



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCIÓN
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Proyecto de Investigación
previo a la obtención del
título de Ingeniero
Agroindustrial

Proyecto de Investigación

**“Aplicación de mucílago de cacao como fuente de azúcares en el
proceso fermentativo del *soby* (*Symbiotic Culture Of Bacteria and
Yeast*) para obtener una bebida fermentada”**

Autor

Morales Moreira Ariel Fernando

Director del Proyecto de Investigación

Ing. MSc. José Villarroel Bastidas

Quevedo - Los Ríos – Ecuador

2022



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Morales Moreira Ariel Fernando**, declaro que la investigación aquí descrita es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este documento, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Morales Moreira Ariel Fernando

C.I. 1205292525



CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

El suscrito, **Ing. José Vicente Villarroel Bastidas MSc.**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica que el estudiante **Morales Moreira Ariel Fernando**, realizó el Proyecto de Investigación de grado titulado “**Aplicación de mucilago de cacao como fuente de azúcares en el proceso fermentativo del Scoby (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast) para obtener una bebida fermentada**”, previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, bajo mi dirección, habiendo cumplido con las disposiciones reglamentarias establecidas para el efecto.

José Vicente
Villarroel Bastidas

Firmado digitalmente por José
Vicente Villarroel Bastidas
Fecha: 2022.05.25 19:36:33
-05'00'

Ing. José Vicente Villarroel Bastidas Msc.
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO

El suscrito, Ing. José Villarroel Bastidas, MSc., mediante el presente cumpla en presentar a usted, el informe del proyecto de investigación cuyo tema es “**Aplicación de mucílago de cacao como fuente de azúcares en el proceso fermentativo del scoby (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast) para obtener una bebida fermentada**”, presentado por el estudiante MORALES MOREIRA ARIEL FERNANDO egresado de la carrera de Ingeniería Agroindustrial, que fue realizado bajo dirección según resolución del Consejo Académico de la Facultad de Ciencias de la Industria y Producción, que se ha desarrollado de acuerdo al Reglamento de la Unidad de Titulación Especial de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo y cumple con el requerimiento de análisis de URKUND el cual avala los niveles de originalidad en un 94% y similitud 6%, de trabajo investigativo.

URKUND

Dokument	Aplicación de mucílago de cacao como fuente de azúcares en el proceso fermentativo del Scoby (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast) para obtener una bebida fermentada.docx (D138116041)
Inskickat	2022-05-26 07:44 (-05:00)
Inskickad av	José Villarroel (jvillarroel@uteq.edu.ec)
Mottagare	jvillarroel.uteq@analysis.urkund.com
Meddelande	Visa hela meddelandet

6% av det här c:a 29 sidor stora dokumentet består av text som också förekommer i 18 st källor.

**José Vicente
Villarroel Bastidas**

Firmado digitalmente por José
Vicente Villarroel Bastidas
Fecha: 2022.05.29 16:05:04-
05'00'

Ing. José Villarroel Bastidas, MSc.
DIRECTOR DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN



UNIVERSIDAD TECNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INDUSTRIA Y PRODUCCIÓN
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Título:

“Aplicación de mucílago de cacao como fuente de azúcares en el proceso fermentativo del scoby (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast) para obtener una bebida fermentada”

Presentado al Consejo Directivo como requisito previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial.

Aprobado por:

AZUCENA
ELIZABETH
BERNAL
GUTIERREZ

Digitally signed by
AZUCENA ELIZABETH
BERNAL GUTIERREZ
Date: 2022.06.25
22:47:09 -05'00'

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Azucena Bernal Gutiérrez, MSc.



Firmado electrónicamente por:
FERNANDA
GERMANIA TIRIRA
CHULDE

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Fernanda Tirira Chulde,
MSc.



Firmado electrónicamente por:
ROBERT WILLIAM
MOREIRA MACIAS

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

Ing. Robert Moreira Macias,
MSc.

QUEVEDO - LOS RÍOS - ECUADOR

2022

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecer a Dios, por darme las fuerzas necesarias para siempre seguir el camino correcto, por darme sabiduría, y por poner las pruebas necesarias en mi vida, las cuales me ayudarán a ser un mejor profesional en el futuro. Agradecer a mis Padres, Lanjer y Silvia, por siempre brindarme todo su apoyo de manera incondicional, por darme un techo, el pan diario, y el subsidio para afrontar mi carrera estudiantil, a ellos les debo todo lo que soy ahora. A mis hermanas, Diana y Adriana por todos sus consejos y enseñanzas que me supieron compartir a lo largo de este camino y de mi vida, fueron un ejemplo a seguir y lo seguirán siendo. A mi novia Brigitte Villa quien forma parte de mi vida y de este gran logro también, le agradezco por brindarme siempre su compañía y por siempre ser un apoyo incondicional en mi vida.

A mi tutor Ing. José Villarroel Bastidas, gracias por su guía tan profesional, sus consejos y todas sus enseñanzas, por siempre estar pendiente en todo momento, a mis compañeros de clase, y maestros que, a lo largo de esta carrera profesional, fueron parte de todos los momentos vividos, buenos, malos, por todo lo ocurrido porque de todo se aprende.

Al personal a cargo de los laboratorios de la finca experimental “La María”, ingenieros; Lourdes, Ángel, Antonio, Carlos; por siempre estar pendientes y tener la paciencia suficiente para guiarme en todos los análisis que realizamos dentro de las instalaciones.

A mis amigos, Sofía, Ariana, Jackson, Kevin, Francisco, Antonio, Jennifer, Edison, Dayana, por demostrarme que la amistad sincera y sin interés si existe, y por ser un apoyo incondicional entre todos y para todos.

Ariel Fernando Morales Moreira

DEDICATORIA

Le dedico este logro en especial a Dios y a mi familia por siempre haber estado al pendiente de mí, por saber entenderme y por apoyarme incondicionalmente. A mi novia por siempre acompañarme en cada paso que doy y por siempre estar a mi lado alentándome y convenciéndome de lograr todas mis metas.

Ariel Fernando Morales Moreira

RESUMEN

El mucílago de cacao es una fuente extraordinaria para realizar procesos de fermentación, debido a que en su composición se encuentran mayoritariamente azúcares, levaduras y minerales. En el presente proyecto fue utilizado como base para la elaboración de una bebida fermentada en sustitución del azúcar normal, así se demostrará un uso opcional para este tipo de producto que en ocasiones es considerado como un simple desperdicio del cacao, de esta forma se le da un valor agregado y se potencia su uso. El objetivo principal de la investigación fue evaluar la aplicación de mucílago de cacao en concentraciones de 15, 20 y 30%, como fuente de azúcares en el proceso fermentativo del scoby (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast) para obtener una bebida fermentada a base de té negro y verde. Se aplicó un diseño estadístico AxB para comparar las medias de los tratamientos, se utilizaron los programas estadísticos INFOSTAT para realizar los análisis de varianza, y STATGRAPHICS para comparar las diferencias de las medias mediante la prueba de significación de TUKEY.

Se realizaron análisis físicos y químicos a la bebida fermentada, además de análisis microbiológicos para detectar presencia de microorganismos, los resultados de estos fueron positivos al no detectarse presencia de microorganismos, lo que indica que el producto cumple con las normas establecidas, de los tratamientos estudiados el que presento mejores características tanto en los análisis y en cuanto a la aceptabilidad medida por medio de una catación, fue a₁ b₁ = (Concentración al 20%) y (té negro).

Palabras claves: Mucilago, Fermentación, Microorganismos, Scoby, Kombucha.

ABSTRACT

Cocoa mucilage is an extraordinary source for fermentation processes, since its composition contains mostly sugars, yeasts and minerals. In the present project, it was used as a base for the elaboration of a fermented beverage in substitution of normal sugar, thus demonstrating an optional use for this type of product that is sometimes considered as a simple waste of cocoa, thus giving it an added value and enhancing its use. The main objective of the research was to evaluate the application of cocoa mucilage in concentrations of 15, 20 and 30%, as a source of sugars in the fermentation process of scoby (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast) to obtain a fermented beverage based on black and green tea. An AxB statistical design was applied to compare the means of the treatments, INFOSTAT statistical programs were used to perform the analysis of variance, and STATGRAPHICS was used to compare the differences of the means by means of the TUKEY significance test.

Physical and chemical analyses were carried out on the fermented beverage, as well as microbiological analyses to detect the presence of microorganisms. The results of these analyses were positive, as no microorganisms were detected, which indicates that the product complies with the established standards, of the treatments studied, the one that presented the best characteristics both in the analyses and in terms of acceptability measured by tasting was a1 b1 = (20% concentration) and (black tea).

Key words: Mucilage, Fermentation, Microorganisms, Scoby, Kombucha.

CÓDIGO DUBLÍN

Título:	“Aplicación de mucilago de cacao como fuente de azúcares en el proceso fermentativo del Scoby (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast) para obtener una bebida fermentada”			
Autor:	Morales Moreira Ariel Fernando			
Palabras clave:	Mucilago	Fermentación	Microrganismos	Scoby
Editorial:	Quevedo: Universidad Técnica Estatal de Quevedo, 2022			
Resumen:	<p>El mucílago de cacao es una fuente extraordinaria para realizar procesos de fermentación, debido a que en su composición se encuentran mayoritariamente azúcares, levaduras y minerales. En el presente proyecto fue utilizado como base para la elaboración de una bebida fermentada en sustitución del azúcar normal, así se demostrará un uso opcional para este tipo de producto que en ocasiones es considerado como un simple desperdicio del cacao, de esta forma se le da un valor agregado y se potencia su uso. El objetivo principal de la investigación fue evaluar la aplicación de mucílago de cacao en concentraciones de 15, 20 y 30%, como fuente de azúcares en el proceso fermentativo del scoby (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast) para obtener una bebida fermentada a base de té negro y verde. Se aplicó un diseño estadístico AxB para comparar las medias de los tratamientos, se utilizaron los programas estadísticos INFOSTAT para realizar los análisis de varianza, y STATGRAPHICS para comparar las diferencias de las medias mediante la prueba de significación de TUKEY.</p> <p>Se realizaron análisis físicos y químicos a la bebida fermentada, además de análisis microbiológicos para detectar presencia de microorganismos, los resultados de estos fueron positivos al no detectarse presencia de microorganismos, lo que indica que el producto cumple con las normas establecidas, de los tratamientos estudiados el que presentó mejores características tanto en los análisis y en cuanto a la aceptabilidad medida por medio de una catación, fue a1 b1 = (Concentración al 20%) y (té negro).</p>			
Abstract:	<p>Cocoa mucilage is an extraordinary source for fermentation processes, since its composition contains mostly sugars, yeasts and minerals. In the present project, it was used as a base for the elaboration of a fermented beverage in substitution of normal sugar, thus demonstrating an optional use for this type of product that is sometimes considered as a simple waste of cocoa, thus giving it an added value and enhancing its use. The main objective of the research was to evaluate the application of cocoa mucilage in concentrations of 15, 20 and 30%, as a source of sugars in the fermentation process of scoby (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast) to obtain a fermented beverage based on black and green tea. An AxB statistical design was applied to compare the means of the treatments, INFOSTAT statistical programs were used to perform the analysis of variance, and STATGRAPHICS was used to compare the differences of the means by means of the TUKEY significance test.</p> <p>Physical and chemical analyses were carried out on the fermented beverage, as well as microbiological analyses to detect the presence of microorganisms. The results of these analyses were positive, as no microorganisms were detected, which indicates that the product complies with the established standards, of the treatments studied, the one that presented the best characteristics both in the analyses and in terms of acceptability measured by tasting was a1 b1 = (20% concentration) and (black tea).</p>			
Descripción:	114 hojas: dimensiones, 29x21cm + CD 6162			
URI:	(en blanco hasta cuando se dispongan los repositorios)			

Índice

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	ii
CERTIFICACIÓN DE CULMINACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN	iii
CERTIFICADO DEL REPORTE DE LA HERRAMIENTA DE PREVENCIÓN DE COINCIDENCIA Y/O PLAGIO ACADÉMICO	iv
APROBACIÓN DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN POR PARTE DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL	v
AGRADECIMIENTO	vi
DEDICATORIA	vii
RESUMEN.....	viii
ABSTRACT.....	ix
CÓDIGO DUBLÍN.....	x
INTRODUCCIÓN.....	7
I. CAPÍTULO.....	9
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN	9
1.1. Problema de investigación.	10
1.1.1. Planteamiento del problema.	10
Diagnóstico.....	10
Pronóstico.	10
1.1.2. Formulación del problema.....	11
1.1.3. Sistematización del problema.	11
1.2. Objetivos.	11
1.2.1. Objetivo General.	11
1.2.2. Objetivos Específicos.....	12
1.3. Justificación.	12
1.4. Hipótesis.....	13
1.4.1. Hipótesis Alternativa.....	13
1.4.2. Hipótesis Nula.	13
II. CAPÍTULO.....	14
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN	14
2.1. Marco Conceptual.....	15
2.1.1. Origen y sinonimia del scoby.....	15
2.1.2. Composición del scoby.	15
2.1.3. Mucílago.....	16
2.1.4. Composición del mucílago.....	16
2.1.5. Levaduras presentes en el mucílago.....	17

2.1.6.	Desperdicios del mucílago.....	17
2.1.7.	Aprovechamiento del mucílago.	17
2.1.8.	Kombucha.	18
2.1.9.	Composición de la Kombucha.	18
2.1.10.	Aprovechamiento de la Kombucha.	19
2.1.11.	Té Verde.	20
2.1.12.	Propiedades del Té Verde.	20
2.1.13.	Té Negro.	20
2.1.14.	Propiedades del Té negro.	21
2.1.15.	Composición química del té verde y té negro.	21
2.1.16.	Fermentación.	22
2.1.17.	Tipos de Fermentación.	22
2.2.	Marco Referencial.	23
2.2.1.	Análisis de los azúcares.	23
2.2.2.	Bebidas relacionadas con la fermentación del mucílago de cacao y scoby. ...	23
2.2.3.	Normas Vigentes para Bebidas Fermentadas alcohólicas.	24
III.	CAPÍTULO.....	27
3.1.	Localización.	28
3.2.	Tipos de Investigación.	28
3.2.1.	Investigación exploratoria.....	28
3.2.2.	Investigación descriptiva.....	28
3.2.3.	Investigación experimental.	28
3.3.	Métodos de investigación.	29
3.3.1.	Método inductivo – deductivo.....	29
3.3.2.	Métodos estadísticos.	29
3.3.3.	Método experimental.....	29
3.4.	Fuente de recopilación de información.	29
3.5.	Diseño de la investigación.	30
3.5.1.	Factores de estudio.	30
3.5.2.	Tratamientos de la investigación.	30
3.6.	Instrumentos de investigación.	31
3.7.	Análisis físico – químicos.	32
3.7.1.	Determinación de pH.....	32
3.7.2.	Determinación de la Turbidez.	32
3.7.3.	Determinación de Acidez.....	32
3.7.4.	Determinación de grados Brix (°Bx).	33

3.7.5.	Determinación de grados de Alcohol.....	33
3.7.6.	Determinación de Densidad.....	33
3.7.7.	Determinación de la absorbancia y transmitancia.....	34
3.7.8.	Determinación de la colorimetría.....	34
3.7.9.	Determinación de sedimentación.....	35
3.8.	Análisis microbiológicos.....	35
3.8.1.	Determinación de presencia de E. Coli y Salmonella.....	35
3.8.2.	Determinación de presencia de Levaduras y Bacterias.....	35
3.9.	Recursos utilizados.....	36
3.9.1.	Recursos humanos.....	36
3.9.2.	Materia prima.....	36
3.9.3.	Equipos.....	36
3.9.4.	Reactivos y soluciones.....	36
3.9.5.	Materiales del laboratorio.....	37
3.9.6.	Materiales de oficina.....	37
3.10.	Diagrama de proceso de la elaboración de la bebida fermentada.....	38
3.11.1.	Descripción del proceso de elaboración de la bebida fermentada.....	39
IV.	CAPÍTULO.....	41
	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
4.1.	Resultados.....	42
4.1.1.	Resultados del análisis de varianza los análisis físico – químicos.....	42
4.1.2.	Resultados de las medias mediante las pruebas de significación de Tukey de los análisis físicos, químicos y microbiológicos.....	51
4.2.	Discusión de resultados.....	72
V.	CAPÍTULO.....	78
	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	78
5.1.	Conclusiones.....	79
5.2.	Recomendaciones.....	80
VI.	CAPÍTULO.....	81
	BIBLIOGRAFÍA.....	81
	Bibliografía.....	82
VII.	CAPÍTULO.....	90
	ANEXOS.....	90

Índice de Tablas

Tabla 1. Composición microbiológica del hongo Kombucha o scoby.....	16
Tabla 2. Composición química del té verde y té negro	21
Tabla 3. Requisitos físicos y químicos para los licores	25
Tabla 4. Descripción de los factores de estudio que intervienen en el proceso de elaboración de la bebida fermentada.	30
Tabla 5. Combinación de los tratamientos de la investigación	30
Tabla 6. Análisis efectuados en la investigación	31
Tabla 7. Análisis de varianza de pH.	42
Tabla 8. Análisis de varianza °Brix	42
Tabla 9. Análisis de varianza de Acidez.....	43
Tabla 10. Análisis de varianza de Densidad.....	44
Tabla 11. Análisis de varianza de Turbidez.....	44
Tabla 12. Análisis de varianza de Sedimentación.	45
Tabla 13. Análisis de varianza Colorimetría lxaxb (Color l).....	45
Tabla 14. Análisis de varianza Colorimetría lxaxb (Color a).....	46
Tabla 15. Análisis de varianza Colorimetría lxaxb (Color b).....	47
Tabla 16. Análisis de varianza Grados Alcohólicos.....	47
Tabla 17. Análisis de varianza de Absorbancia.....	48
Tabla 18. Análisis de varianza de Transmitancia	48
Tabla 19. Análisis de varianza de la Apariencia.....	49
Tabla 20. Análisis de varianza del Color.....	50
Tabla 21. Análisis de varianza del Aroma.....	50
Tabla 22. Análisis de varianza del Sabor.....	51
Tabla 23. Tabla de Medias del Factor “A” concentraciones de mucílago.....	69
Tabla 24. Tabla de Medias del Factor “B” tipos de té utilizados	70
Tabla 25. Tabla de Medias de la interacción AxB.....	71
Tabla 26. Análisis microbiológicos.	72

Índice de Gráficos

Gráfico 1. Proceso de elaboración de la bebida fermentada.....	38
Gráfico 2. Resultados de las diferencias de medias entre concentraciones de mucílago al 15, 20 y 30%, en la prueba de significación de Tukey de los análisis físicoquímicos (P<0.05). 1 pH de la bebida (DS), 2 °Brix (DS), 3 Acidez (DS), 4 Densidad (DS).	51
Gráfico 3. Resultados de las diferencias de medias entre concentraciones de mucílago al 15, 20 y 30%, en la prueba de significación de Tukey de los análisis físicoquímicos (P<0.05). 1 Turbidez, 2 Sedimentación, 3 Grados Alcohólicos (°GL) (DS), 4 Absorbancia.	53
Gráfico 4. Resultados de las diferencias de medias entre concentraciones de mucílago al 15, 20 y 30%, en la prueba de significación de Tukey de los análisis físicoquímicos (P<0.05). 1 Transmitancia (DS), 2 Apariencia, 3 Color (DS), 4 Aroma.	56
Gráfico 5. Resultados de las diferencias de medias entre concentraciones de mucílago al 15, 20 y 30%, en la prueba de significación de Tukey de los análisis físicoquímicos (P<0.05). 1 Sabor, 2 Colorimetría color L, 3 Colorimetría color A, 4 Colorimetría color B.	58
Gráfico 6. Resultados de las diferencias de medias entre las dos variedades de té utilizadas, en la prueba de significación de Tukey de los análisis físicoquímicos (P<0.05). 1 pH de la bebida (DS), 2 °Brix (DS), 3 Acidez (DS), 4 Densidad (DS)......	60
Gráfico 7. Resultados de las diferencias de medias entre concentraciones de mucílago al 15, 20 y 30%, en la prueba de significación de Tukey de los análisis físicoquímicos (P<0.05). 1 Turbidez (DS), 2 Sedimentación, 3 Grados Alcohólicos (°GL) (DS), 4 Absorbancia (DS).	62
Gráfico 8. Resultados de las diferencias de medias entre las variedades de té utilizadas, en la prueba de significación de Tukey de los análisis físicoquímicos (P<0.05). 1 Transmitancia (DS), 2 Apariencia, 3 Color, 4 Aroma.	64
Gráfico 9. Resultados de las diferencias de medias entre las variedades de té utilizadas en la prueba de significación de Tukey de los análisis físicoquímicos (P<0.05). 1 Sabor, 2 Colorimetría color L, 3 Colorimetría color A, 4 Colorimetría color B.	67

Índice de Anexos

Anexo 1. Diagrama de proceso de elaboración de la bebida fermentada tipo Kombucha.....	91
Anexo 2. Análisis de °Brix.....	92
Anexo 3. Análisis de pH.....	92
Anexo 4. Análisis de Densidad	93
Anexo 5. Análisis de la Acidez	93
Anexo 6. Análisis de Turbidez de la bebida fermentada.....	94
Anexo 7. Análisis de sedimentación	95
Anexo 8. Análisis de Absorbancia y Transmitancia	96
Anexo 9. Análisis microbiológicos de la bebida fermentada.....	97
Anexo 10. Producto final luego de realizar todos los análisis.....	99
Anexo 11. Prueba de aceptabilidad de la bebida.....	100
Anexo 12. NORMA INEN usada de referencia	102

INTRODUCCIÓN

El mucílago por su contenido de azúcares (10 a 15% de azúcar) permite efectuar fermentaciones en combinación con diferentes productos, además por estar disponible levaduras como las *Sacharomyces cerevisiae* que aceleran la oxidación de los azúcares generando la producción de etanol y de esta manera sirve como base para la presente investigación en la producción de una bebida fermentada en la cual se aplicará el mucílago de cacao a diferentes concentraciones.

El mucílago o pulpa de cacao es una sustancia viscosa, generalmente hialina que contienen las plantas de cacao. La fruta del cacao contiene de 30 a 50 semillas o almendras. El número, tamaño y forma de la semilla es una característica propia, son cuerpos aplanados elipsoidales de 2 a 4 cm de largo rodeada por una envoltura blancuzca y azucarada, está compuesta principalmente por parénquima [1].

