 50 cm³; mezclar y llevar a volumen con agua destilada a temperatura ambiente.

6.7 Determinar la absorbancia (A) a 575 mm, con respecto a una referencia de alcohol etílico al 5,5%, tratado simillarmente.

6.8 Tratar la solución patrón de metanol en igual forma y determinar la absorbancia (A₁).

7. CÁLCULOS

7.1 El contenido del metanol en bebidas alcohólicas se determina mediante la ecuación siguiente:

$$M = 0,025 \frac{A}{A_1} \times f$$

Siendo:

- M = contenido de metanol en la muestra, en porcentaje de volumen.
- A = absorbancia correspondiente a la muestra.
- A₁ = absorbancia correspondiente a la solución patrón de metanol.
- f = factor de dilución de la muestra.

9. ERRORES DE MÉTODO

9.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 2%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

10. INFORME DE RESULTADOS

10.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

10.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

10.3 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

ANEXO A**PURIFICACIÓN DEL ACIDO CROMOTROPICO**

A.1 Si la absorbancia de un ensayo en blanco es superior a 0,05, debe purificarse el reactivo en la forma indicada a continuación.

A.2 Disolver 10 g de ácido cromotrópico o su sal en 25 cm³ de agua destilada; deben agregarse 2 cm³ de ácido sulfúrico a la solución acuosa de la sal para obtener ácido libre.

A.3 Agregar 50 cm³ de metanol, calentar hasta el inicio de la ebullición y filtrar

A.4 Añadir 100 cm³ de isopropanol para precipitar el ácido cromotrópico libre.

A.5 Puede añadirse más isopropanol para aumentar el rendimiento en la producción del ácido purificado.

Norma 4



NTE INEN 362

1992-07

**Norma Técnica
Ecuatoriana
Obligatoria**

**BEBIDAS ALCOHOLICAS.
AGUARDIENTE DE CAÑA RECTIFICADO
REQUISITOS**

**INEN 362
Cuarta revisión
1992-07**

1. OBJ ETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el aguardiente de caña rectificado, para ser considerado apto para el consumo humano.

2. DEFINICIONES

2.1 Aguardiente de caña rectificado. Es el producto obtenido mediante la fermentación alcohólica y destilación de jugos y otros derivados de la caña de azúcar, sometido a rectificación, de modo que conserve sus características organolépticas. También podrá denominarse "Aguardiente" o "Aguardiente de caña".

3. REQUISITOS

3.1 Debe ser transparente, incoloro o ambarino, con olor y sabor característicos del aguardiente de caña rectificado.

3.2 No se permite la adición de edulcorantes artificiales, colorantes diferentes al caramelo de sacarosa, esencias naturales o artificiales que modifiquen sus características organolépticas, ni bonificadores artificiales.

3.3 Debe cumplir con los requisitos establecidos en la tabla 1.

Tabla 1. Requisitos del aguardiente de caña rectificado.

REQUISITOS	UNIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	MÉTODO DE ENSAYO
Grado alcohólico a 15° C	°GL			INEN 340
a) a nivel de productor		85	-	
b) a nivel de consumidor		30	50	
Acidez total, como ácido acético	*	-	40	INEN 341
Esteres, como acetato de etilo	*	-	80	INEN 342
Aldehídos, como etanal	*	-	20	INEN 343
Furfural	*	-	1,5	INEN 344
Alcoholes superiores	*	-	150	INEN 345
Metanol	*	-	10	INEN 347
Congéneres	*	18	250	

* mg/100 cm³ de alcohol anhidro.

DESCRIPTORES: Bebidas espirituosas, alcoholes, aguardientes, licores, fermentación, destilación, maceración, requisitos.

3.4 El agua utilizada para hidratar el producto hasta los niveles establecidos en la tabla 1 debe ser potable, según Norma INEN 1108. También podrá ser destilada, desionizada o desmineralizada.

4. INSPECCIÓN

4.1 El muestreo debe realizarse de acuerdo a la Norma INEN 339

5. ENVASADO Y ROTULADO

5.1 El aguardiente, para consumo final, debe envasarse cumpliendo los requisitos establecidos en la Norma correspondiente, de tal forma que se garantice su calidad e inviolabilidad.