El scoby, es una bio película de celulosa que contiene el cultivo simbiótico de bacterias y levaduras, es un subproducto de la fermentación del té de Kombucha, se están realizando varios estudios sobre el scoby para aprovechar todas las posibilidades de tratar esta celulosa como materia prima adecuada en campos como la tecnología alimentaria, la preparación de biomateriales, la industria textil y de la moda, la biotecnología ambiental [2].

Como componentes del scoby, mayoritariamente se han identificado a las levaduras *Schizosaccharomyces*, responsables del proceso de fermentación alcohólica, y a las bacterias *Acetobacterxylinum*, *Acetobacter xyliinoide* *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti* y *Acetobacter pasteurianus*, causantes de la acidificación, con predominio de *A. xylinum*, reclasificada actualmente como *Komagataeibacter xylinus* [3].

La bebida conocida como kombucha es una bebida tradicional preparada por el hombre que se da por acción de la fermentación por un consorcio de levaduras y bacterias, de una infusión de té a la que se le adiciona azúcar [4]. El uso del mucílago de cacao para el

proceso fermentativo del scoby tiene como finalidad sustituir al azúcar y las levaduras que son añadidas.

I. CAPÍTULO
CONTEXTUALIZACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Problema de investigación.

1.1.1. Planteamiento del problema.

Actualmente, los seres humanos buscan productos que posean componentes que ayuden a mantener en equilibrio la funcionalidad de los diferentes componentes del cuerpo humano para lo cual la ingesta de productos antioxidantes permite regular los procesos metabólicos y generen un sistema inmunológico para prevención de diferentes enfermedades [5].

Diagnóstico.

La kombucha, por medio de investigaciones en Rusia, Suecia y Alemania, fue presentada como una opción natural de desintoxicación del organismo; a más de brindar beneficios al sistema inmunológico y ayudar a sobrellevar enfermedades terminales como el cáncer [5].

Las levaduras que contiene la kombucha *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomycodes ludwigii*, *Kloeckera Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Torulasporea delbrueckii*, *Brettanomyces bruxellensis*, *Brettanomyces lambicus* y *Candida estella* pueden colonizar selectivamente zonas del tubo digestivo, lo que repercute positivamente sobre la microbiota. De este modo se consigue una digestión más eficiente al tiempo que se reduce el riesgo de desarrollar patologías inflamatorias asociadas a este órgano [6].

Se han atribuido numerosos beneficios para la salud atribuido al consumo de esta bebida, entre ellos: estimula el sistema inmunitario, ayuda a la digestión, protege contra el cáncer y las enfermedades cardiovasculares, previene las infecciones microbianas infecciones microbianas; también es conocida por sus propiedades hipoglucemiantes y antilipidémicas, y por sus actividades de eliminación de radicales libres [7].

Pronóstico.

Si no se buscan alternativas a productos que consumimos diariamente pero que con el pasar del tiempo pueden ser perjudiciales para nuestra salud, podría desencadenar en

problemas severos en un futuro cercano, debido a que la industrialización de ciertos alimentos trae consigo componentes que nuestro organismo naturalmente no puede sintetizar.

Es por eso por lo que es importante brindar nuevas alternativas para ayudar a controlar nuestro sistema inmunológico y si es posible potenciarlo aún más, lo cual no resulta tan fácil debido al alto estándar que deben cumplir los nuevos productos fermentados como bebidas alcohólicas, o bebidas alimenticias para entrar en el mercado nacional.

1.1.2. Formulación del problema.

¿Qué características físico químicas se obtendrán al sustituir el azúcar industrial con mucílago de cacao en el proceso fermentativo del scoby?

1.1.3. Sistematización del problema.

¿Cómo influye la adición del mucílago de cacao durante la fermentación del scoby?

¿Qué características sensoriales se obtendrán al aplicar el mucílago de cacao?

¿Qué cantidad de mucílago al 15, 20 y 30% será necesario para obtener una bebida tipo kombucha?

1.2. Objetivos.

1.2.1. Objetivo General.

Evaluar la aplicación de mucílago de cacao como fuente de azúcares en el proceso fermentativo del scoby (Symbiotic Culture Of Bacteria and Yeast) para obtener una bebida fermentada.

1.2.2. Objetivos Específicos.

Establecer qué porcentaje de mucílago de cacao (15, 20 o 30%) brinda las mejores características de la bebida fermentada tipo kombucha.

Analizar mediante la aceptabilidad del producto cuál de los dos tipos de té (té verde y té negro) a ser aplicados es mejor para la obtención de la bebida fermentada tipo kombucha.

1.3. Justificación.

El mucílago de cacao es muy rico en carbohidratos (11,49%) y tiene un pH bajo (3,79) lo que promueve el desarrollo de microorganismos como levaduras que son una parte esencial en el proceso posterior a la poscosecha, contribuyendo así a la gran cadena alimenticia del ser humano debido a que puede desempeñarse o utilizarse en la elaboración de alimentos en las áreas de panaderías, cervecerías y vinícolas.

En el presente proyecto se promueve el uso del mucílago de cacao en la producción de bebidas tipo kombucha como una nueva alternativa para el consumo, al momento de adicionar este componente del cacao en la preparación de una bebida fermentada se dará valor agregado con el uso del mucílago [8].

Se ha comprobado que la bebida a base de scoby contiene cuatro componentes principales para sus numerosas actividades biológicas: propiedades desintoxicantes, promoción de la inmunidad, protección contra los radicales libres y capacidades energizantes [9]. En la investigación se pretende obtener lo que es un producto con características energizantes que contienen una alta concentración de azúcares.

La elaboración de este producto en forma casera es muy sencilla a partir del scoby que se define como una colonia simbiota, o la mezcla de diferentes levaduras del género *Saccharomyces*, sus beneficios y propiedades medicinales hacen de este un producto

altamente recomendado, aporta mucho como energizante y en la mejora de la flora intestinal.

1.4. Hipótesis.

1.4.1. Hipótesis Alternativa.

Ha: La aplicación de mucílago de cacao como fuente de azúcares en el proceso fermentativo del scoby influye para la obtención de una bebida fermentada.

Ha: Las variedades de té utilizadas influyen en la obtención de una bebida fermentada.

Ha: La concentración del mucílago de cacao aplicada influye sobre las características organolépticas de la bebida fermentada.

1.4.2. Hipótesis Nula.

Ho: La aplicación de mucílago de cacao como fuente de azúcares en el proceso fermentativo del scoby no influye para la obtención de una bebida fermentada.

Ho: Las variedades de té utilizadas no influyen en la obtención de una bebida fermentada.

Ho: La concentración del mucílago de cacao aplicada influye sobre las características organolépticas de la bebida fermentada.

II. CAPÍTULO
FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Marco Conceptual.

2.1.1. Origen y sinonimia del scoby.

La palabra scoby proviene de las siglas en inglés Symbiotic Consortium Of Bacteria and Yeasts (cultivo simbiótico de bacterias y 19 levaduras), como el scoby es el responsable del sabor distintivo de la bebida cada lote de kombucha es único dado a que la composición microbiana es variante, sin embargo, investigaciones demostraron que ciertas bacterias y levaduras son abundantes en este proceso de fermentación [9].

El scoby, también conocido como “hongo scoby”, “hongo kombucha”, “hongo madre” o “simplemente kombucha”, realmente no pertenece al grupo de los hongos, se denomina así únicamente por su aspecto de moho flotante, pero en realidad es una colonia simbiótica de distintas especies de bacterias y levaduras que se presentan en forma de una medusa deforme o 38 un disco plano [10].

2.1.2. Composición del scoby.

El scoby se compone de varias bacterias del ácido acético (*Acetobacter xylinum*, *Acetobacter aceti* y *Gluconobacter oxydans*) y levaduras (*Saccharomyces sp*, *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, *Torulopsis sp*, *Pichia spp.*, *Brettanomyces sp.* y *Zygosaccharomyces bailii*), también se han hallado varias bacterias del ácido láctico [11].

La composición microbiana del hongo kombucha o scoby ha sido estudiada en diferentes países, hasta ahora se ha reportado que este consorcio está conformado por bacterias acéticas, dentro de las que se encuentra *Acetobacter xylinum*, *Acetobacter xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *Acetobacter aceti* y *Acetobacter pasteurianus* y *Gluconobacter*, también han sido identificadas levaduras como *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomycodes ludwigii* [12].

Tabla 1. Composición microbiológica del hongo Kombucha o scoby

Bacterias	Levaduras
<i>Komagataeibacter xylinus</i>	<i>Brettanomyces</i>
(<i>Acetobacter xylinum</i> y <i>Gluconacetobacter xylinus</i>)	<i>Candida</i>
<i>Acetobacter aceti</i>	<i>Pichia</i>
<i>Acetobacter pasteurianus</i>	<i>Pichia membranaefaciens</i>
<i>Gluconobacter</i>	<i>Saccharomyces</i>
Bacterias ácido- lácticas(LAB)	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>subsp. Aceti</i>
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>subsp. cerevisiae</i>
	<i>Torula</i>
	<i>Zygosaccharomyces</i>

Fuente: [10].

2.1.3. Mucílago.

El mucílago es una sustancia de origen vegetal, la cual posee una reacción que puede ser ácida o neutra y tienen funciones diferentes cada una de ellas dependiendo del peso molecular superior y la planta en la que se encuentre [13].

Los mucílagos se suelen confundir con las gomas y pectinas, diferenciándose de estas solo en las propiedades físicas, mientras que las gomas y pectinas se hinchan en el agua para dar dispersiones coloides muy poco viscosas, que presentan actividad óptica y pueden ser hidrolizados y fermentadas, se forman en el interior de las plantas durante su crecimiento [14].

2.1.4. Composición del mucílago.

Las semillas de cacao están cubiertas de un mucílago que posee de 10 a 15 % de azúcar, 1 % de pectina y 1.5 % de ácido cítrico, parte de esta pulpa es necesaria para la producción de alcohol y ácido acético en la fermentación de las almendras, pero, entre el 5 a 7 % drena como exudado [6].

2.1.5. Levaduras presentes en el mucílago.

La fermentación anaeróbica inicial toma de 24 a 48 horas, una vez iniciado el proceso, varios géneros de levaduras, entre ellos: *Candida*, *Hanseniospora*, *Saccharomyces*, *Kloeckera*, *Pichia*, *Kluyveromyces* y otras salvajes presentes en el ambiente y en el mismo cacao como la microflora predominante, degradan los azúcares y otros carbohidratos más complejos del mucílago, produciendo principalmente alcohol y anhídrido carbónico como metabolitos, la micro flora crece exponencialmente, ya que la masa en un inicio esta aireada lo suficiente para que las levaduras se reproduzcan [15].

2.1.6. Desperdicios del mucílago.

En el caso del cacao, los reportes de producción según [16], representan solo el 10 % de lo que se deriva del cultivo de este fruto, y generan el 90 % en residuos como lo son la cáscara y el mucílago, a este último, comúnmente, no se le encuentra una utilidad eficiente, más que para ser utilizado como abono, lo cual no resulta viable debido a la lenta degradación del sustrato que, acumulado en grandes cantidades, afecta directamente la calidad del fruto y los resultados de la producción del cultivo [16].

Durante el procesamiento del cacao pueden surgir problemas que afecten el equilibrio del ambiente, pues requiere una considerable demanda de energía, agua y se generan residuos como es el caso del mucílago (baba) del cacao resultado del proceso de fermentación, que pueden convertirse en un problema ambiental cuando la disposición es inadecuada [17].

2.1.7. Aprovechamiento del mucílago.

Aunque la pulpa es necesaria para la fermentación, a menudo hay más de la necesaria, el exceso de esta, que tiene un delicioso sabor tropical, se lo utiliza para los siguientes productos: jalea de cacao, alcohol, nata y pulpa procesada, aproximadamente de 40 litros de mucílago se pueden obtener de 800 kilos de semillas frescas [1].

Los residuos de cacao son una fuente fundamental de antioxidantes naturales, las cuales previenen la aparición de enfermedades, además de que aportan nutricionalmente

macronutrientes y micronutrientes, algunos estudios han evaluado el uso de los residuos de cascarillas de este alimento y su efecto en el colón debido al aporte de fibra en pacientes con estreñimiento esto se debe al contenido de fibra dietética insoluble, mientras que el mucílago es buena fuente de fibra dietética soluble, ideal para uso de ingrediente directo en la formulación de alimentos ricos en fibra [18].

2.1.8. Kombucha.

La bebida conocida con el nombre de kombucha es una bebida tradicional preparada por la humanidad que se da por medio de la fermentación por un consorcio de levaduras y bacterias, de una infusión de té a la que agregamos azúcar, la bebida resultante tiene el sabor de una infusión de té ligeramente dulce a ligeramente ácido y recibe el nombre de kombucha o té de kombucha [4].

La kombucha es un té funcional elaborado a través de un cultivo simbiótico de bacterias y levaduras (scooby), es aplicable a diversos sectores industriales debido a sus varias características destacables [19].

2.1.9. Composición de la Kombucha.

La composición química de la kombucha es variable tanto cuantitativa como cualitativamente, depende de varios factores, como el tiempo de fermentación, los sustratos utilizados en el té inicial y los microorganismos presentes en el inóculo, sin embargo, se ha comprobado que algunos componentes, como ácidos orgánicos, vitaminas, poli fenoles y aminoácidos, están presentes en la mayoría [20].

Los ensayos químicos de la bebida de kombucha según [21], han indicado la presencia de una variedad de compuestos, incluidos ácidos orgánicos, principalmente ácido acético, glucónico y glucurónico (GlcUA), L- láctico, málico, tartárico, malónico, oxálico, succínico, pirúvico y úsnico; azúcares (sacarosa, glucosa y fructosa), vitaminas solubles en agua (B1, B2, B6, B12, C), aminoácidos, aminos biogénicas, purinas, pigmentos, lípidos, proteínas, enzimas hidrolíticas, etanol, acético bacterias ácidas [21].

Bacterias del ácido láctico, dióxido de carbono, polifenoles, minerales (manganeso, hierro, níquel, cobre, zinc, plomo, cobalto, cromo y cadmio), aniones (fluoruro, cloruro, bromuro, yoduro, nitrato, fosfato y sulfato), Ácido D-sacárico-1,4-lactona (DSL) y productos metabólicos de levaduras y bacterias [21].

La bebida kombucha contiene levaduras osmofílicas y bacterias productoras de ácido acético que viven juntas de forma simbiótica, las levaduras, en particular, convierten el azúcar añadido en el té en ácidos orgánicos y etanol, y las bacterias del ácido acético utilizan etanol para producir fibra de celulosa durante el período de fermentación [22].

2.1.10. Aprovechamiento de la Kombucha.

Según [23] afirma que el consumo de Kombucha mejora la digestión, fortalece el sistema inmunológico, alivia la artritis, reduce la presión arterial, mantiene niveles saludables de colesterol y cura la úlcera péptica, el cáncer, el asma y la diabetes, también se supone que tiene propiedades hepatoprotectoras, ofrece protección contra microorganismos patógenos y alivia las hemorroides, promueve la pérdida de peso, desintoxica el cuerpo y promueve el bienestar general, entre muchas otras afirmaciones [23].

Según [24], los estudios de la kombucha demostraron sus propiedades antibacterianas, antioxidantes y anti diabéticas, así como su capacidad para reducir la concentración de colesterol, apoyar el sistema inmunológico y estimular la desintoxicación del hígado, las bebidas de kombucha también contienen minerales provenientes principalmente del té (potasio, manganeso, iones de flúor), vitaminas (E, K,B), aminoácidos (especialmente teanina, un derivado de la glutamina) [24].

Así como otros compuestos que se forman como resultado de numerosas reacciones que ocurren durante la fermentación del té, durante la oxidación de compuestos polifenólicos se forman catequinas, flavonoides y otros compuestos con beneficios para la salud del organismo [24].

2.1.11. Té Verde.

El té verde es una de las bebidas más antiguas del mundo, fue descubierto accidentalmente por un emperador hace 4.000 años, desde entonces, el té verde ha permanecido como bebida de preferencia en los países asiáticos (China, Japón e India), donde además de convertirse en un ritual social, se ha utilizado en las medicinas tradicionales de China e India como astringente, cardiotónico, estimulante del sistema nervioso central y diurético, entre otros usos [25].

El té verde proviene de la planta *Camellia sinensis*, es una de las bebidas más comunes del mundo, y muy usada en la cultura asiática; es un producto que contiene una gran cantidad de polifenoles y cafeína, aunque este último en una menor concentración, dentro de los polifenoles, existe una clasificación de todos los tipos en función de pertenecer al grupo de ácidos fenólicos o flavonoides (catequinas) [26].

2.1.12. Propiedades del Té Verde.

El té verde es una bebida que se produce a partir de la hoja fresca de la planta *Camellia sinensis*; y este se caracteriza por ser rico en compuestos fenólicos, catequinas y flavonoides, los cuales actúan como antioxidantes y tienen acción antidiabética, antiobesidad, antiinflamatoria, antibacteriana, antiviral y antimutagénica [27].

Por estas propiedades, el té verde puede ayudar a prevenir varios tipos de cáncer, el surgimiento de enfermedades crónicas y favorecer la pérdida de peso. Asimismo, también contiene cafeína, un compuesto estimulante que mejora la disposición física y mental [27].

2.1.13. Té Negro.

La planta *Camellia sinensis* da origen a lo que conocemos como té negro, té verde, té rojo, etc., el té negro es el más famoso en Occidente y su nombre se debe a que cuando aún no vertida el agua hirviendo sobre las hojas, éstas son de color negro, el té negro es más

oxidado que el té verde y blanco, posee un aroma más fuerte y contiene más teína que otros té con menores niveles de oxidación [28].

2.1.14. Propiedades del Té negro.

Antioxidante. - El té negro posee poli fenoles, se trata de sustancias con acción antioxidante que protegen al organismo frente a la acción nociva de los radicales libres, que debilitan el sistema de defensas y aceleran el proceso de envejecimiento, también se sabe que el consumo de antioxidantes ayuda a reducir el riesgo de enfermedades como las cardiovasculares, las degenerativas e incluso ciertos tipos de cáncer [29].

Astringente. - los taninos son componentes del té que le confieren su característico sabor amargo, poseen un efecto astringente, por lo que su consumo es beneficioso en caso de diarrea y de otros trastornos digestivos como la gastritis entre otros [29].

Contribuye a reducir el colesterol y colabora a reducir los niveles de azúcar en sangre, cuida de la salud cardiovascular; ayuda a mantener sanas las arterias y a controlar la presión arterial, fortalece el sistema inmunitario; el té negro protege el sistema inmunitario y ayuda a combatir infecciones, cuida de la salud bucal; el té negro por su contenido en flúor ayuda a prevenir caries y enfermedades bucales [30].

2.1.15. Composición química del té verde y té negro.

Tabla 2. Composición química del té verde y té negro

	Té verde		Té negro	
	Hoja	Infusión	Hoja	Infusión
Macronutrientes (g)				
Proteínas	24	0.1	20.6	0.2
Lípidos	4.6	0	2.5	0
Azúcares	35.2	0.1	32.1	0.1

Fibra	10.6	0	10.9	0
Cenizas (g)	5.4	0.1	5.2	0.1
Minerales (mg)				
Calcio	440	2	470	2
Fósforo	280	1	320	3
Hierro	20	0.1	17.4	0
Sodio	3	2	3	2
Potasio	2200	18	2000	16
Vitaminas				
Vitamina A (UI)	13000	0	900	0
Tiamina (mg)	0.35	0	0.1	0
Riboflavina (mg)	1.4	0.03	0.8	0.01
Niacina (mg)	4	0.1	10	0.2
Vitamina C (mg)	250	4	0	0
Cafeína (mg)	2.3	0.02	2.7	0.05

Fuente: [31].

2.1.16. Fermentación.

La fermentación es el proceso catabólico responsable, bajo condiciones de anaerobiosis (ausencia de oxígeno), de la degradación de la materia orgánica. Se clasifica atendiendo a la naturaleza del sustrato y productos finales (fermentación láctica, pútrida, acética) [32].

2.1.17. Tipos de Fermentación.

➤ Fermentación Alcohólica

La fermentación alcohólica es una biorreacción que permite degradar azúcares en alcohol y dióxido de carbono, las principales responsables de esta transformación son las levaduras, la *Saccharomyces cerevisiae*, es la especie de levadura usada con más

frecuencia. Por supuesto que existen investigaciones para producir alcohol con diferentes tipos de hongos y bacterias, pero la explotación a nivel industrial es mínima [33].

➤ **Fermentación Láctica**

Numerosos microorganismos fermentan la glucosa y otras hexosas a lactato en condiciones anaerobias, este proceso es llevado a cabo mediante una reacción catalizada por una deshidrogenasa láctica ligada a dinucleótido de nicotinamida adenina (NAD), en esta reacción se reduce el piruvato a lactato y no se forma gas [34].

➤ **Fermentación Acética**

De [35] se puede decir que la fermentación acética se aplica cuando se ha obtenido previamente el etanol por la fermentación alcohólica, lo que se obtiene de esta es ácido acético y agua, se lleva a cabo en presencia de oxígeno, lo que la convierte en un proceso aerobio [35].

2.2. Marco Referencial.

2.2.1. Análisis de los azúcares.

Los hidratos de carbono en las frutas se presentan principalmente en forma de azúcares (glucosa, fructosa y sacarosa), desde el punto de vista químico, estos son monosacáridos, la reacción de color para medir la concentración de carbohidratos solubles por espectrofotometría se basa en la utilización de un compuesto llamado antrona, que se disuelve en ácido sulfúrico concentrado, el medio ácido hidroliza el enlace glicosídico de los oligosacáridos y los monosacáridos resultantes reaccionan con la antrona produciendo un color verde – azulado [36].

2.2.2. Bebidas relacionadas con la fermentación del mucílago de cacao y scoby.

- ✓ **Optimización de una bebida a base del mucílago del cacao (*Theobroma cacao*), como aprovechamiento de uno de sus subproductos.**

Se ha desarrollado una bebida a base del néctar del mucílago de cacao, se utilizó este sub producto porque su desperdicio es masivo en el cual se aprovecha este sub producto del cacao en base a las vitaminas y energía que la bebida aporta a nuestro organismo, para esto, se trabajó con 5 formulaciones por duplicado, con el fin de obtener la fórmula final, para lo cual se realizó una evaluación sensorial de color, olor, sabor y viscosidad con 30 consumidores finales, de cuyos resultados se realizó un análisis estadístico a través de ANOVA y la prueba de Tukey, con lo cual se concluyó que las variables independientes del producto influyen significativamente en las características organolépticas evaluadas. La formulación final obtenida contiene 62.5% de pulpa, 37.5% de agua [37].

- ✓ **Nueva bebida análoga a la kombucha hecha de molle (*Schinus areira*), matico y cedrón: perfiles bioactivo y sensorial.**

El objetivo de la investigación fue elaborar una bebida análoga a la kombucha a partir de *Buddleja globosa* (matico), *Schinus molle L.* (molle) y *Aloysia citriodora* (cedrón), con el fin de determinar la mezcla óptima de estas hierbas, se prepararon 10 mezclas de las hierbas, más un control sin hierbas, en medios a base de agua y sacarosa (4 % v/v), trabajando tres repeticiones por mezcla, las cuales fueron inoculadas con un inóculo de scoby (Symbiotic Culture of Bacteria and Yeast), el cual en condiciones aerobias realizó el proceso fermentativo, periódicamente se evaluó la evolución de la acidez total, y tras la fermentación se determinó el contenido de fenoles totales y la capacidad antioxidante [3].

2.2.3. Normas Vigentes para Bebidas Fermentadas alcohólicas.

En el Ecuador no existen en si normativas para bebidas fermentadas, por eso se tomó las bebidas fermentadas alcohólicas como referencias.

Disposiciones generales

Las bebidas fermentadas destinada a la elaboración de alcohol, debe cumplir con lo establecido en la NTE INEN 1837, esta norma establece los requisitos para los licores considerados aptos para el consumo humano. [38].

Requisitos

El agua utilizada para la hidratación debe ser potable conforme a NTE INEN 1108, la misma que puede ser sometida a un proceso de tratamiento posterior.

Los licores deben tener un color, olor y sabor característicos de las materias primas utilizadas.

Los licores deben contener los niveles máximos permitidos de aditivos alimentarios conforme con NTE INEN-CODEX 192.

Los licores deben cumplir los requisitos físicos y químicos establecidos.

Tabla 3. Requisitos físicos y químicos para los licores

Requisitos	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Alcohol, fracción volumétrica	%	15	50	NTE INEN 340
Furfural	mg/100 cm ³ (*)		10	NTE INEN 2014
Metanol	mg/100 cm ³ (*)		10	NTE INEN 2014
Alcoholes superiores **	mg/100 cm ³ (*)		150	NTE INEN 2014
Azúcares totales:	g/L			NTE INEN 358
Licor seco		-	50	
Licor semiseco		51	100	
Licor dulce		101	250	
Licor crema o crema		251	-	
Licor escarchado		saturado	-	

* El volumen de 100 cm³ corresponde al alcohol absoluto.
** Alcoholes superiores comprenden: isopropanol, propanol, isobutanol, isoamillico, amillico.

Fuente: Norma Inen 1108.

Inspección

Muestreo

El muestreo se debe realizar de acuerdo con NTE INEN 339.

Aceptación y rechazo

Se acepta el lote muestreado de conformidad con NTE INEN 339 y cuyos resultados cumplan con los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechaza.

Rotulado

El rotulado debe realizarse de acuerdo con NTE INEN 1933.

**III. CAPÍTULO
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

3.1. Localización.

Los subproductos o materia prima utilizada para la elaboración de la bebida fermentada fueron: té verde y té negro, agua, Mucilago de cacao y scoby, el mucilago de cacao fue obtenido de la ciudad de Valencia en el recinto “La Experiencia”, el scoby fue obtenido de la misma ciudad Valencia, y el té de un supermercado de la misma ciudad.

El proceso de elaboración de la bebida fermentada se realizó en el laboratorio de bromatología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo de la finca experimental “La María” localizada en el Kilómetro 7 ½ de la vía Quevedo – El Empalme perteneciente a la provincia de Los Ríos.

Los análisis y las pruebas al producto se realizaron en los laboratorios de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo de la finca experimental “La María” ubicada en el Kilómetro 7 ½ vía Quevedo – El Empalme de la provincia de Los Ríos.

3.2. Tipos de Investigación.

3.2.1. Investigación exploratoria.

Se realizó una investigación exploratoria para obtener datos y bases para el trabajo, realizamos varios experimentos en base al producto original y diversas pruebas bajo las cuales nos basamos en el centro del trabajo principal.

3.2.2. Investigación descriptiva.

Este tipo de investigación sirvió para poder describir los factores de estudio que intervienen en nuestro tema principal, basándonos en la problemática y pudiendo llegar a una solución final.

3.2.3. Investigación experimental.

Este trabajo de investigación se realizó para probar los efectos de la intervención sobre los factores de estudio. Una vez que se obtuvieron todos los resultados, se los evaluó

aplicando programas estadísticos para sistematizar el Análisis de la Varianza (ANOVA) y, además, se efectuó la prueba de significación TUKEY. Este análisis estadístico se realizó con el programa STATGRAPHICS.

3.3. Métodos de investigación.

3.3.1. Método inductivo – deductivo.

Este método se utilizó en conjunto para identificar los problemas actuales presentes y luego darles su posible solución mediante la tecnología adecuada, validamos todos los datos obtenidos mediante los programas estadísticos ya mencionados.

3.3.2. Métodos estadísticos.

El análisis de los datos obtenidos se realizó por medio del análisis de la varianza (ANOVA), una técnica que ayuda a determinar la variación total de los datos y la divide en partes significativas e independientes, atribuibles a cada una de las fuentes de variabilidad presentes y a la variación causal (aleatoria).

Utilizando el software estadístico STATGRAPHICS versión 16.1.03, los datos resultantes se tabularon y organizaron tras el análisis, lo que permitió interpretar los resultados.

3.3.3. Método experimental.

El método experimental fue aplicado para la evaluación de los diferentes fenómenos y tabulación de sus resultados y datos obtenidos, experimentalmente se realizaron análisis tanto físicos como sensoriales, y microbiológicos.

3.4. Fuente de recopilación de información.

La investigación se fundamentó mediante fuentes tales como proyectos de investigaciones relacionados al scoby e investigaciones realizadas de bebidas fermentadas con parámetros similares a la presentada en la investigación.

3.5. Diseño de la investigación.

En la presente investigación se utilizó un modelo factorial de diseño de bloques (A*B) en el que el factor A fueron las concentraciones de mucílago (15, 20 y 30%) de cacao, y el factor B, fueron los dos tipos de té utilizados para el proceso de elaboración de la bebida fermentada.

3.5.1. Factores de estudio.

Tabla 4. Descripción de los factores de estudio que intervienen en el proceso de elaboración de la bebida fermentada.

Factores de estudio	Simbología	Descripción
Factor A: Concentraciones de mucílago	a0	Al 15%
	a1	Al 20%
	a2	Al 30%
Factor B: Tipos de té	b0	Té verde
	b1	Té negro

Fuente: Autor.

3.5.2. Tratamientos de la investigación.

Se utilizó un diseño de bloques AxB con los siguientes niveles A=3; B=2; dando como resultado un total de 6 tratamientos con 3 repeticiones, con un total de 18 unidades experimentales.

Tabla 5. Combinación de los tratamientos de la investigación

Número	Simbología	Descripción
1	a0b0	Al 15% + Té verde
2	a0b1	Al 15% + Té negro
3	a1b0	Al 20% + Té verde
4	a1b1	Al 20% + Té negro
5	a2b0	Al 30% + Té verde

Fuente: Autor.

Luego de obtener los resultados del estudio, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar los efectos entre niveles y tratamientos, y se utilizó la prueba de significancia de Tukey ($p < 0,05$) para obtener el análisis estadístico. Este análisis se realizó en el programa estadístico INFOSTAT y STATGRAPHICS.

- Tratamientos 6
- Repeticiones 3
- Unidades Experimentales 18

3.6. Instrumentos de investigación.

Tabla 6. Análisis efectuados en la investigación

Análisis Físico – Químicos	Análisis microbianos
Acidez	E. Coli
pH	Salmonella
° Brix	Levaduras
° GL Grados de alcohol	Bacterias
Densidad	
Turbidez	
Absorbancia	
Transmitancia	
Colorimetría	
Sedimentación	

3.7. Análisis físico – químicos.

3.7.1. Determinación de pH.

Se usó un pH - metro marca OHAUS modelo Starter 5000, se tomaron muestras de 50 mL de cada una de las bebidas fermentadas y se colocaron en un vaso de precipitación, luego se lavó el electrodo con agua destilada, luego se insertó el medidor de pH en la solución durante unos segundos para obtener el resultado.

3.7.2. Determinación de la Turbidez.

Para la determinación de la turbidez se utilizó un turbidímetro marca hach modelo 2100AN, se procede a enjuagar los tubos dos veces para impedir errores de dilución, se llenan los tubos, luego se eliminan las burbujas de aire u otras entradas de gas de la muestra antes de la medición. Los tubos deben estar completamente secos para determinar la turbidez de la muestra tomada. La muestra debe estar perfectamente homogeneizada antes de leer. Se reemplaza los tubos con la solución estándar, con el tubo con la muestra a analizar y se cierra el compartimento de este. El valor arrojado es expresado en NTU (Unidad de turbidez nefelométrica).

3.7.3. Determinación de Acidez.

Para la determinación de acidez se tomaron 10 mL de muestra; colocados en un vaso de precipitación junto con 50 mL de agua destilada homogeneizando por 1 minuto. Luego se coloca el líquido en un matraz de 250 mL. Posterior a esto se agregan 5 gotas de fenolftaleína, y se agita suavemente. Seguidamente se procedió a titular con NaOH 0.01 N. Se reportó en porcentaje de ácido láctico con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ácido láctico} = \frac{0,1 * V_{NaOH} * 0,09}{P_m} * 100 \quad (1)$$

Donde:

V_{NaOH} = volumen gastado de hidróxido de sodio 0,1 N

P_m = peso de muestra

3.7.4. Determinación de grados Brix (°Bx).

Para la determinación de los grados brix se utilizó un refractómetro marca atago, se tomó 1 ml de muestra con ayuda de una pipeta marca corning, luego se lava el lente del refractómetro con agua destilada y se seca con cuidado de no dejar gotas, luego se vierte una gota de la solución sobre el lente del refractómetro y se procede a realizar la lectura.

3.7.5. Determinación de grados de Alcohol.

Los grados alcohólicos se midieron con un alcoholímetro marca al ambik de 0 a 100%, se utilizó una probeta de 100 ml se llenó de muestra y se procedió a introducir el alcoholímetro girando y esperando a que flote para tomar los valores marcados.

3.7.6. Determinación de Densidad.

Para la determinación de la densidad el picnómetro se lava y se enjuaga con agua destilada, se seca en la estufa a (100 - 110°C) por una hora, se deja enfriar durante media hora, en el desecador y se pesa vacío (Mt). Se llena totalmente el picnómetro con agua destilada, cuidando de evitar burbujas de aire, se determina el peso como (Ma). Luego se vacía el agua del picnómetro y se seca en la estufa por 30 min se saca y se deja enfriar a la temperatura ambiente, se coloca la muestra y se procede a pesar (Mm). La densidad de la bebida se realiza utilizando la siguiente ecuación.

$$Dr = \frac{Mm - Mt}{Ma - Mt}$$

En donde:

Mm: Masa presente del picnómetro con la muestra en gramos

Ma: Masa representativa del picnómetro con agua en gramos

Mt: Masa del picnómetro vacío en gramos

3.7.7. Determinación de la absorbancia y transmitancia.

Para la determinación de la absorbancia y transmitancia se trabajó con un espectrofotómetro marca único que mide los dos valores a la vez, el equipo trabajó a 430 nm, absorbancia representada como “A” y transmitancia como “T”, se utilizaron celdas de Cuarzo que tienen un ancho interno de 10 mm, las celdas son lavadas con agua destilada y secadas cuidadosamente, luego se coloca una celda con agua destilada pura para que sirva como base de lectura, esta no será removida durante todo el proceso que dure la lectura, se realizaron diluciones para este proceso las cuales fueron 1:0; 1:1; 1:10; y 1:100.

3.7.8. Determinación de la colorimetría.

Para la determinación del color en la bebida fermentada se aplicaron los componentes $L^*a^*b^*$. El espacio de color $L^*a^*b^*$ fue modelado en base a una teoría de color oponente que establece que dos colores no pueden ser rojo y verde al mismo tiempo o amarillo y azul al mismo tiempo. Como se muestra a continuación, L^* indica la luminosidad y a^* y b^* son las coordenadas cromáticas.

L^* =luminosidad

a^* = coordenadas rojo/verde (+a indica rojo, -a indica verde)

b^* = coordenadas amarillo/azul (+b indica amarillo, -b indica azul)

El instrumento de medición de color usado fue el espectrofotómetro, que puede cuantificar éstos atributos de color fácilmente. Este determina el color de un objeto dentro del espacio de color y muestran los valores para cada coordenada L^* , a^* , y b^* .

3.7.9. Determinación de sedimentación.

Para la determinación de la sedimentación se utilizó una centrífuga marca labnet, que trabajo a 3100 rpm durante 5 minutos, se utilizaron tubos Eppendorf o tubos de microcentrífuga para las muestras, estas se colocan en los tubos con la ayuda de una pipeta y se introducen en el equipo, la centrífuga y su velocidad hace que todos los sólidos se vayan al fondo del recipiente y el líquido flote sobre ellos.

3.8. Análisis microbiológicos.

3.8.1. Determinación de presencia de E. Coli y Salmonella.

Para la determinación de la presencia de E. coli y salmonella se realiza una siembra en placas Petri y se dejó en la Incubadora marca Memmert a 28° C durante 48 horas. El medio de crecimiento que se utilizó fue Caldo de Lisogenia (LB), la preparación del caldo consiste en agregar 75 gramos de medio en 250 mL de agua destilada pura, luego se homogeniza y se lleva a cocinar el medio al Autoclave, el Autoclave que se usó fue marca Kgemmy, allí se cocina a 120° C durante cuatro ciclos de 10 minutos cada uno. Una vez cocinado el medio se procede a enfriar y luego a llenar en las placas Petri previamente esterilizadas, luego de que el medio se solidifica, se agrega la muestra, agregamos 10uL con la ayuda de una pipeta, para esto trabajamos con diluciones de 1: -3.

3.8.2. Determinación de presencia de Levaduras y Bacterias.

Para la determinación de la presencia de Levaduras y Bacterias se realiza el mismo procedimiento que se utiliza en E. coli y Salmonella, se procede a la respectiva siembra en placas Petri para luego llevarlas a la Incubadora marca Memmert a 28° C durante 48 horas. La solución o medio de crecimiento que se utilizó fue Agar de papa y dextrosa (PDA), la preparación de este consiste en agregar 75 gramos en 250 mL de agua destilada pura, luego se homogeniza y se lleva al Autoclave, el que se utilizó fue marca Kgemmy, allí se cocina a 120° C durante cuatro ciclos de 10 minutos cada uno. Una vez terminado el proceso se procede a enfriar y luego a llenar en las placas Petri previamente esterilizadas, luego de que el medio se vuelve sólido, agregamos 10uL de muestra con la ayuda de una pipeta, para este análisis trabajó con diluciones de 1: -3.

3.9. Recursos utilizados.

3.9.1. Recursos humanos.

- ✓ Sr. Ariel Fernando Morales Moreira

3.9.2. Materia prima.

- ✓ Scoby
- ✓ Mucílago de cacao
- ✓ Té verde y té negro
- ✓ Agua

3.9.3. Equipos.

- ✓ Balanza analítica
- ✓ Espectrofotómetro
- ✓ Estufa
- ✓ Incubadora
- ✓ Refractómetro
- ✓ pH metro
- ✓ Turbidímetro
- ✓ Alcoholímetro
- ✓ Centrífuga
- ✓ Autoclave

3.9.4. Reactivos y soluciones.

- ✓ Solución de Hidróxido de sodio (NaOH) a 0.1 N
- ✓ Fenolftaleína

- ✓ Agar de papa y dextrosa (PDA)
- ✓ Caldo de Lisogenia (LB)
- ✓ Solución de calibración de pH estándar
- ✓ Agua Destilada

3.9.5. Materiales del laboratorio.

- ✓ Placas Petri
- ✓ Pipeta
- ✓ Matraz Erlenmeyer
- ✓ Vaso de precipitación
- ✓ Probeta
- ✓ Tubos eppendorf
- ✓ Toallas absorbentes
- ✓ Espátula
- ✓ Picnómetro
- ✓ Soporte universal
- ✓ Pinzas
- ✓ Celdas de cuarzo
- ✓ Guantes
- ✓ Parafilm

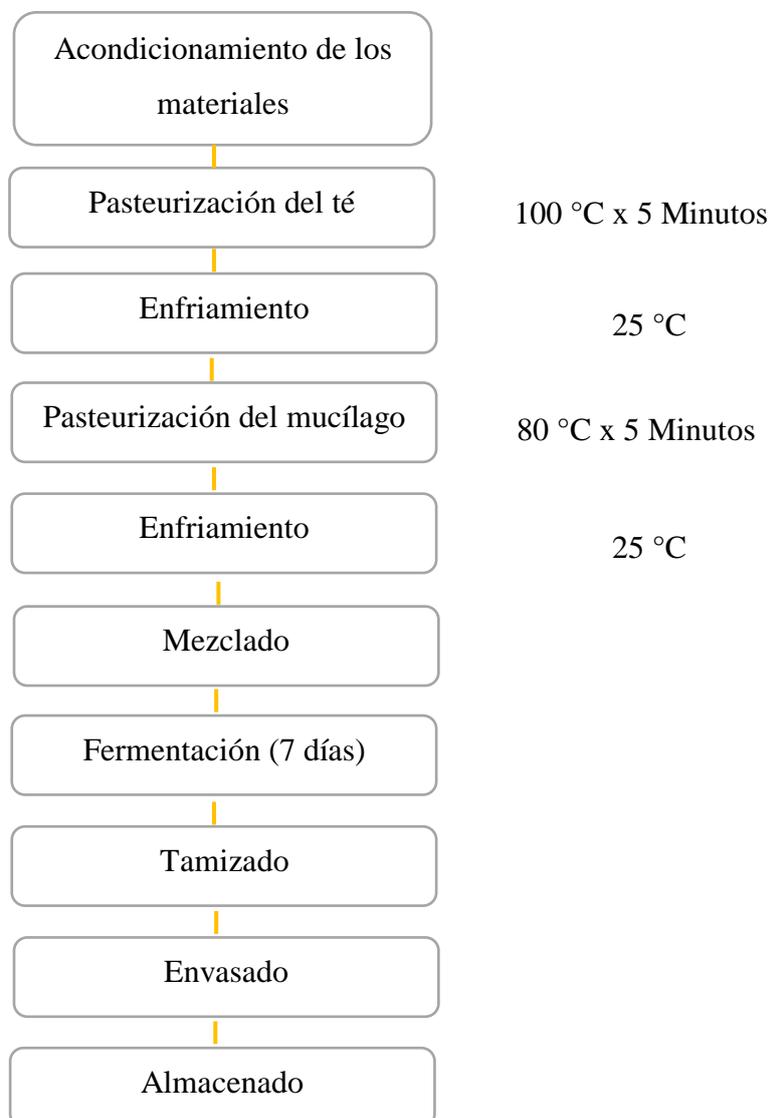
3.9.6. Materiales de oficina.

- ✓ Lapiceros
- ✓ Hojas A4
- ✓ Lápiz

- ✓ Borrador
- ✓ Tijeras
- ✓ Reglas
- ✓ Carpetas
- ✓ Lápices de colores

3.10. Diagrama de proceso de la elaboración de la bebida fermentada.

3.11. Gráfico 1. Proceso de elaboración de la bebida fermentada



Fuente: Autor.

3.11.1. Descripción del proceso de elaboración de la bebida fermentada.

Acondicionamiento de los materiales: En esta operación se prepara el recipiente que se va a utilizar este puede ser, metálico como una olla, las botellas o envases las cuales deben ser de vidrio de preferencia, y se empieza esterilizando estas para el envasado.

Pasteurización del té: En esta operación se lleva a cabo la pasteurización del té con 1 litro de agua en mezcla, se puede usar dos o tres sobres de té, hasta que el color se vea un poco oscuro, esto ayudará a que la luz no se filtre e interrumpa el proceso de fermentación. La pasteurización se la realiza a 100 °C por 5 minutos, luego de esto se dará una solución bastante concentrada como resultado.

Enfriamiento: Esta operación consiste en dejar que repose la solución de agua y té hasta que su temperatura descienda aproximadamente a unos 25 °C para poder realizar la siguiente mezcla.

Pasteurización del mucílago: En esta operación se lleva a cabo la pasteurización del mucílago de cacao a una temperatura de 80 °C durante unos 5 minutos, la temperatura no se eleva más por el hecho de que podría afectar a la composición o estructura del mucílago.

Enfriamiento: En esta operación se deja reposar y enfriar el mucílago de igual manera hasta que este descienda a los 25°C de temperatura, bajo la cual realizaremos la mezcla.

Homogenizado: Esta operación sirve para dos o más soluciones que se deban mezclar entre sí, una vez que el té y el mucílago hayan alcanzado la temperatura de 25 °C se procede a colocar las dos soluciones cuidadosamente en el mismo recipiente, se da un pequeño meneo para que se integren de forma correcta. Aquí se aplica el porcentaje de mucilago de cacao a la mezcla según corresponda (15,20 o 30%).

Fermentación: A continuación, se vierte el líquido en el recipiente de vidrio que contiene el scoby, lo hacemos hasta que este lo cubra por completo y luego se lo sella muy bien con papel filtro o toallas absorbentes ya que en esta fermentación interviene un poco el oxígeno y no se debe sellar por completo debido a los gases que se emiten durante el proceso. Se debe guardar en un lugar seco en el cual no llegue la luz ni calor, y se lo deja durante 7 días.

Tamizado: En esta operación se procura cuidar que no pasen pequeños grumos que son visibles luego de la fermentación provocados por las levaduras y el mucílago de cacao.

Envasado: Una vez cumplidos los 7 días se procede a envasar el producto, debe realizarse un filtrado y luego de esto se procede a envasar en las botellas en las que previamente ya se habían desinfectado.

Almacenado: El almacenado lo realizamos en refrigeración debido a que así descenderemos la temperatura a un valor al cual la fermentación se detenga o se ralentice de manera notoria.

IV. CAPÍTULO
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Resultados.

4.1.1. Resultados del análisis de varianza los análisis físico – químicos.

Tabla 7. Análisis de varianza de pH.

CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	0,112744	2	0,0563722	215,89	0,0000
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	0,73205	1	0,73205	2803,60	0,0000
INTERACCIONES					
AB	0,0132333	2	0,00661667	25,34	0,0000
RESIDUOS	0,00313333	12	0,000261111		
TOTAL (CORREGIDO)	0,861161	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°7 muestra los resultados del pH de la bebida e indica diferencias significativas en los niveles: factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado), factor B (Tipos de té a utilizar), interacciones: Ax B (Porcentaje de mucílago y tipos de té), por lo que se sugiere realizar una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) y mostrar las diferencias entre las medias de los niveles de los tratamientos.

Tabla 8. Análisis de varianza °Brix

CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	5,78111	2	2,89056	110,70	0,0000
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	0,125	1	0,125	4,79	0,0492
INTERACCIONES					
AB	3,94333	2	1,97167	75,51	0,0000
RESIDUOS	0,313333	12	0,0261111		
TOTAL (CORREGIDO)	10,1628	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°8 muestra los resultados de los ° Brix de la bebida e indica diferencias significativas en los niveles: factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado), factor B (Tipos de té a utilizar), interacciones: AxB (Porcentaje de mucílago y tipos de té), por lo que debemos efectuar una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) y demostrar la diferencia entre las medias de los niveles de los tratamientos.

Tabla 9. Análisis de varianza de Acidez

CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	0,0118919	2	0,00594594	251,20	0,0000
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	0,00426888	1	0,00426888	180,35	0,0000
INTERACCIONES					
AB	0,00740484	2	0,00370242	156,42	0,0000
RESIDUOS	0,00028404	12	0,00002367		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0238496	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°9 muestra los resultados de la Acidez de la bebida e indica diferencias significativas en los niveles: factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado), factor B (Tipos de té a utilizar), interacciones: AxB (Porcentaje de mucílago y tipos de té), por lo que es necesario llevar a cabo una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) y marcar las diferencias entre los valores de medias presente en los niveles de los tratamientos.

Tabla 10. Análisis de varianza de Densidad**CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)**

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	0,00397211	2	0,00198606	496,51	0,0000
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	0,0014045	1	0,0014045	351,12	0,0000
INTERACCIONES					
AB	0,00301433	2	0,00150717	376,79	0,0000
RESIDUOS	0,000048	12	0,000004		
TOTAL (CORREGIDO)	0,00843894	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°10 muestra los resultados de la Densidad de la bebida e indica diferencias significativas en los niveles: factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado), factor B (Tipos de té a utilizar), interacciones: AxB (Porcentaje de mucílago y tipos de té), por lo que se recomienda probar con una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) y describir la diferencia entre las medias de los tratamientos estudiados.

Tabla 11. Análisis de varianza de Turbidez**CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)**

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	19,6267	2	9,81334	2,31	0,1421
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	124,736	1	124,736	29,31	0,0002
INTERACCIONES					
AB	2,84644	2	1,42322	0,33	0,7222
RESIDUOS	51,0648	12	4,2554		
TOTAL (CORREGIDO)	198,274	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°11 muestra los resultados de la Turbidez de la bebida e indica diferencias significativas en el nivel: factor B (Tipos de té a utilizar), para lo cual se sugiere ejecutar una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) y demostrar las diferencias que existen entre las medias de los tratamientos que estamos evaluando. Mientras que en; factor A

(Porcentajes de mucílago de cacao utilizado) e interacciones: AxB (Porcentaje de mucílago y tipos de té) no indica diferencia significativa.

Tabla 12. Análisis de varianza de Sedimentación.

CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	0,000111	2	0,0000555	0,64	0,5438
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	0,0000467222	1	0,0000467222	0,54	0,4766
INTERACCIONES					
AB	0,0000841111	2	0,0000420556	0,49	0,6267
RESIDUOS	0,00103867	12	0,0000865556		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0012805	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°12 muestra los resultados de la Sedimentación de la bebida en los cuales no se encontró diferencias significativas en los niveles: factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado), factor B (Tipos de té a utilizar), interacciones: AxB (Porcentaje de mucílago y tipos de té).

Tabla 13. Análisis de varianza Colorimetría lxaxb (Color I)

CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	8,3307	2	4,16535	0,68	0,5252
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	468,007	1	468,007	76,38	0,0000
INTERACCIONES					
AB	217,098	2	108,549	17,72	0,0003
RESIDUOS	73,5293	12	6,12744		
TOTAL (CORREGIDO)	766,965	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°13 muestra los resultados de la Colorimetría lxaxb color I de la bebida e indica diferencias significativas en el nivel: factor B (Tipos de té a utilizar), e interacciones: AxB

(Porcentaje de mucílago y tipos de té), para lo que se debe realizar una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) y marcar la diferencia entre las medias de de los tratamientos en todos sus niveles. Mientras que no indica diferencia significativa en; factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado).

Tabla 14. Análisis de varianza Colorimetría lxaxb (Color a)

CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	52,0816	2	26,0408	2,25	0,1482
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	88,0907	1	88,0907	7,60	0,0174
INTERACCIONES					
AB	1,26936	2	0,634679	0,05	0,9469
RESIDUOS	139,032	12	11,586		
TOTAL (CORREGIDO)	280,474	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°14 muestra los resultados de la Colorimetría lxaxb color a de la bebida e indica diferencias significativas en el nivel: factor B (Tipos de té a utilizar), en estas ocasiones se sugiere realizar una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) para poder demostrar las variaciones entre las medias de los niveles de los tratamientos. Mientras que no indica diferencia significativa en; factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado) e interacciones: AxB (Porcentaje de mucílago y tipos de té).

Tabla 15. Análisis de varianza Colorimetría lxaxb (Color b)

CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	10,4626	2	5,23129	0,82	0,4617
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	221,699	1	221,699	34,96	0,0001
INTERACCIONES					
AB	110,416	2	55,2081	8,70	0,0046
RESIDUOS	76,1066	12	6,34221		
TOTAL (CORREGIDO)	418,684	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°15 muestra los resultados de la Colorimetría lxaxb color b de la bebida e indica diferencias significativas en el nivel: factor B (Tipos de té a utilizar), e interacciones: AxB (Porcentaje de mucílago y tipos de té), para lo que es recomendado poner en práctica una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) esta ayudara a establecer diferencia de los tratamientos. Mientras que no indica diferencia significativa en; factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado).

Tabla 16. Análisis de varianza Grados Alcohólicos

CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	1,74879	2	0,874393	110,70	0,0000
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	0,0378125	1	0,0378125	4,79	0,0492
INTERACCIONES					
AB	1,19286	2	0,596429	75,51	0,0000
RESIDUOS	0,0947833	12	0,00789861		
TOTAL (CORREGIDO)	3,07424	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°16 muestra los resultados de los Grados Alcohólicos de la bebida e indica diferencias significativas en los niveles: factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado), factor B (Tipos de té a utilizar), interacciones: AxB (Porcentaje de mucílago y

tipos de té), para este caso se sugiere realizar una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) y demostrar la diferencia entre las medias de todos los tratamientos.

Tabla 17. Análisis de varianza de Absorbancia

CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	0,0333658	2	0,0166829	1,22	0,3303
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	1,65984	1	1,65984	121,03	0,0000
INTERACCIONES					
AB	0,136677	2	0,0683387	4,98	0,0266
RESIDUOS	0,164569	12	0,0137141		
TOTAL (CORREGIDO)	1,99445	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°17 muestra los resultados de la absorbancia de la bebida e indica diferencias significativas en los niveles: factor B (Tipos de té a utilizar), interacciones: Ax B (Porcentaje de mucílago y tipos de té), por lo que es preferible ejecutar una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) y determinar las diferencia que existan entre las medias de los niveles de los tratamientos estudiados. Mientras que en el factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado) no mostro diferencia.

Tabla 18. Análisis de varianza de Transmitancia

CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	1507,58	2	753,792	4,93	0,0273
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	4107,2	1	4107,2	26,87	0,0002
INTERACCIONES					
AB	1753,37	2	876,684	5,73	0,0179
RESIDUOS	1834,39	12	152,866		
TOTAL (CORREGIDO)	9202,55	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°18 muestra los resultados del análisis de transmitancia de la bebida e indica diferencias significativas en los niveles: factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado), factor B (Tipos de té a utilizar), interacciones: AxB (Porcentaje de mucílago y tipos de té), para lo que es recomendado poner en práctica una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) y denotar las diferencias marcadas entre las medias de los niveles de los tratamientos presentados.

Tabla 19. Análisis de varianza de la Apariencia

CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	1,86111	2	0,930556	0,36	0,7048
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	7,34722	1	7,34722	2,84	0,1175
INTERACCIONES					
AB	3,02778	2	1,51389	0,59	0,5717
RESIDUOS	31,0	12	2,58333		
TOTAL (CORREGIDO)	43,2361	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°19 muestra los resultados de la Apariencia de la bebida en los cuales no se encontró diferencias significativas en los niveles: factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado), factor B (Tipos de té a utilizar), interacciones: AxB (Porcentaje de mucílago y tipos de té).

Tabla 20. Análisis de varianza del Color**CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)**

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	15,0833	2	7,54167	3,50	0,0633
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	8,0	1	8,0	3,72	0,0779
INTERACCIONES					
AB	1,08333	2	0,541667	0,25	0,7815
RESIDUOS	25,8333	12	2,15278		
TOTAL (CORREGIDO)	50,0	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°20 muestra los resultados del Color de la bebida en los cuales no se logró encontrar diferencias significativas entre todos los niveles estudiados: factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado), factor B (Tipos de té a utilizar), interacciones: AxB (Porcentaje de mucílago y tipos de té).

Tabla 21. Análisis de varianza del Aroma**CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)**

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	20,0278	2	10,0139	5,68	0,0184
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	0,888889	1	0,888889	0,50	0,4913
INTERACCIONES					
AB	35,5278	2	17,7639	10,07	0,0027
RESIDUOS	21,1667	12	1,76389		
TOTAL (CORREGIDO)	77,6111	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°21 muestra los resultados del Aroma de la bebida en los cuales se encontraron diferencias significativas en los niveles: factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado), interacciones: AxB (Porcentaje de mucílago y tipos de té), por eso en este caso se recomienda ejecutar una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) y trazar las

diferencias entre las medias de los niveles de los tratamientos que se evalúan. Mientras que no se encontró diferencias significativas en factor B (Tipos de té a utilizar).

Tabla 22. Análisis de varianza del Sabor

CUADRO DE ANÁLISIS DE LA VARIANZA (SC TIPO I)

EFFECTOS PRINCIPALES	Suma C	GL	Medio	Razón F	Valor P
A:FACTOR A (% MUCILAGO)	1,08333	2	0,541667	0,68	0,5231
B:FACTOR B (TIPOS DE TÉ)	1,38889	1	1,38889	1,75	0,2100
INTERACCIONES					
AB	38,0278	2	19,0139	24,02	0,0001
RESIDUOS	9,5	12	0,791667		
TOTAL (CORREGIDO)	50,0	17			

Fuente: Autor.

La tabla N°22 muestra los resultados del Sabor de la bebida en los cuales se encontró diferencias significativas en la interacción: Ax B (Porcentaje de mucílago y tipos de té), por lo que es necesario realizar una prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$) y demostrar la diferencia entre las medias de los niveles de los tratamientos. Mientras que en los niveles; factor A (Porcentajes de mucílago de cacao utilizado), factor B (Tipos de té a utilizar).

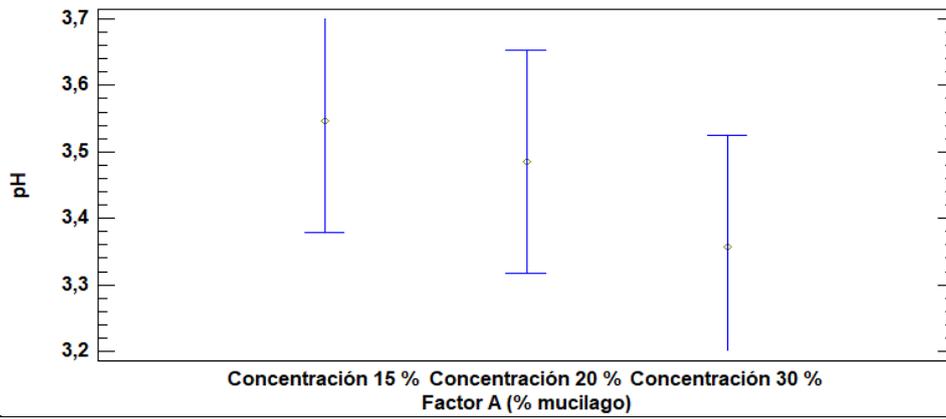
4.1.2. Resultados de las medias mediante las pruebas de significación de Tukey de los análisis físicos, químicos y microbiológicos.

4.1.2.1. Resultados obtenidos en el factor A (Concentraciones de mucílago) en los análisis físicos, químicos y microbiológicos.

Gráfico 2. Resultados de las diferencias de medias entre concentraciones de mucílago al 15, 20 y 30%, en la prueba de significación de Tukey de los análisis fisicoquímicos ($P < 0,05$). 1 pH de la bebida (DS), 2 °Brix (DS), 3 Acidez (DS), 4 Densidad (DS).

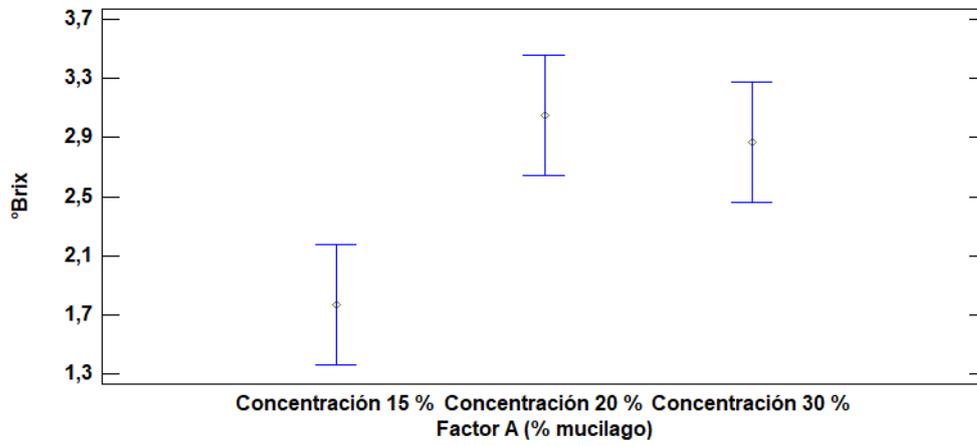
1

Medias y 95,0% de Tukey HSD



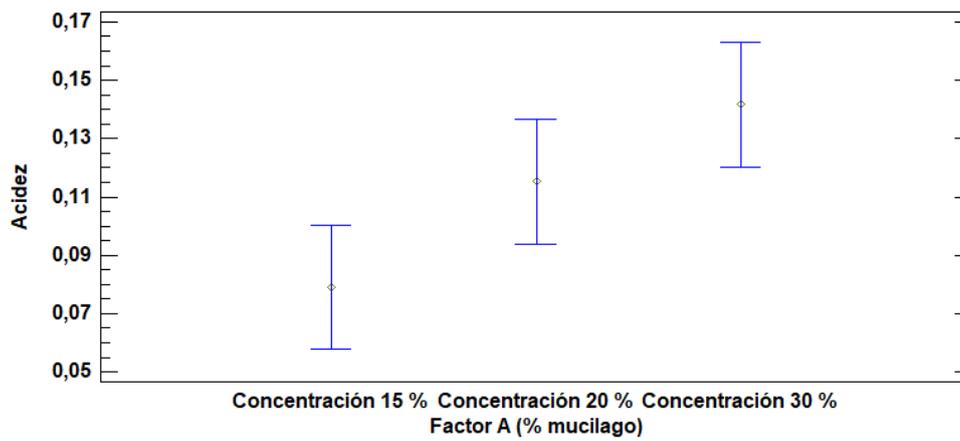
2

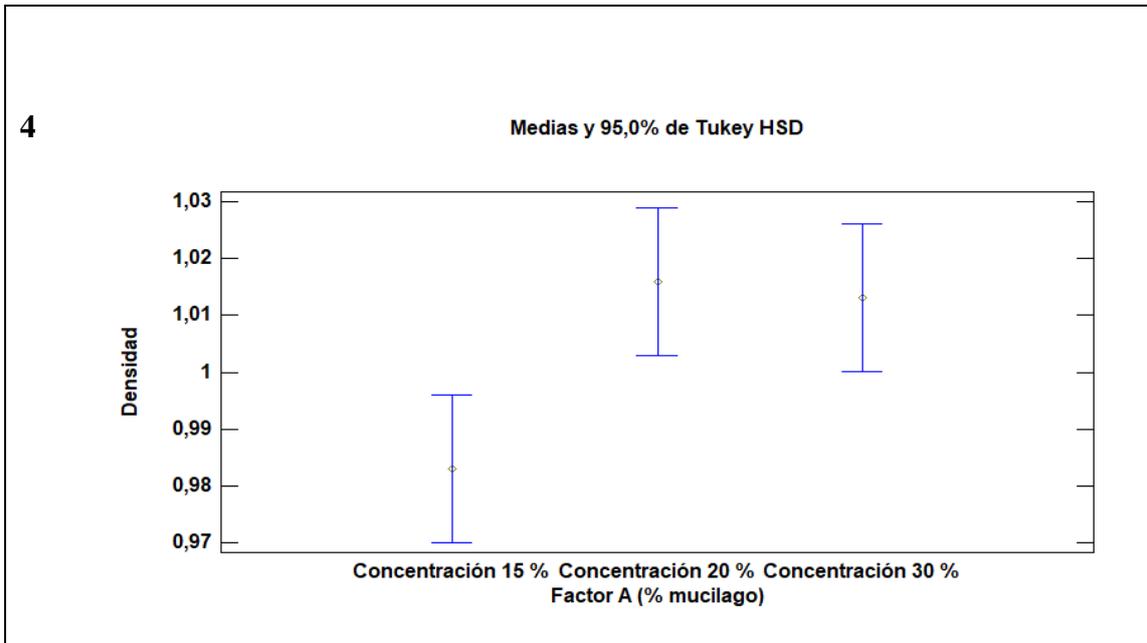
Medias y 95,0% de Tukey HSD



3

Medias y 95,0% de Tukey HSD





Fuente: Autor.

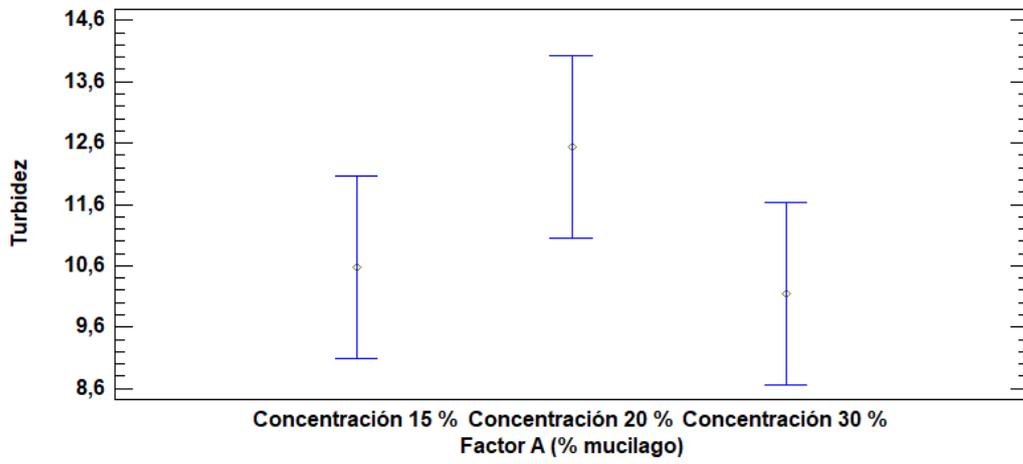
El gráfico 2, presenta diferencia significativa para el pH de la bebida con una cantidad superior de 3.58 en a_0 = Concentración al 15%, mientras a_1 = Concentración al 20% obtuvo un valor de 3.48 y a_2 = Concentración al 30% obtuvo un valor de 3.34. Respecto a los °Brix el valor más alto se lo encontró en a_1 = Concentración al 20% fue de 2.94, luego el siguiente valor fue en a_2 = Concentración al 30% fue de 2.90, y el valor más bajo fue en a_0 = Concentración al 15% de 1.72.

En la Acidez, se mostró el valor más elevado en a_2 = Concentración al 30% de 0.136 luego en a_1 = Concentración al 20% obtuvo un valor de 0.112 y finalmente el valor más bajo se encontró en a_0 = Concentración al 15% fue de 0.072. En lo que respecta a Densidad el valor más representativo fue encontrado en a_1 = Concentración al 20% fue de 1.015 luego el valor de a_2 = Concentración al 30% que fue de 1.012, y finalmente el valor de a_0 = Concentración al 15% de 0.982.

Gráfico 3. Resultados de las diferencias de medias entre concentraciones de mucílago al 15, 20 y 30%, en la prueba de significación de Tukey de los análisis fisicoquímicos ($P < 0.05$). 1 Turbidez, 2 Sedimentación, 3 Grados Alcohólicos (°GL) (DS), 4 Absorbancia.