5.2 El aguardiente, como producto de consumo final, debe tener impreso, con caracteres legibles e indelebles en el panel principal de la etiqueta, la denominación "Aguardiente", "Aguardiente de caña" o "Aguardiente de caña rectificado", Indistintamente, además de todos los requisitos estipulados en la Norma INEN 1 933.

5.3 El envasado y comercialización del aguardiente de caña rectificado, para consumo final, se someterá a las Normas y Regulaciones dictadas por el INEN y las leyes pertinentes.

APÉNDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

- INEN 339 *Bebidas alcohólicas. Muestreo.*
- INEN 340 *Bebidas alcohólicas. Determinación del grado alcohólico.*
- INEN 341 *Bebidas alcohólicas. Determinación de la acidez.*
- INEN 342 *Bebidas alcohólicas. Determinación de ésteres.*
- INEN 343 *Bebidas alcohólicas. Determinación de aldehídos.*
- INEN 344 *Bebidas alcohólicas. Determinación de furfural.*
- INEN 345 *Bebidas alcohólicas. Determinación de alcoholes superiores.*
- INEN 337 *Bebidas alcohólicas. Determinación de metanol*
- INEN 1108 *Agua potable. Requisitos.*
- INEN 1933 *Bebidas alcohólicas. Rotulado. Requisitos.*

Z.2 BASES DE ESTUDIO

Norma Cubana 83-0. *Aguardiente. Especificaciones de calidad.* Comité Estatal de Normalización. La Habana, 1984.

Norma ICONTEC 410. *Bebidas alcohólicas. Aguardiente de caña. Primera revisión.* Instituto Colombiano de Normas Técnicas. Bogotá, 1976.

Código Latinoamericano de Alimentos. *Bebidas alcohólicas y licores. Segunda edición.* Buenos Aires, 1964

Anexo 9

Glosario de términos técnicos

Ácido.- Compuesto químico que, cuando se disuelve en agua, produce una solución (catión hidronio) mayor que el agua pura, esto es, un pH menor que 7.

Alambique. Aparato utilizado para destilación de líquidos mediante un proceso de evaporación por calentamiento y posterior condensación por enfriamiento.

Alobuminoides.- Sustancia que, como ciertas proteínas, presenta en disolución el aspecto y las propiedades de la clara del huevo, de las gelatinas o de la cola de pescado.

Alcohol.- En química orgánica, el alcohol es una clase de compuestos.

Cotiledón.- Hoja que forma parte del embrión de las semillas.

Destilación.- Operación de separar, mediante vaporización y condensación, los diferentes componentes líquidos, sólidos disueltos en líquidos o gases licuados de una mezcla.

Fermentación.- Es un proceso bioquímico complejo, activados por los microorganismos y las enzimas que se encuentran en la pulpa.

Grados Brix.- Los grados Brix (símbolo °Bx) miden el cociente total de sacarosa disuelta en un líquido.

Grados Gay Lussac.- Los grados Gay Lussac es la medida de alcohol contenida en volumen.

Licor.- Un licor es una bebida alcohólica dulce (o seca), a menudo con sabor a frutas, hierbas, o especias, y algunas veces con sabor a crema.

Metanol.- Es el alcohol más sencillo. A temperatura ambiente se presenta como un líquido ligero, incoloro, inflamable y tóxico que se emplea como anticongelante, disolvente y combustible.

Mucílago.- Sustancia viscosa que se halla en ciertas partes de algunas planta.

pH.- El pH (potencial de hidrógeno) es una medida de la acidez o alcalinidad de una disolución.

Pulpa.- La pulpa es un tejido celular **vegetal** que tiene como objeto mejorar dispersión de las semillas.

Teobromina.- La teobromina es un alcaloide de la familia de las metilxantinas, familia que incluye también a la teofilina y la cafeína.

Toxicidad.- La toxicidad es una medida usada para medir el grado tóxico o venenoso de algunos elementos.