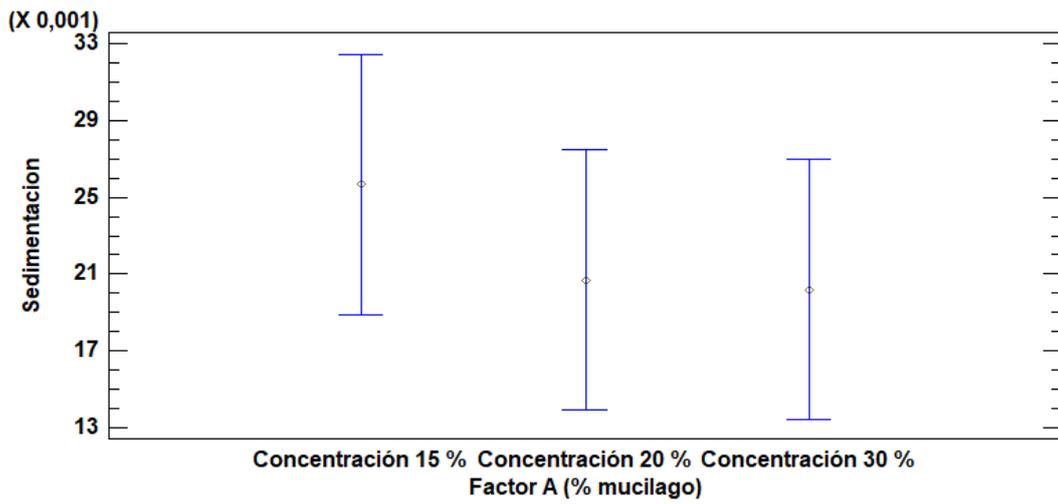
1

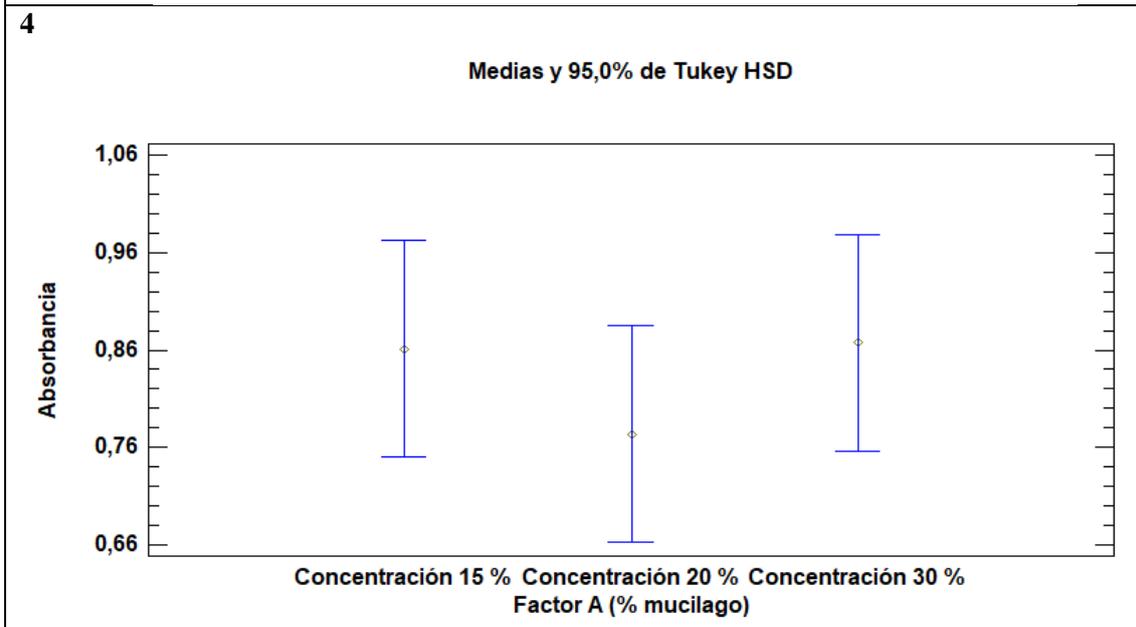
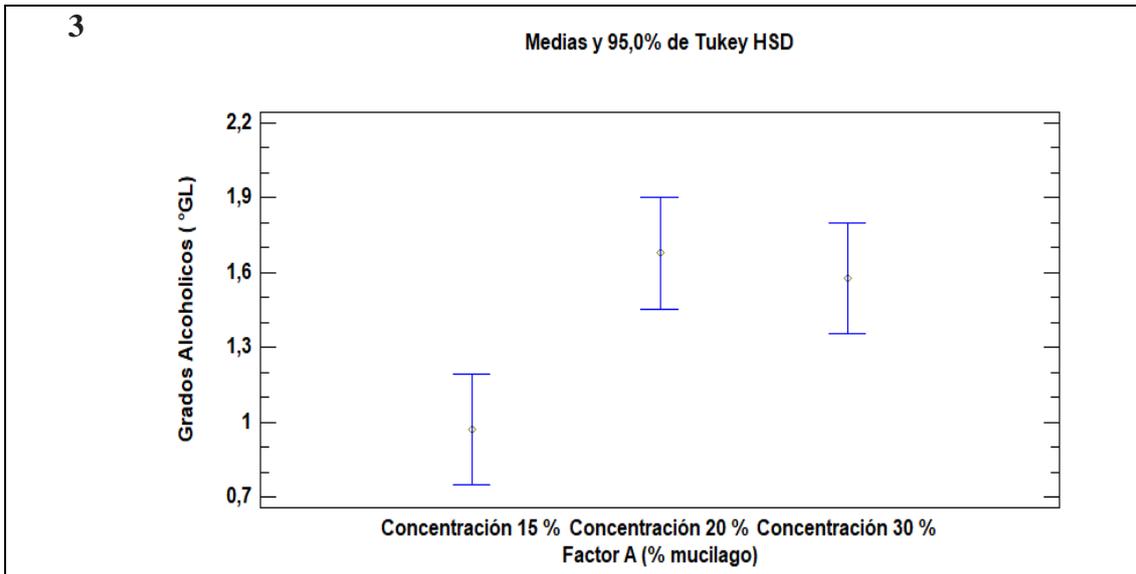
Medias y 95,0% de Tukey HSD



2

Medias y 95,0% de Tukey HSD



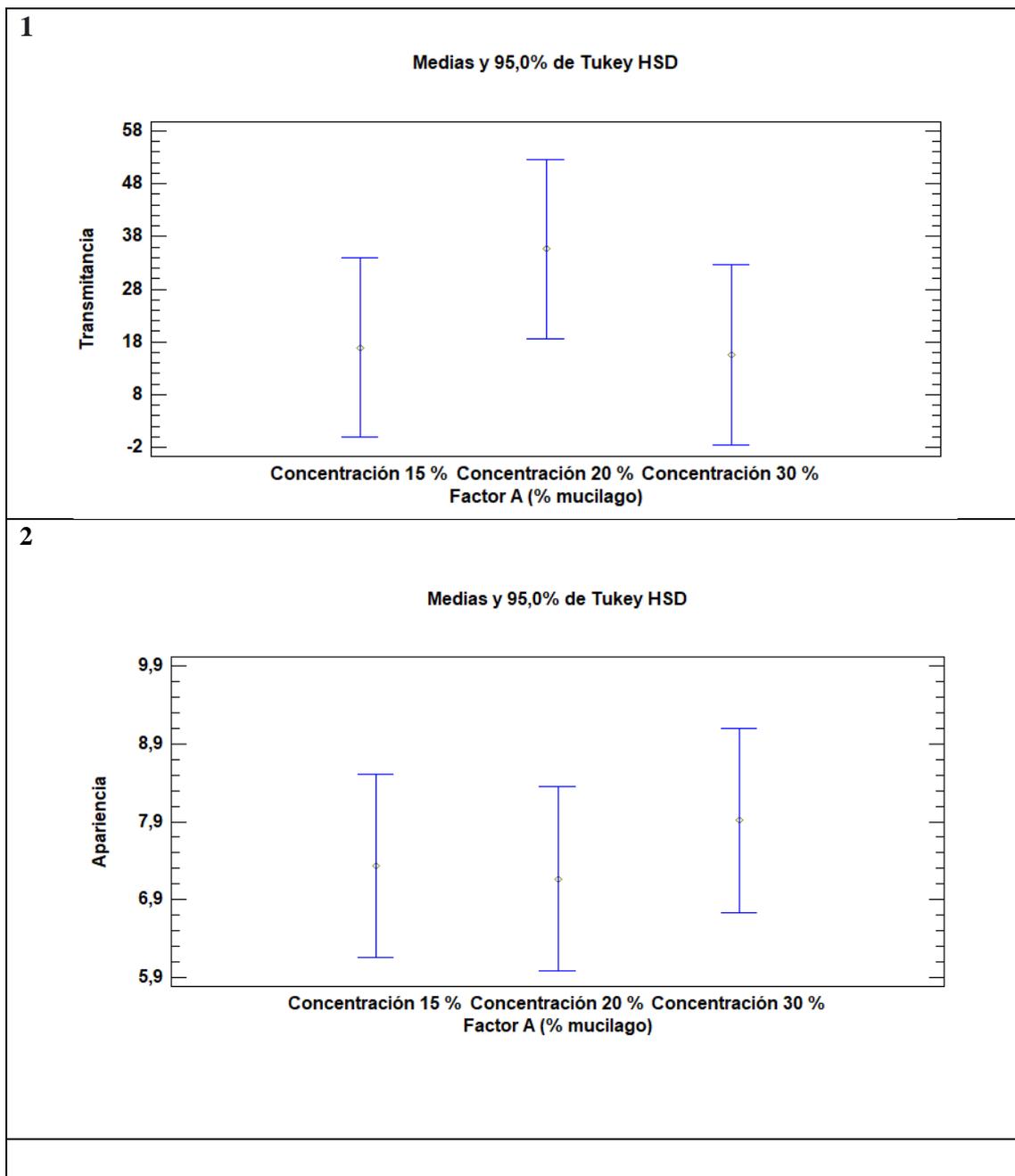


Fuente: Autor.

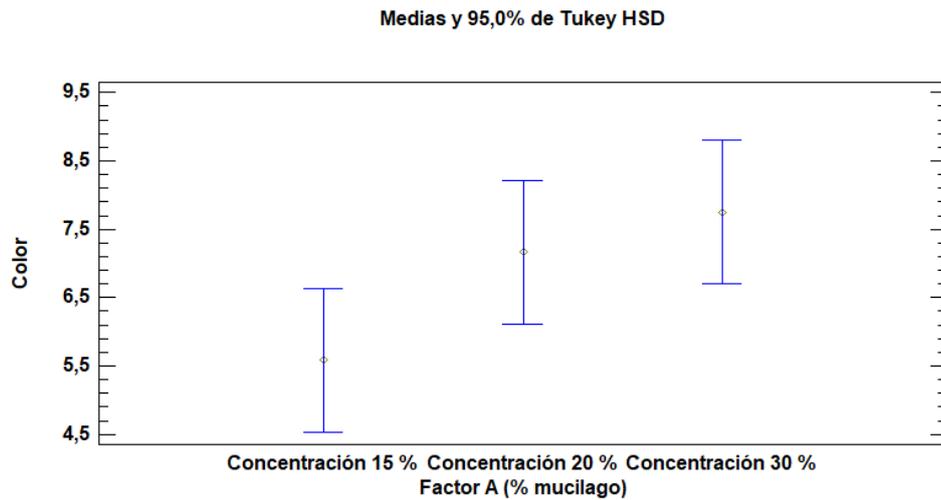
El gráfico 3, muestra diferencia significativa para la turbidez siendo a_1 = Concentración al 20% de 12.4 el valor más elevado, seguido por a_0 = Concentración al 15% y obtuvo un valor de 10.4 y por último a_2 = Concentración al 30% de 10.0, respecto a la sedimentación el valor más elevado se encontró en a_0 = Concentración al 15% de 26, luego a_1 = Concentración al 20% de 20 y por último a_2 = Concentración al 30% de 18.5. En cuanto a los grados alcohólicos (°GL) de la bebida con la cantidad superior en a_1 = Concentración al 20% de 1.61 mientras que a_2 = Concentración al 30% obtuvo un valor de 1.58 y a_0 = Concentración al 15% y obtuvo un valor de 0.89.

En lo que respecta a la absorbancia el valor más elevado estuvo en a_2 = Concentración al 30% de 0.88, luego a_0 = Concentración al 15% de 0.86 y por último a_1 = Concentración al 20% de 0.77.

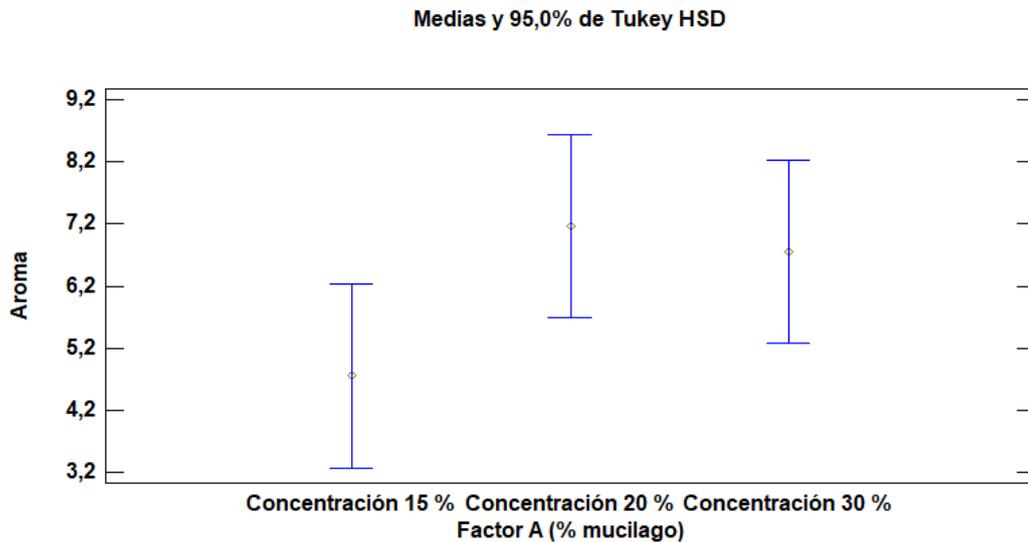
Gráfico 4. Resultados de las diferencias de medias entre concentraciones de mucílago al 15, 20 y 30%, en la prueba de significación de Tukey de los análisis fisicoquímicos ($P < 0.05$). 1 Transmitancia (DS), 2 Apariencia, 3 Color (DS), 4 Aroma.



3



4

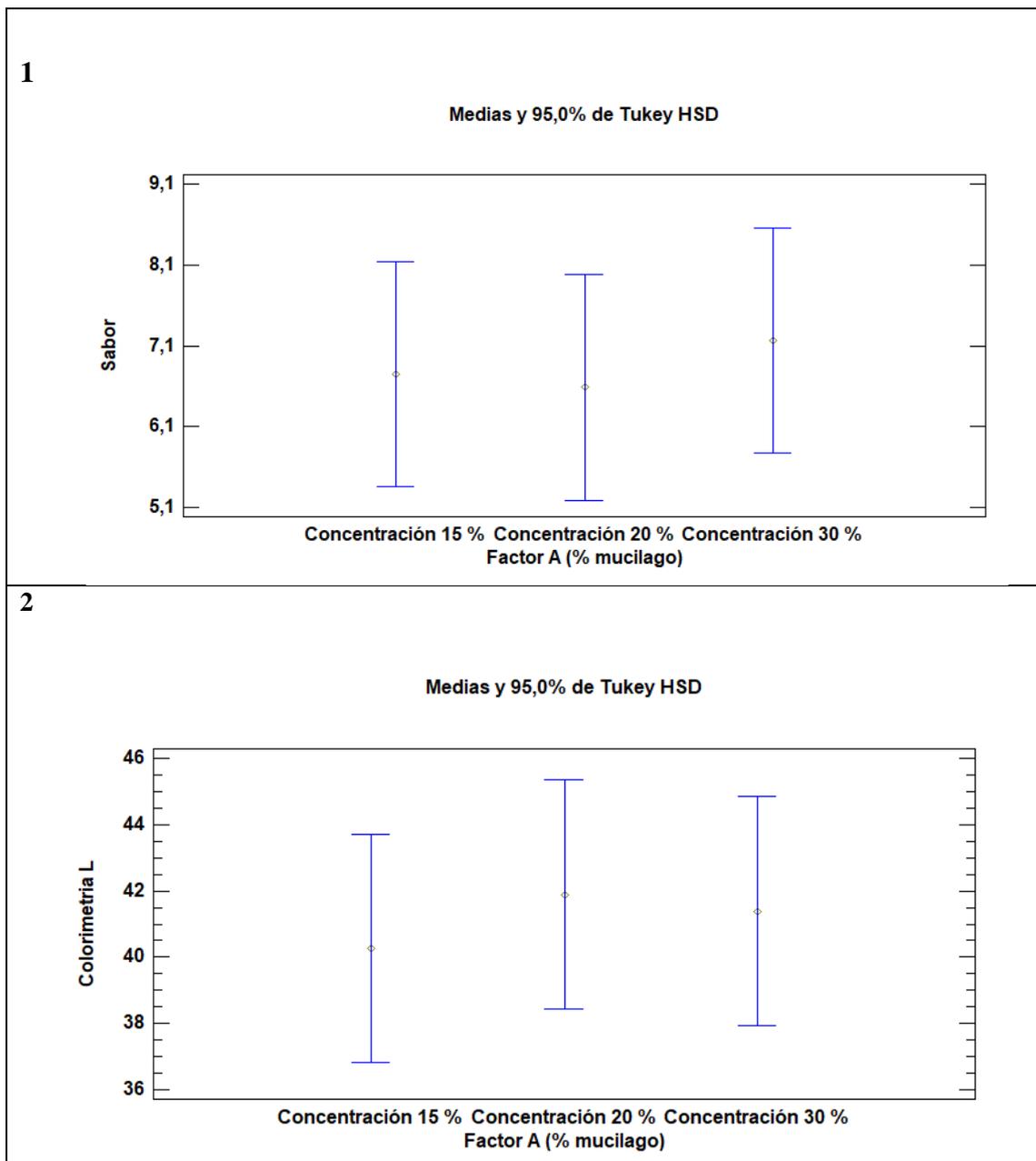


Fuente: Autor.

Respecto al gráfico 4 se encontró DS en la transmitancia, el valor más alto se lo encontró en a_1 = Concentración al 20% fue de 36, luego el siguiente valor fue en a_0 = Concentración al 15% fue de 16, y el valor más bajo fue en a_2 = Concentración al 30% de 14, con respecto a la apariencia el valor mayor fue encontrado en a_2 = Concentración al 30% de 7.90, luego a_0 = Concentración al 15% fue de 7.45, y el menor valor fue a_1 = Concentración al 20% fue de 7.0, con respecto al color el valor más elevado se lo encontró en a_2 = Concentración al 30% de 7.62, luego a_1 = Concentración al 20% fue de 7.0, y por último a_0 = Concentración al 15% fue de 5.5.

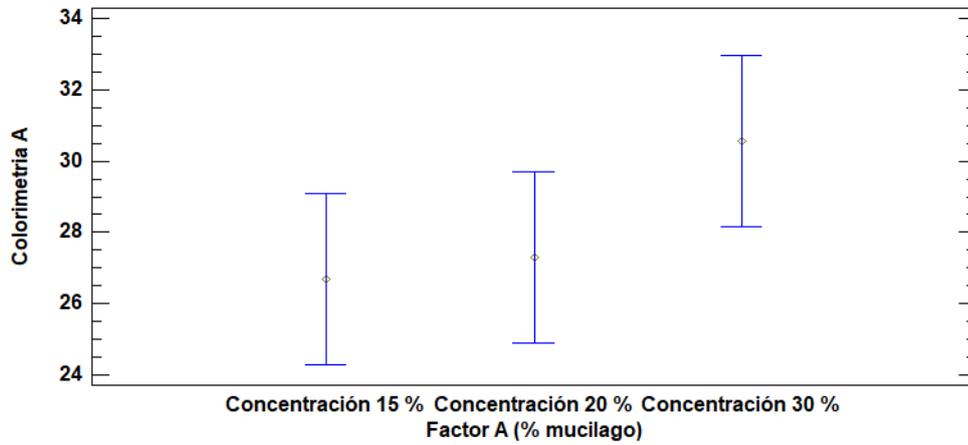
Con respecto al aroma se mostró diferencia significativa siendo a_1 = Concentración al 20% de 7.0 la de valor más elevado, luego a_2 = Concentración al 30% de 6.6, y por último a_0 = Concentración al 15% de 4.6.

Gráfico 5. Resultados de las diferencias de medias entre concentraciones de mucílago al 15, 20 y 30%, en la prueba de significación de Tukey de los análisis fisicoquímicos ($P < 0.05$). 1 Sabor, 2 Colorimetría color L, 3 Colorimetría color A, 4 Colorimetría color B.



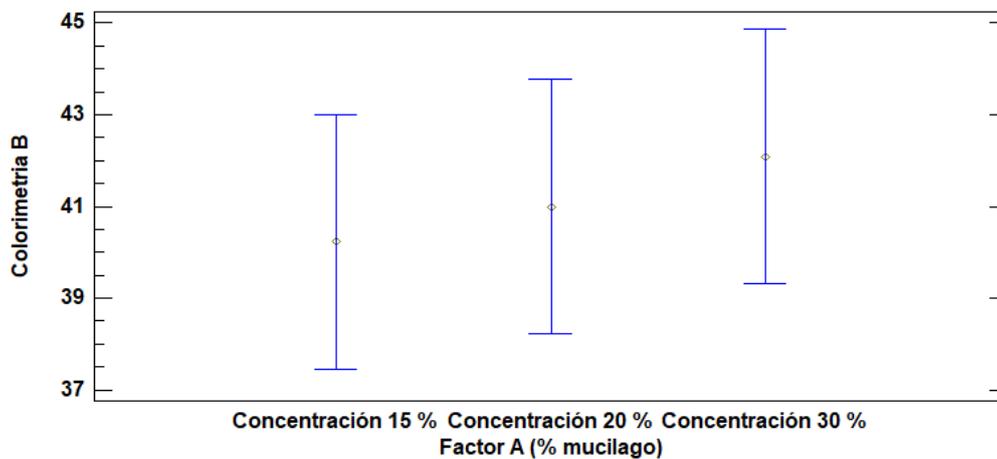
3

Medias y 95,0% de Tukey HSD



4

Medias y 95,0% de Tukey HSD



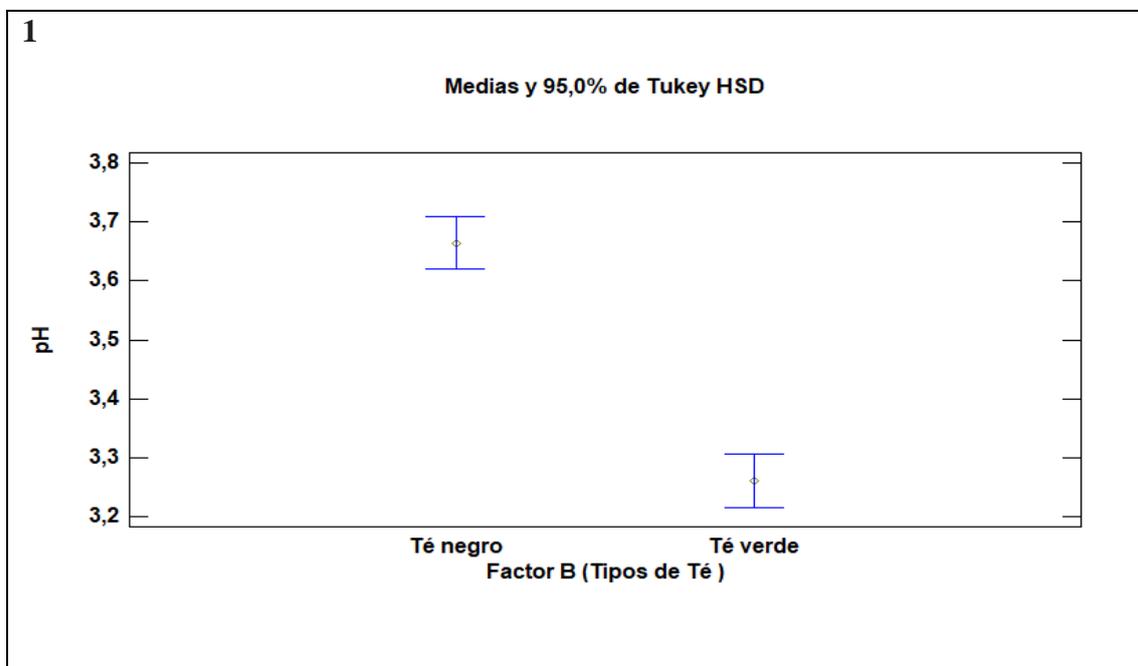
Fuente: Autor.

Respecto al gráfico número 5 en cuanto al sabor, el valor más alto se encontró en a_2 = Concentración al 30% de 7.12, luego a_0 = Concentración al 15% de 6.65, y por último a_1 = Concentración al 20% de 6.5, respecto a la colorimetría en el color L el valor mayor fue hallado en a_1 = Concentración al 20% de 40.80, luego a_2 = Concentración al 30% de 40.5, y por último a_0 = Concentración al 15% de 4.15.

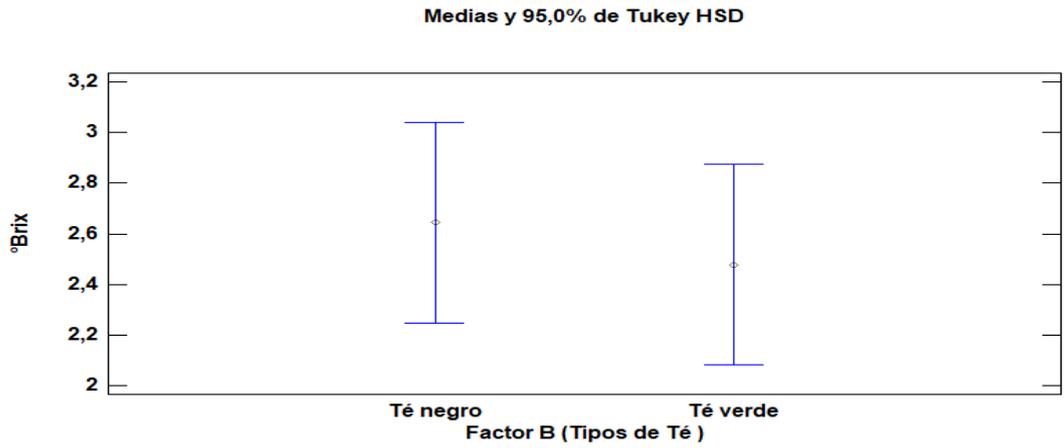
Respecto a la colorimetría en el color A el valor más alto fue encontrado en a_2 = Concentración al 30% de 30.20, luego a_1 = Concentración al 20% de 27 y por último a_0 = Concentración al 15% de 26.55, luego en el color B el valor mayor se lo encontró en a_2 = Concentración al 30% de 42, luego a_1 = Concentración al 20% de 40.75 y por último a_0 = Concentración al 15% de 39.95.

4.1.2.2. Resultados obtenidos en el factor B (Variedades de té utilizados) en los análisis físicos, químicos y microbiológicos.

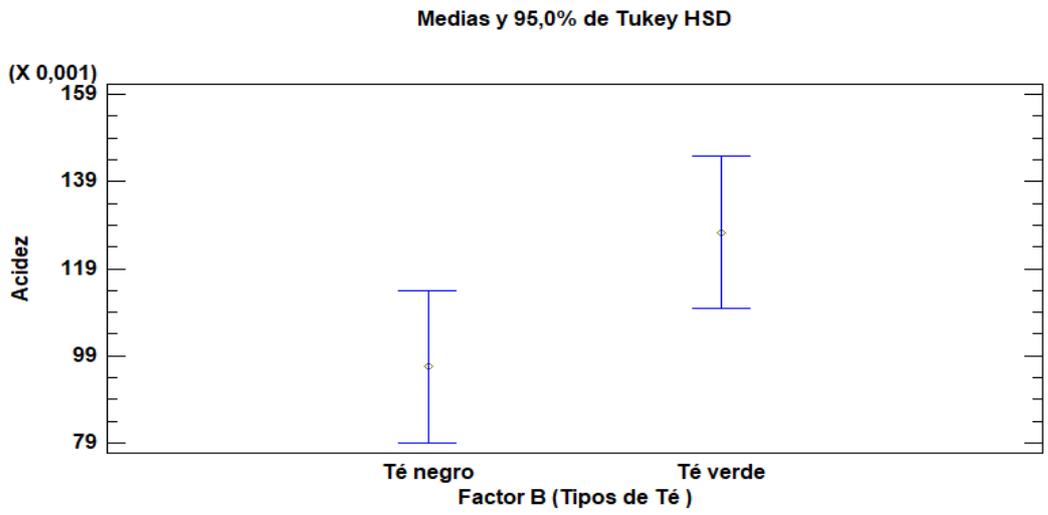
Gráfico 6. Resultados de las diferencias de medias entre las dos variedades de té utilizadas, en la prueba de significación de Tukey de los análisis físicoquímicos ($P < 0.05$). 1 pH de la bebida (DS), 2 °Brix (DS), 3 Acidez (DS), 4 Densidad (DS).



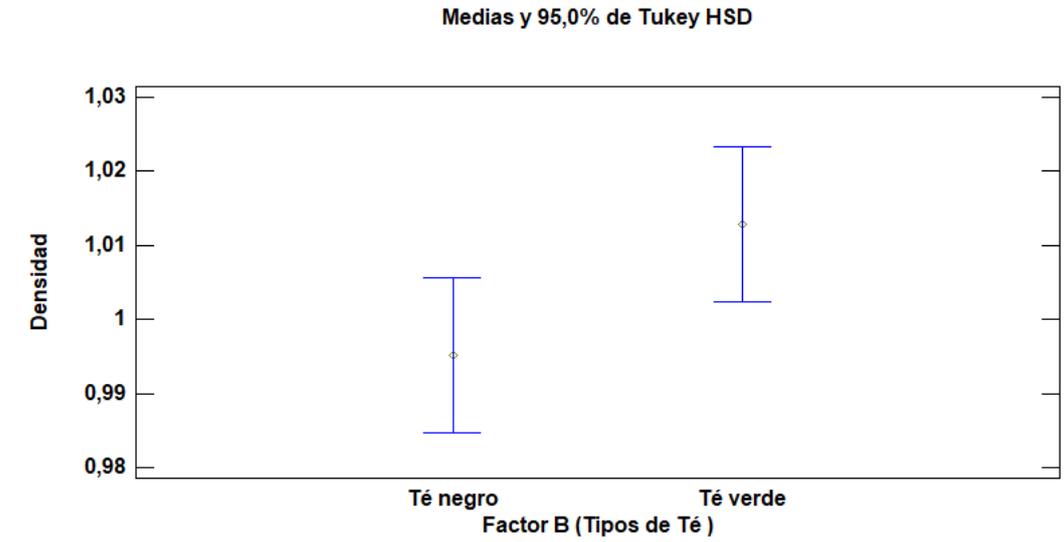
2



3



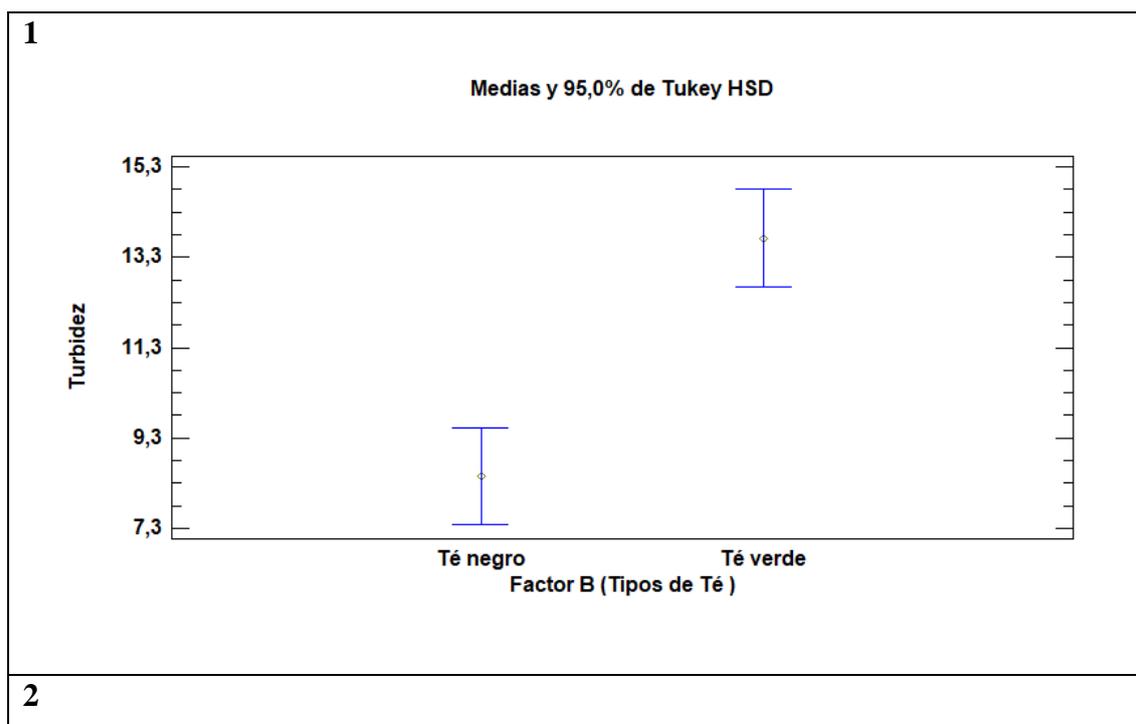
4

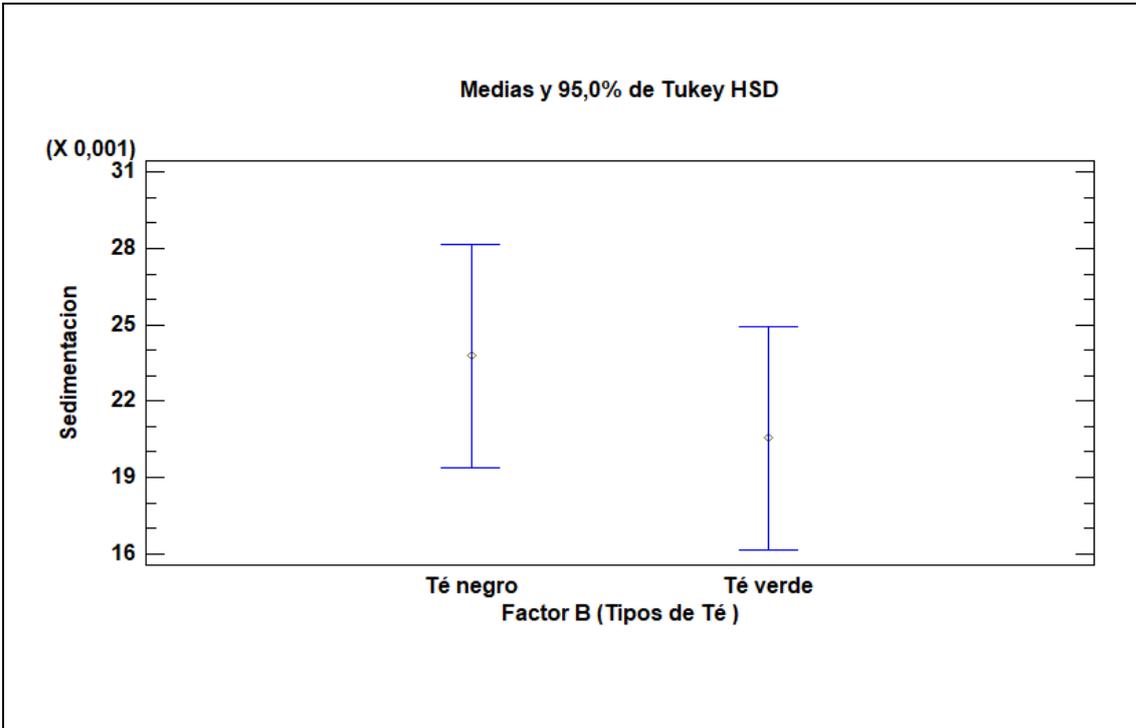


Fuente: Autor.

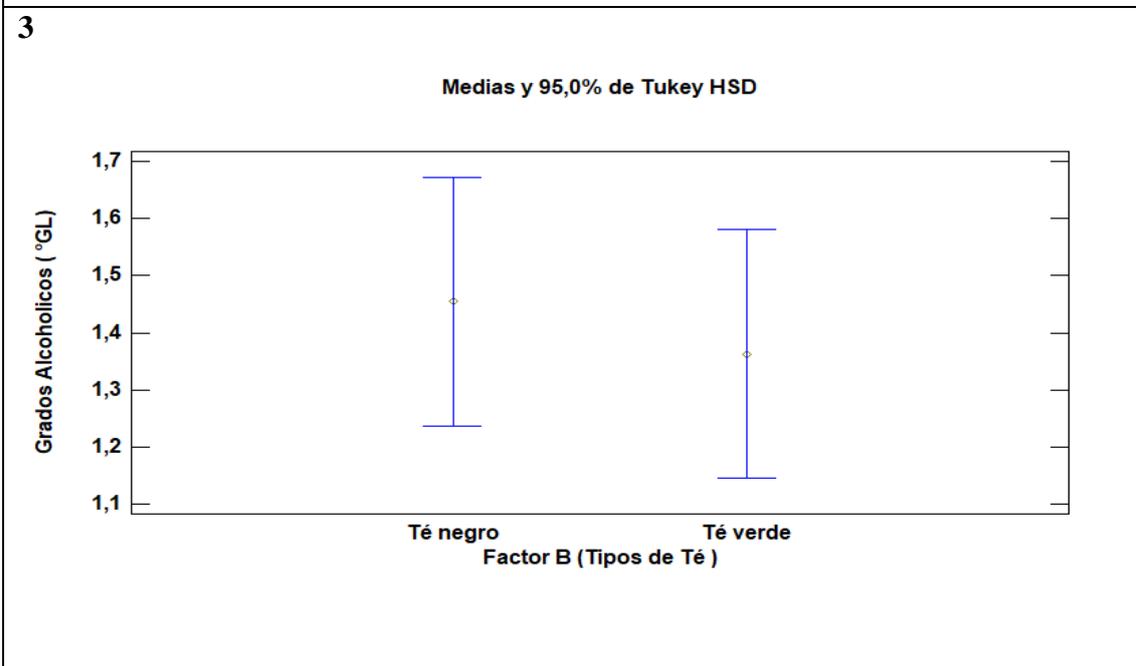
El gráfico 6, presenta diferencia significativa para el pH de la bebida con una cantidad superior de 3.65 en b_1 = té negro, mientras b_0 = té verde obtuvo un valor de 3.25. Respecto a los °Brix el valor más alto se lo encontró en b_1 = té negro de 2.64, mientras b_0 = té verde obtuvo un valor de 2.45. En la Acidez titulable, se observó el valor más alto en b_0 = té verde con un valor de 0.00122, mientras que en b_1 = té negro el valor fue 0.0090. En lo que respecta a Densidad el valor más representativo fue encontrado en b_0 = té verde con 0.012 y el menor en b_1 = té negro el valor fue de 0.998.

Gráfico 7. Resultados de las diferencias de medias entre concentraciones de mucílago al 15, 20 y 30%, en la prueba de significación de Tukey de los análisis físicoquímicos ($P < 0.05$). 1 Turbidez (DS), 2 Sedimentación, 3 Grados Alcohólicos (°GL) (DS), 4 Absorbancia (DS).

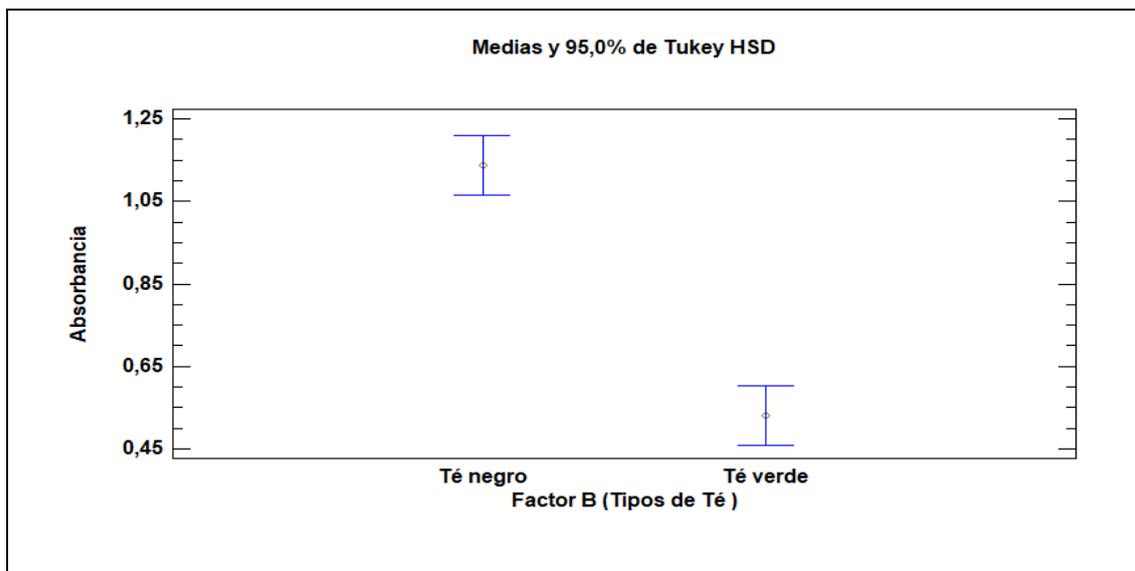




3



4



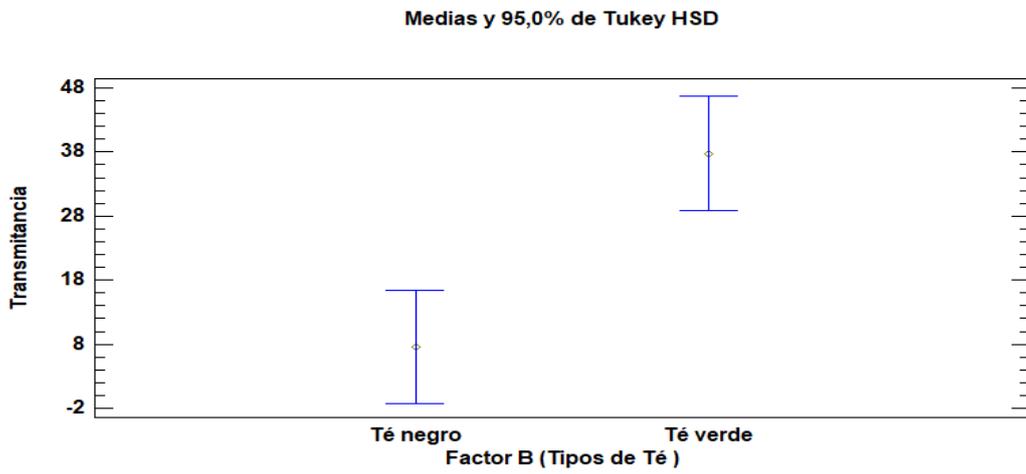
Fuente: Autor.

El gráfico 7, muestra diferencia significativa para la turbidez de la bebida con la cantidad superior en $b_0 =$ té verde con 14.2 mientras que $b_1 =$ té negro el valor fue de 8.3. En cuanto a la sedimentación el valor mayor fue hallado en $b_1 =$ té negro el valor fue de 23.5, y el menor en $b_0 =$ té verde con 20.5.

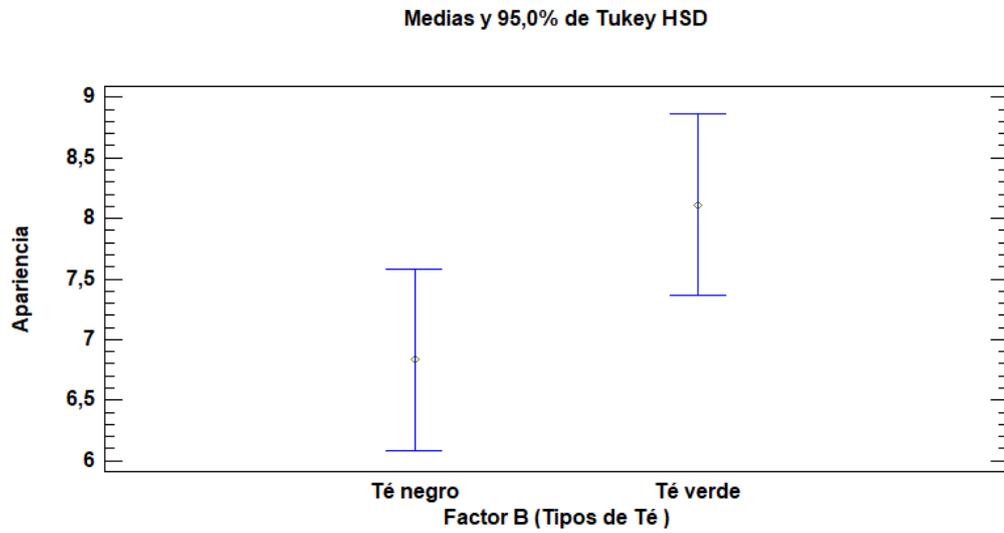
Respecto a los grados alcohólicos ($^{\circ}$ GL) el valor más alto se lo encontró en $b_1 =$ té negro fue de 1.45 mientras que en $b_0 =$ té verde el valor fue de 1.35, en cuanto a la absorbancia el valor más significativo fue hallado en $b_1 =$ té negro fue de 1.12 mientras que en $b_0 =$ té verde el valor fue de 0.53.

Gráfico 8. Resultados de las diferencias de medias entre las variedades de té utilizadas, en la prueba de significación de Tukey de los análisis físicoquímicos ($P < 0.05$). 1 Transmitancia (DS), 2 Apariencia, 3 Color, 4 Aroma.

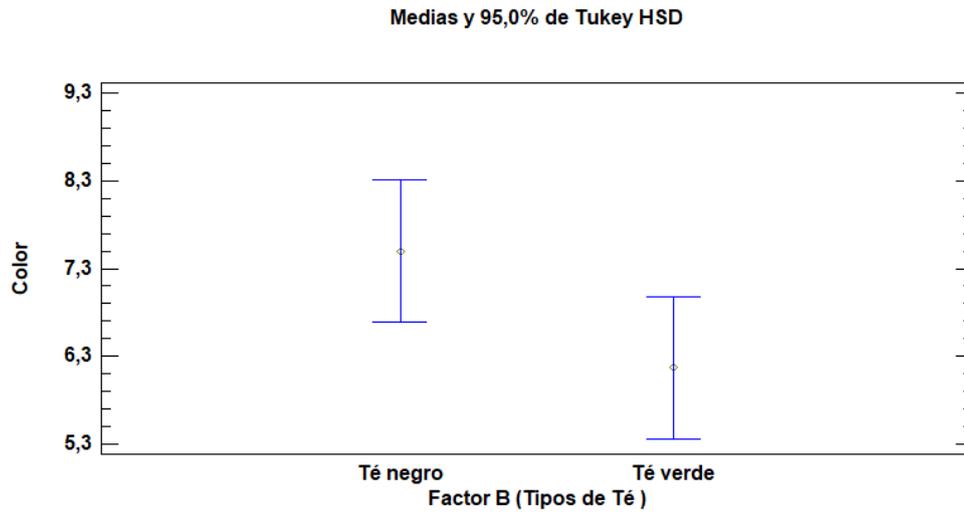
1



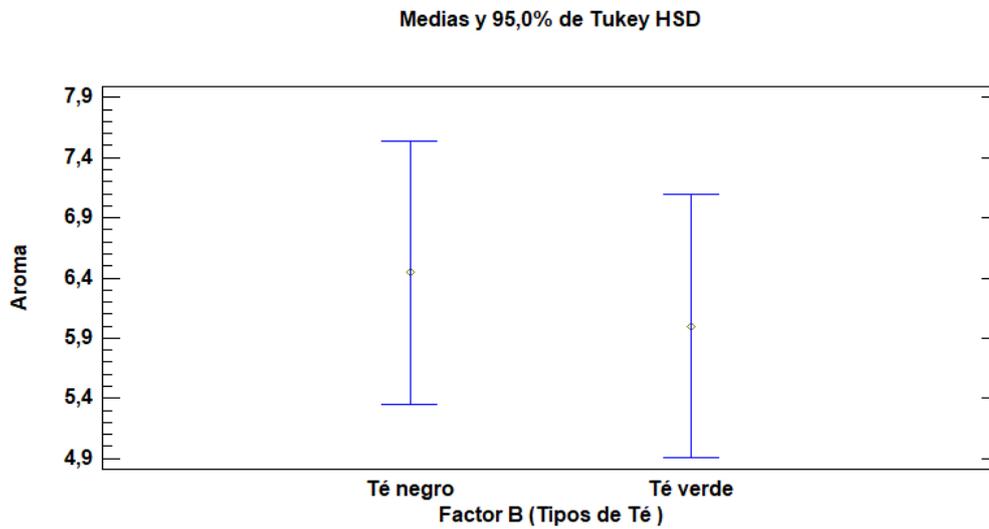
2



3



4

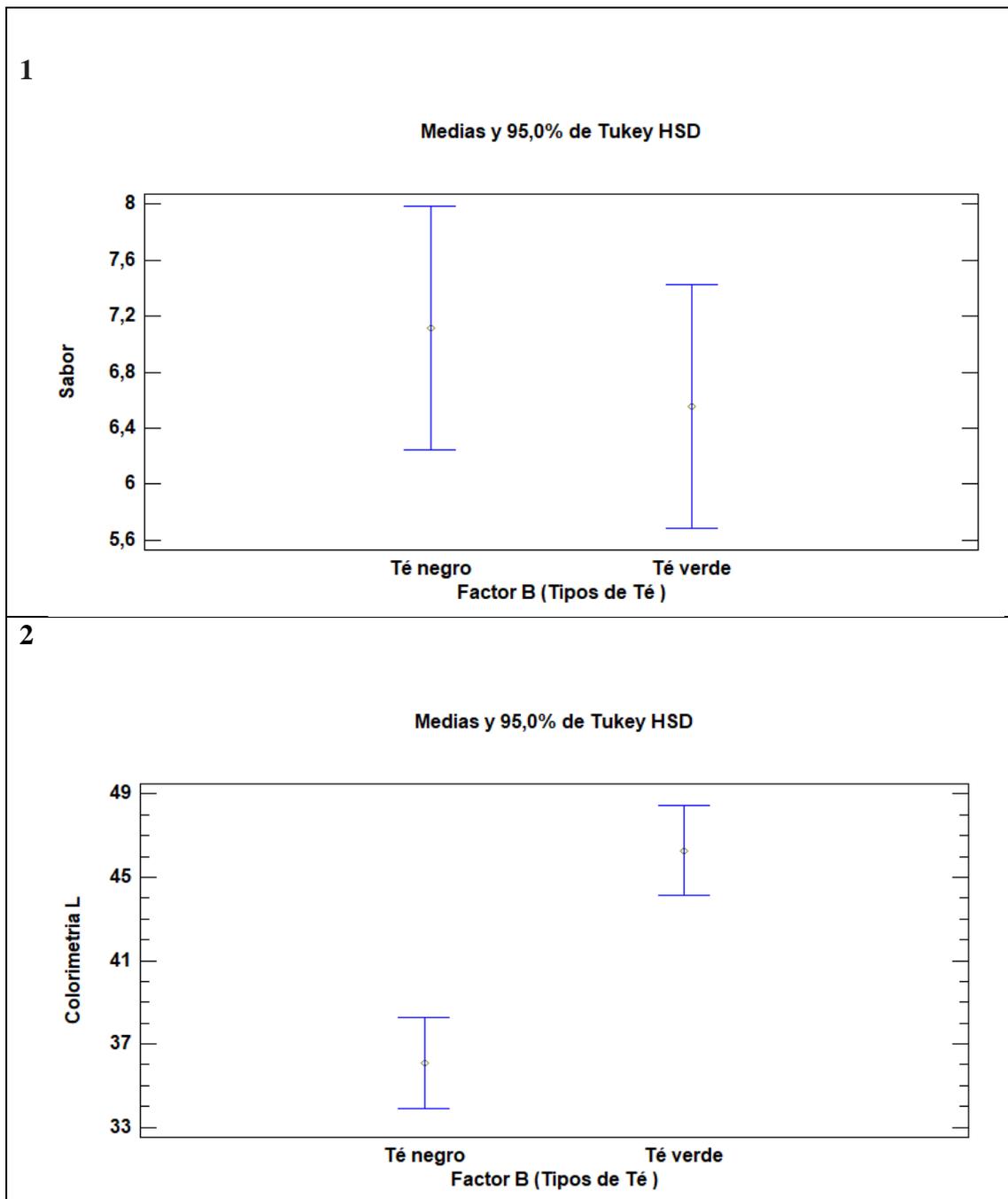


Fuente: Autor.

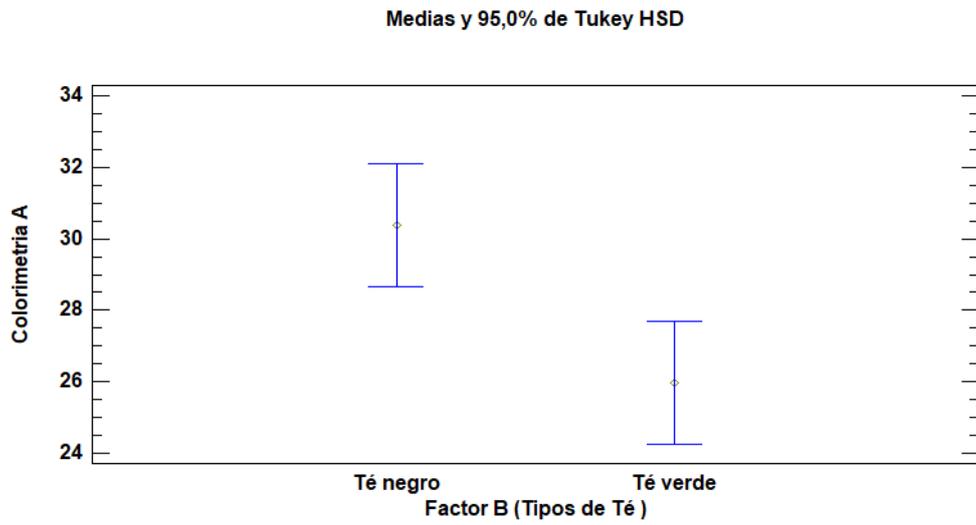
El gráfico 8, muestra diferencia significativa para la transmitancia el valor mayor estuvo en $b_0 = \text{té verde}$ fue de 36, y en $b_1 = \text{té negro}$ fue de 6, en cuanto a la apariencia el valor más elevado se lo encontró en $b_0 = \text{té verde}$ fue de 8.10, y el mínimo en $b_1 = \text{té negro}$ fue de 6.8, en cuanto al color el valor más elevado se lo encontró en $b_1 = \text{té negro}$ fue de 7.43,

y el menor en b_0 = té verde fue de 6.1. En cuanto al aroma el valor mayor se lo encontró en b_1 = té negro fue de 6.5, y el menor en b_0 = té verde fue de 6.0.

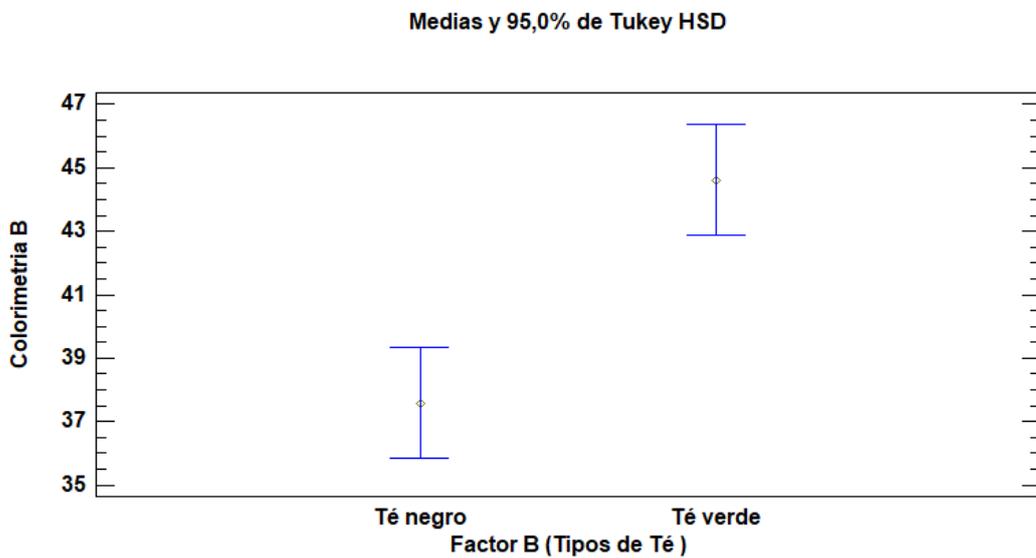
Gráfico 9. Resultados de las diferencias de medias entre las variedades de té utilizadas en la prueba de significación de Tukey de los análisis físicoquímicos ($P < 0.05$). 1 Sabor, 2 Colorimetría color L, 3 Colorimetría color A, 4 Colorimetría color B.



3



4



Fuente: Autor.

Respecto al gráfico número 9 en cuanto al sabor, el valor más alto se encontró en $b_1 =$ té negro fue de 7.1, y el menor en $b_0 =$ té verde fue de 6.5, respecto a la colorimetría en el color L el valor mayor fue hallado en $b_0 =$ té verde fue de 46 y el menor en $b_1 =$ té negro fue de 36.

Respecto a la colorimetría en el color A el valor más alto fue encontrado en b_0 = té verde fue de 30.5 y el menor en b_1 = té negro fue de 25.8, luego en el color B el valor mayor se lo encontró en b_1 = té negro fue de 44.5, y el menor en b_0 = té verde fue de 37.5.

4.1.2.3. Tablas de comparación de medias del factor A (Concentraciones de mucílago), factor B (Tipos de té utilizados), interacción AxB.

Tabla 23. Tabla de Medias del Factor “A” concentraciones de mucílago.

Factor “A”	pH	Acidez	°Brix	Densidad	°GL	Turbidez	Absorbancia	Transmitancia
15%	3.55 c	0.08 a	1.77 a	0.98 a	0.97 a	10.57 a	0.86 a	16.93 a
20%	3.49 b	0.12 b	2.87 b	1.01 b	1.68 b	12.55 a	0.77 a	35.6 ab
30%	3.36 a	0.14 c	3.05 b	1.02 b	1.58 b	10.15 a	0.87 a	15.52 a

Fuente: Autor.

La tabla 23 muestra la diferencia entre medias establecidas por la prueba de significación de tukey, en la variable pH el valor más alto se encontró en a_0 = Concentración al 15% con un valor de 3.55, en la Acidez el valor mayor se encontró en a_2 = Concentración de 30% con un valor de 0.14, en los °Brix el valor más elevado estuvo en a_2 = Concentración al 30% con un valor de 3.05, con respecto a la densidad el valor más alto fue encontrado en a_2 = Concentración al 30% con un valor de 1.02, en los °GL el valor más alto estuvo en a_1 = Concentración al 20% fue de 1.68, en cuanto a la turbidez el valor mayor se encontró en a_1 = Concentración al 20% fue de 12.55, en la Absorbancia el mayor valor fue encontrado en a_2 = Concentración al 30% fue de 0.87, en cuanto a la transmitancia el valor más alto fue hallado en a_1 = Concentración al 20% fue de 35.6.

Tabla 24. Tabla de Medias del Factor “B” tipos de té utilizados

Factor “B”	pH	Acidez	°Brix	Densidad	°GL	Turbidez	Absorbancia	Transmitancia
Té verde	3.26 a	0.13 b	2.48 a	1.01 b	1.36 a	13.72 b	0.53 a	37.79 b
Té negro	3.66 b	0.1 a	2.64 b	1 a	1.45 b	8.46 a	1.14 b	7.58 a

Fuente: Autor.

La tabla 24 muestra la diferencia entre medias establecidas por la prueba de significación de tukey, en el pH el valor más alto se encontró en b_1 = té negro con un valor de 3.66, en cuanto a la Acidez el mayor valor fue hallado en b_0 = té verde fue de 0.13, en cuanto a los °Brix el valor más alto fue encontrado en b_1 = té negro fue de 2.64, en cuanto a la densidad el mayor valor se obtuvo en b_0 = té verde fue de 1.01, en cuanto a los °GL el mayor valor se encontró en b_1 = té negro con un valor de 1.45, en cuanto a la turbidez el mayor valor estuvo en b_0 = té verde fue de 13.72, con respecto a la absorbancia el mayor valor se obtuvo en b_1 = té negro fue de 1.14, y en la transmitancia el mayor valor estuvo en b_0 = té verde fue de 37.79.

Tabla 25. Tabla de Medias de la interacción AxB

Interacción AxB	pH	Acidez	°Brix	Densidad	°GL	Turbidez	Absorbancia	Transmitancia
15% + Té verde	3.38 c	0.07 a	1.83 a	1.01 b	1.01 a	13.66 bc	0.60 a	25.87 a
20% + Té verde	3.26 b	0.14 d	2.33 b	1.01 bc	1.28 b	15.24 c	0.35 a	64.63 b
30% + Té verde	3.14 a	0.18 e	3.27 c	1.01 bc	1.80 c	12.27 abc	0.65 a	22.87 a
15% + Té negro	3.71 e	0.09 b	1.70 a	0.96 a	0.94 a	7.48 a	1.13 b	8.0 a
20% + Té negro	3.71 e	0.09 b	3.77 d	1.02 c	2.07 d	9.86 abc	1.20 b	6.57 a
30% + Té negro	3.58 d	0.11 c	2.47 b	1.01 b	1.36 b	8.04 ab	1.09 b	8.17 a

Fuente: Autor.

La tabla 25 muestra la diferencia entre medias establecidas por la prueba de significación de tukey, entre las interacciones AxB, en el pH el valor más alto se encontró en $a_0 b_1$ = (Concentración al 15%) y (té negro) con un valor de 3.71, en cuanto a la Acidez el mayor valor fue hallado en $a_2 b_0$ = (Concentración al 30%) y (té verde) fue de 0.18, en cuanto a los °Brix el valor más alto fue encontrado en $a_1 b_1$ = (Concentración al 20%) y (té negro) fue de 3.77, en cuanto a la densidad el mayor valor se obtuvo en $a_1 b_1$ = (Concentración al 20%) y (té negro) fue de 1.02, en cuanto a los °GL el mayor valor se encontró en $a_1 b_1$ = (Concentración al 20%) y (té negro) un valor de 2.07, en cuanto a la turbidez el mayor valor estuvo en $a_1 b_0$ = (Concentración al 20%) y (té verde) fue de 15.24, con respecto a la absorbancia el mayor valor se obtuvo en $a_1 b_1$ = (Concentración al 20%) y (té negro) fue de 1.20, y en la transmitancia el mayor valor estuvo en $a_1 b_0$ = (Concentración al 20%) y (té verde) fue de 64.63.

4.1.2.4. Resultados con respecto a la bebida fermentada, en la interacción AxB (Concentración de mucílago y Variedades de té) de los análisis microbiológicos.

Tabla 26. Análisis microbiológicos.

Factor AxB	Coliformes Totales		Microorganismos Totales	
	Salmonella (UFC) (Valor obtenido)	E. Coli (UFC) (Valor obtenido)	Bacterias (UFC) (Valor obtenido)	Levaduras (UFC) (Valor obtenido)
Té Negro + 30%	< 5 UFC/g (0)	< 5 UFC/g (0)	10 ⁶ UFC/g (0)	10 ⁶ UFC/g (1.28 x 10 ⁶ Colonias)
Té Negro + 20%	< 5 UFC/g (0)	< 5 UFC/g (0)	10 ⁶ UFC/g (0)	10 ⁶ UFC/g (0.74 x 10 ⁶ Colonias)
Té Negro + 15%	< 5 UFC/g (0)	< 5 UFC/g (0)	10 ⁶ UFC/g (0)	10 ⁶ UFC/g (0.51 x 10 ⁶ Colonias)
Té Verde + 30%	< 5 UFC/g (0)	< 5 UFC/g (0)	10 ⁶ UFC/g (0)	10 ⁶ UFC/g (1.09 x 10 ⁶ Colonias)
Té Verde + 20%	< 5 UFC/g (0)	< 5 UFC/g (0)	10 ⁶ UFC/g (0)	10 ⁶ UFC/g (0.64 x 10 ⁶ Colonias)
Té Verde + 15%	< 5 UFC/g (0)	< 5 UFC/g (0)	10 ⁶ UFC/g (0)	10 ⁶ UFC/g (0.37 x 10 ⁶ Colonias)

Fuente: Autor.

La tabla 26 muestra los resultados obtenidos luego del conteo de Coliformes totales para la interacción AxB, donde no se encontró presencia en ninguna interacción, demostrando así que el producto está en perfectas condiciones, en cuanto a los microorganismos totales no se encontró presencia en lo que respecta a las bacterias, en cuanto a las levaduras se mostró que en la interacción a_2b_1 = (té negro + 30% de concentración) se encontró el valor más alto 141 Colonias, y el menor en la interacción a_0b_0 = (té verde + 15% de concentración) con 41 Colonias.

4.2. Discusión de resultados.

pH

En los resultados expresados se obtuvo en a_0 = (Concentración de mucílago 15%) 3.58, en a_1 = (Concentración de mucílago 20%) 3.48, en a_2 = (Concentración de mucílago 30%) 3.34, valores que se asemejan a los obtenidos por (Maldonado Jibaja, 2018) [39], en su estudio “Elaboración de una bebida fermentada a base de quínoa (*Chenopodium quínoa*)” los cuales fueron de 3.73 a 3.54, donde explica que los alimentos de procedencia animal poseen una alta capacidad amortiguadora (que ayuda a mantener un pH estable) mientras que los alimentos de procedencia vegetal no. En el estudio efectuado por (Arguedas

Patricia, 2013) “Definición del proceso de elaboración de una bebida fermentada a partir de pulpa del café (broza)”, el pH en esta investigación es superior a pesar que en procesos fermentativos el café es un poco más ácido lo que permite desdoblarse mejor los azúcares, mientras que en nuestra investigación el pH se encuentra en 3.58 y permite acelerar el proceso fermentativo [40]. En la investigación realizada por (Sánchez María, López Clementina, 2010) [41]. “Estudio preliminar del Axokot, bebida tradicional fermentada, bajo una perspectiva transdisciplinaria” se obtuvo un pH en la bebida final de 4, valor que se ajusta a los obtenidos en nuestro estudio dando un sabor ligeramente ácido a la bebida.

°Brix

Referente al factor A (Concentraciones de mucílago %) se obtuvo en a_0 = (Concentración de mucílago al 15%) un valor de 1.72, en a_1 = (Concentración de mucílago al 20%) un valor de 2.94, y a_2 = (Concentración de mucílago al 30%) un valor de 2.90, estos valores fueron comparados con los obtenidos por (C. Mamani, R, 2018) [42], en su investigación “Evaluación de la actividad antioxidante y polifenoles totales de una bebida fermentada a base de betarraga (*Beta vulgaris l.*) De la variedad globe dark” los cuales fueron de 7.3 a 7.5, en donde resalta que el contenido de azúcares es importante en la fermentación, debido a que la levadura del vino (*Saccharomyces cerevisiae*) se alimenta de la glucosa y la fructuosa. En la investigación realizada por (Del Roció, Narcisa; Erazo, Freddy, 2021) [43] “Elaboración de jugo con tres diferentes frutas, adicionando el 50% de cultivo de hongos tibetanos” obtienen valores de 6.80 a 8 ° esto debido a que utilizan jugos de fruta puros de pulpa.

Acidez

En cuanto al factor A (Concentraciones de mucílago %) se obtuvieron los siguientes resultados a_0 = (Concentración de mucílago al 15%) un valor de 0.072%, en a_1 = (Concentración de mucílago al 20%) un valor de 0.112%, y a_2 = (Concentración de mucílago al 30%) un valor de 0.136%, a diferencia de los estudios realizados por (Velázquez, López, 2018) [44], y (T. Química, 2019) [45], donde se expone una acidez de 0.60% siendo estos valores mayores a los resultados obtenidos en el presente estudio. En el estudio realizado por (Falcon, Paula; Aguirre, Elza, 2021) [46], “Elaboración y caracterización de una bebida fermentada elaborada con el fruto de capulí (*Prunus*

serotina) y miel de abeja,” mostró variaciones de la acidez desde 0.5 a 0.72% esto debido a que el grado de dilución de la pasta de capulí y el % de mosto de miel de abeja tienen un efecto en la velocidad de fermentación.

Densidad

En los resultados expresados se obtuvo en a_0 = (Concentración de mucílago al 15%) un valor de 0.982, en a_1 = (Concentración de mucílago al 20%) un valor de 1.015, y a_2 = (Concentración de mucílago al 30%) un valor de 1.012, valores que se asemejan a los obtenidos por (Rodríguez, Villacis, 2017) [47], en su estudio “Desarrollo de una bebida fermentada de suero con la adición de jugo de Aloe vera y pulpa de fruta” que fueron de 1.024. Con respecto al estudio realizado por (Arteaga, Rudyard; Mendoza, Freddy, Vargas, Plinio, 2019) [48], “Monitoreo del proceso fermentativo de cuatro licores de frutas (*Passiflora edulis*, *Citrus sinensis*, *Citrus nobilis* y *Citrus máxima*)” mostró valores de densidad desde 1.041 a 1.098, esto debido a que al convertir el azúcar en alcohol el valor de la densidad disminuye, estos valores son muy similares a los obtenidos en nuestra investigación.

Turbidez

En cuanto a la turbidez se mostraron los siguientes resultados en el factor A, en a_0 = (Concentración de mucílago al 15%) un valor de 10.4 NTU, en a_1 = (Concentración de mucílago al 20%) un valor de 12.4 NTU, y a_2 = (Concentración de mucílago al 30%) un valor de 10.0 NTU, según la norma (INEN 971) [49], los valores de turbidez deben ser un máximo de 40 NTU, quiere decir que los resultados presentados están dentro del límite. En la investigación realizada por (Vásquez, Mendivez, Claudia; Medina, Minchon, Carlos, 2010) [50], “Viscosidad cinemática y turbidez optimizadas en jugo mixto de “poro poro” (*Passiflora mollísima*) y “caña de azúcar” muestra resultados de 230.5 NTU, esto debido a que es una bebida mixta fermentada de alta concentración.

Sedimentación

Para la sedimentación se obtuvieron los siguientes resultados en el factor A, en a_0 = (Concentración de mucílago al 15%) un valor de 0.26 g, en a_1 = (Concentración de mucílago al 20%) un valor de 0.20 g, y a_2 = (Concentración de mucílago al 30%) un valor de 0.185 g, valores que se asemejan con los obtenidos por (Torres, Juliana, 2008) [51], en su estudio de “Desarrollo y optimización de una metodología analítica para la determinación de sedimento en bebida de mesa derivada del cacao” en el cual menciona que la metodología estudiada proporciona una respuesta diferenciable para cada una de las muestras en las condiciones de optimización y, por tanto, puede ser aplicada como prueba rutinaria en control de calidad.

Grados Alcohólicos (°GL)

Referente al factor A, en los grados alcohólicos (°GL) se obtuvieron los siguientes resultados, en a_0 = (Concentración de mucílago al 15%) un valor de 0.89 °GL, en a_1 = (Concentración de mucílago al 20%) un valor de 1.61 °GL, y a_2 = (Concentración de mucílago al 30%) un valor de 1.58 °GL, según el estudio realizado por (Pascual, Pastor, 2000) [52] una bebida fermentada no alcohólica debe estar por debajo del 1%, lo cual se cumple en la presente investigación en a_0 = (Concentración de mucílago al 15%). En el estudio realizado por (Ortiz, Wscary; Madrigal, Laura, 2018) [53]. “Aprovechamiento del lactosuero residual de empresas productoras de queso en la región norte de colima y sur de Jalisco para la elaboración de una bebida fermentada de bajo grado alcohólico” presentaron resultados de 4.5 a 6%, esto debido a que agregaron levadura a partir del 7mo día de fermentación natural.

Absorbancia y Transmitancia

Los resultados obtenidos en cuanto a la Absorbancia y Transmitancia para el factor A, fueron los siguientes, en a_0 = (Concentración de mucílago al 15%) un valor de A: 0.86 y T: 16, en a_1 = (Concentración de mucílago al 20%) un valor de A: 0.77 y T: 36, y a_2 = (Concentración de mucílago al 30%) un valor de A: 0.88 y T: 14, en cuanto a la absorbancia, (Robles, 2021) [54] muestra que en su mejor tratamiento en su estudio de “Determinación de parámetros de fermentación para la elaboración de kombucha usando una población mixta de microorganismos llamado fermento de té” su valor es de 0.735,

valor que se asemeja mucho a los obtenidos en la presente investigación. En la investigación realizada por (Bartolo, Luis; Cabellos, Julissa, 2013) [55]. Efecto del vacío en la absorbancia y el grado alcohólico en dos tipos de “Chicha de Jora”. La absorbancia inicial para la CJB, a una longitud de onda de 680 nm, fue de 1,833; mientras que, para la CJO, a la misma longitud de onda fue de 1,942, valores que se asemejan mucho a los obtenidos en la presente investigación.

Análisis Microbiológicos

En lo que respecta a nuestros tratamientos estudiados no se encontró presencia de coliformes totales, ni presencia de bacterias dañinas lo cual eleva la inocuidad del producto final y le da una mayor seguridad al consumidor, en cuanto a las levaduras, se encontraron en cada uno de los tratamientos siendo estas partes fundamentales del proceso de fermentación y actuando como pro bióticos para mejorar la calidad y efectos de la bebida fermentada, para esto nos basamos en la norma INEN 2395; 2011. En la investigación realizada por (León, Dante Israel; Sedrac Méndez, Daniel, 2012) [56]. “Análisis bromatológico y aislamiento de microorganismos con potencial probiótico del pulque” El pulque es el resultado de la fermentación del aguamiel de agave. Encontró presencia de microorganismos y deferentes tipos de levaduras y bacterias, explica que se aislaron un total de ocho cepas a partir de técnicas convencionales de Microbiología, de estas ocho cepas, dos pueden tener potencial probiótico, un bacilo Gram positivo y una levadura.

Según el estudio realizado por (Gavilanes, Pablo; Zambrano, Ángela, 2017) [57]. “Evaluación de una bebida láctea fermentada novel a base de lactosuero y harina de camote”, indica que no encontraron presencias de microorganismos en su bebida lo que le da la inocuidad necesaria para el consumo de esta, en cuanto a levaduras encontraron presencias en menor medida estas propias del proceso de fermentación.

Análisis Sensoriales (Apariencia, Color, Olor y Sabor)

En cuanto a los análisis o pruebas sensoriales de nuestra bebida fermentada obtuvimos un excelente resultado en el tratamiento $a_1 b_1 =$ (Concentración al 20%) y (té negro), el cual obtuvo los valores más altos de aceptabilidad en los cuatro parámetros; Aroma, Color,

Olor y Sabor. En el estudio realizado por (Calvario-Palma, Ángeles; Cruz-Hernández, Javier, 2018) [58]. “Caracterización nutrimental y sensorial de una Bebida elaborada a base de amaranto, muicle y Berries”. Donde demuestra que la fórmula Beb2 (Harina de amaranto) obtuvo la mejor aceptación, por presentar mayores porcentajes de apreciación en mejor sabor, así como la más alta calificación en el valor de la escala hedónica (5 me gusta mucho) en olor y textura, en el análisis sensorial. En la investigación realizada (Marulanda, Mateo; Granados, Clemente; García, Luis Alberto, 2016) [59] “Análisis sensorial y estimación fisicoquímica de vida útil de una bebida tipo yogur a base de lactosuero dulce fermentada con *Streptococcus Salivarius ssp. Thermophilus* y *Lactobacillus Casei ssp. Casei*” nos dice que la muestra M1, formulada con menor concentración de sólidos, mostró mayor preferencia en cuanto al aroma y dulzor, pero la menor aceptación en cuanto a su acidez, textura y su parecido al yogur comercial.

En el estudio realizado por (Acevedo, Iria; Garcia, Oscar; Contreras, Jorge; Acevedo, Ingrid, 2009) [60] . “Elaboración y evaluación de las características sensoriales de un yogurt de leche caprina con jalea semifluida de piña” nos demuestra que en la evaluación sensorial del yogurt con la jalea se encontró que los panelistas mostraron aceptación en cuanto color, olor, sabor y textura, por lo que se concluye que el yogurt de leche caprina con jalea semifluida de piña puede ser utilizado en la comercialización de leches fermentadas.

V. CAPÍTULO
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

En referencia al tema principal del estudio podemos decir que al reemplazar el azúcar con mucílago de cacao la concentración que mejores características físicas y químicas presentó es de 20% esta fue muy favorable para las características propias de la bebida, mejorando su composición al tener otro ingrediente natural, y beneficiando al consumidor con una bebida más reforzada por el contenido de levaduras beneficiosas del mucílago.

En referencia a el tiempo de fermentación de la bebida en un rango de 7 días permite incrementar la acidez de la bebida lo que permite obtener un producto con características físicas y químicas propias de la bebida (scooby) al utilizar una concentración al 20% de mucilago en combinación con té negro, esto se da por la presencia de las levaduras que ayudan a la fermentación actúan mejor en ambientes totalmente oscuros no así en soluciones claras como el té verde.

En cuanto al tipo de té aplicado en la investigación el que mejores resultados obtuvo fue el té negro con mayor aceptabilidad, ya que se demostró mediante los análisis físicos, químicos, microbiológicos y sensoriales del producto.

5.2. Recomendaciones.

Para posteriores estudios en los que se utilice como base el mucílago de cacao, se recomienda extraerlo y tamizarlo al momento en que vaya a ser utilizado de forma directa, luego pasteurizarlo, esto debido a que su alto contenido de levaduras en su mayoría, accionan de forma inmediata y se puede empezar a fermentar antes de poder utilizarlo y esto traería variaciones en el producto final.

Respecto a la fermentación lo más adecuado es realizarlo en un solo recipiente de preferencia de vidrio o cristalería, luego de que haya terminado el proceso de fermentación proceder a envasar en botellas individuales.

Al ser el té negro el que proporciono las mejores características del producto y en cuanto a la aceptabilidad fue el que tuvo mayor acogida, se recomienda utilizarlo en posteriores procesos de bebidas parecidas o similares a la realizada en esta investigación.

Utilizar la concentración de mucílago en una proporción de 30% o cercana a esta, ya que fue la que resaltó más las características propias del producto.

VI. CAPÍTULO
BIBLIOGRAFÍA

Bibliografía.

- [1] Y. Arteaga Estrella, “Investigación sobre el desperdicio del mucilago de cacao en el cantón Naranjal (Guayas) mucilago waste research in el naranjal city (guayas province),” Milagro, Oct. 2013. [Online]. Available: <http://www.anecacao.com/index.php/es/asistencia-tecnica/articulos-tecnicos.html>
- [2] D. Laavanya, S. Shirkole, and P. Balasubramanian, “Current challenges, applications and future perspectives of SCOBY cellulose of Kombucha fermentation - ScienceDirect,” *El Sevier*, vol. 295, May 2021.
- [3] V. T. Diaz Silva, “Registro Nacional de Trabajos de Investigación_ Nueva bebida análoga a la kombucha hecha de molle, matico y cedrón_ perfiles bioactivo y sensorial,” *Renati*, Oct. 2020.
- [4] Illana C, “1. El hongo Kombucha,” *Bol. Sol. Micol.*, vol. 31, pp. 269–272, 2007.
- [5] E. Francisco Javier Vargas Mora and J. Homero Vargas López, “UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS,” Ambato, 2011.
- [6] D. M. Sánchez-Olaya, W. Rodriguez Perez, D. F. Castro Rojas, and E. Trujillo, “Respuesta agronómica del mucilago (*Theobroma cacao* L.) sobre el cultivo de maíz (*Zea mays* L.),” *Ciencia en Desarrollo*, vol. 10, no. 2, pp. 43–58, Jul. 2019, doi: 10.19053/01217488.v10.n2.2019.7958.
- [7] F. Yan, Z. Cao, F. Xie, and J. Lin, “Ciência e Tecnologia de Alimentos Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage,” *Food Sci. Technol, Campinas*, vol. 34, no. 1, pp. 123–126, 2014, [Online]. Available: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=395940094018>
- [8] S. Tamara, M. Morán, I. Rossy, R. Castro, and M. Sc, “UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO FACULTAD CIENCIAS PECUARIAS CARRERA INGENIERÍA EN ALIMENTOS Unidad de Integración Curricular previo a la obtención del título de Ingeniera en Alimentos,” Mocache, 2019.

- [9] Betsabé Granda Castro and Laura Estupiñán Huila, “Investigación sobre la factibilidad para la producción de una bebida en base a la kombucha de té de guayusa (*Ilex guayusa*),” Guayaquil, Sep. 2019.
- [10] V. Galarza, A. P. Vizhñay, N. Jéssica, M. Tutor, I. Efrén, and A. Silva Gómez, “‘El Pseudo Fruto del Marañón (*Anacardium Occidentale*) para la Elaboración de una Kombucha’ (Trabajo de Titulación) AUTORES.” [Online]. Available: <https://secure.arkund.com/view/92022486-868744-402357#/>
- [11] I. Stefanie Michelle Bonilla Bermeo, “UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA CARRERA DE INGENIERÍA QUÍMICA PROYECTO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE: INGENIERO QUÍMICO TEMA: DISEÑO DE PROCESO DE BIORREFINERÍA PARA LA PRODUCCIÓN DE TÉ DE KOMBUCHA Y CARTÓN REFORZADO CON NANOCELULOSA BACTERIAL. AUTOR(ES): SOLIS POZO LILIANA GLORIA ZAMBRANO CHAGUAY JOSELYN MARCELA TUTOR,” Guayaquil, 2021.
- [12] V. da Olivares, M. las Torres, C. Izcalli, and E. de México, “Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Balance Comparativo de la microbiota obtenida del Hongo de Kombucha y su utilización en la elaboración de alimentos fermentados para Síndrome metabólico,” 2019.
- [13] D. I. Nereida Villa-Uvidia, M. I. Ángel Osorio-Rivera, and N. Yolanda Villacis-Venegas III, “Extracción, propiedades y beneficios de los mucílagos Ciencias técnicas y aplicadas Artículo de investigación Extracción, propiedades y beneficios de los mucílagos Extraction, properties and benefits of mucilages Extração, propriedades e benefícios das mucilagens,” *Extracción, propiedades y beneficios de los mucílagos*, vol. 6, no. 2, pp. 503–524, Apr. 2020, doi: 10.23857/dc.v6i2.1181.
- [14] C. Flores and M. Peñafiel, “Dialnet-Propiedades Bromatológicas Sensoriales Y Físicas De Yogu-7402114,” *Recimundo*, vol. 03, pp. 1342–1353, Apr. 2019.

- [15] C. De, Q. de Alimentos, Z. Jaramillo, G. Andrés, I. Milene, and F. Díaz Basantes, “UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS,” Quito, Sep. 2018.
- [16] Y. Mejía, J. Ortiz, D. Gonzales, L. Garcia, and X. Cifuentes, “Alternativa de biorremediación a partir de residuos de cacao en la obtención de hongos *Pleurotus ostreatus* con la implementación de un análisis multicriterio,” *Revista ION*, vol. 33, no. 1, Jan. 2020.
- [17] C. S. Molina-Cedeño, B. M. Pillco-Herrera, E. F. Salazar-Muñoz, B. D. Coronel-Espinoza, L. B. Sarduy-Pereira, and K. Diéguez-Santana, “Producción más limpia como estrategia ambiental preventiva en el proceso de elaboración de pasta de cacao. Un caso en la Amazonia Ecuatoriana,” *Industrial Data*, vol. 23, no. 2, pp. 59–72, Dec. 2020, doi: 10.15381/idata.v23i2.17640.
- [18] A. Fernandez, G. Hidalgo, and V. Velez, “Visor Redalyc - Elaboración de Licor Añejo con Almendras de Cacao Nacional (*Theobroma cacao* L.) residual de la clasificación para exportación,” *Portal Amelica* , vol. 4, no. 2, 2021.
- [19] M. Gomez, M. de Lima, and C. Reolon, “Aspectos tecnológicos de la kombucha, sus aplicaciones y la cultura simbiótica (SCOBY), y extracción de compuestos de interés_ una revisión de la literatura - ScienceDirect,” *El Sevier*, vol. 110, pp. 539–550, Apr. 2021.
- [20] R. Dantas, A. de Almeida, and R. Quiroz, “Kombucha_ Review - ScienceDirect,” *El Sevier*, vol. 22, Dec. 2020.
- [21] J. M. Leal, L. V. Suárez, R. Jayabalan, J. H. Oros, and A. Escalante-Aburto, “A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites,” *CYTA - Journal of Food*, vol. 16, no. 1, pp. 390–399, Jan. 2018, doi: 10.1080/19476337.2017.1410499.
- [22] J. R and V. Y, “Kombucha as a Functional Beverage - ScienceDirect,” *Academic Press*, vol. 11, pp. 413–446, 2019.
- [23] Martini Nathaly, “(PDF) Kombucha,” *Antencion primaria de salud*, vol. 10, pp. 93–94, Mar. 2018.

- [24] K. Jakubczyk, J. Kałduńska, J. Kochman, and K. Janda, “Perfil químico y actividad antioxidante de la bebida de kombucha derivada del té blanco, verde, negro y rojo,” *MDPI Antioxidantes Basilea*, vol. 5, p. 447, May 2020.
- [25] T. Lopez, “Descripción y distribución,” 2005.
- [26] E. J. A. Pérez and M. R. García-Galbis, “Efectos del té verde en el estado nutricional del ejercicio físico; revisión sistemática,” *Nutricion Hospitalaria*, vol. 32, no. 4, pp. 1417–1431, Sep. 2015, doi: 10.3305/nh.2015.32.4.9306.
- [27] T. Zannin, “Té verde_ 10 beneficios, propiedades (y cómo consumirlo) - Tua Saúde,” *Tua Saude Plantas Medicinales*, Nov. 2021.
- [28] L. Zapata and N. Aguilera, “2013-estudio-tenegro,” *Odecu*, Dec. 2013.
- [29] M. Belén and M. Cazar, “ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO FACULTAD DE SALUD PÚBLICA ESCUELA DE GASTRONOMÍA,” Riobamba, Nov. 2014.
- [30] L. Penelo, “Té negro_ propiedades, beneficios y valor nutricional,” *La Vanguardia*, Apr. 2021.
- [31] T. Hernandez, E. Rodriguez, and F. Sanchez, “El té verde ¿una buena elección para la prevención de enfermedades cardiovasculares_,” *ALAN Archivos latinoamericanos de nutricion* , vol. 54, no. 4, 2004.
- [32] R. B. Gil and J. Pedro López Pérez, “El estudio de la fermentación en el laboratorio de educación secundaria,” 2011.
- [33] H. J. Vázquez and O. Dacosta, “Fermentación alcohólica: Una variable para la producción de energía renovable a partir de desperdicios agrícolas. Alcoholic fermentation: An option for renewable energy production from agricultural residues,” Distrito Federal Mexico, 2007.
- [34] F. G. Orozco Olivarez, “Producción de ácido láctico por medio de fermentación anaerobia y su polimerización a partir de reacciones de apertura de anillo,” Yucatan , 2011.
- [35] K. Anabella Reyes, “CUANTIFICACIÓN DE VINAGRE OBTENIDO DE CÁSCARA DE PIÑA POR MEDIO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA Y

ACÉTICA, Y SU INCIDENCIA EN LA PRODUCTIVIDAD, EN UNA EMPRESA GUATEMALTECA,” 2015.

- [36] Y. María, D. L. Aguilar, -----María Daniella, and L. Aguilar, “CESIÓN DE DERECHOS DE AUTORIA,” Machala, 2015.
- [37] G. I. Alexandra Arciniega-Alvarado and R. I. Andrés Espinoza-León, “Optimización de una bebida a base del Mucílago del Cacao (*Theobroma cacao*), como aprovechamiento de uno de sus subproductos Optimización de una bebida a base del Mucílago del Cacao (*Theobroma cacao*), como aprovechamiento de uno de sus subproductos Optimization of a drink based on the Cocoa Mucilage (*Theobroma cacao*), as use of one of its by-products Otimização de uma bebida à base de Mucilagem de Cacau (*Theobroma cacao*), como uso de um de seus subprodutos,” vol. 6, pp. 310–326, doi: 10.23857/dc.v6i3.1286.
- [38] Q. -Ecuador, “INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN,” Quito, 2012.
- [39] R. Maldonado Jibaja, P. Carrillo Herrera, L. Ramírez Cárdenas, and F. Carvajal Larenas, “Elaboración de una bebida fermentada a base de quinoa (*Chenopodium quinoa*),” *Enfoque UTE*, vol. 9, no. 3, pp. 1–11, Sep. 2018, doi: 10.29019/enfoqueute.v9n3.329.
- [40] Arguedas Patricia, “Definición del proceso de elaboración de una bebida fermentada a partir de pulpa del café (broza),” *Tecnología en marcha*, vol. 39, pp. 38–49, 2013.
- [41] María Guadalupe Sánchez, Clementina Esmeralda López, Martha Flores Valade, and Ana Luisa Jofre Garfias, “Estudio preliminar del Axokot, bebida tradicional fermentada, bajo una perspectiva transdisciplinaria,” *Ciencia y Tecnología*, 2010.
- [42] C. Mamani, R. Para Optar, E. L. Título, and P. De, “EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y POLIFENOLES TOTALES DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE BETARRAGA (*Beta vulgaris* L.) DE LA VARIEDAD GLOBE DARK’ TESIS PRESENTADO POR LAS BACHILLERES: APAZA MAMANI, VERONICA SONIA,” Arequipa, 2018.

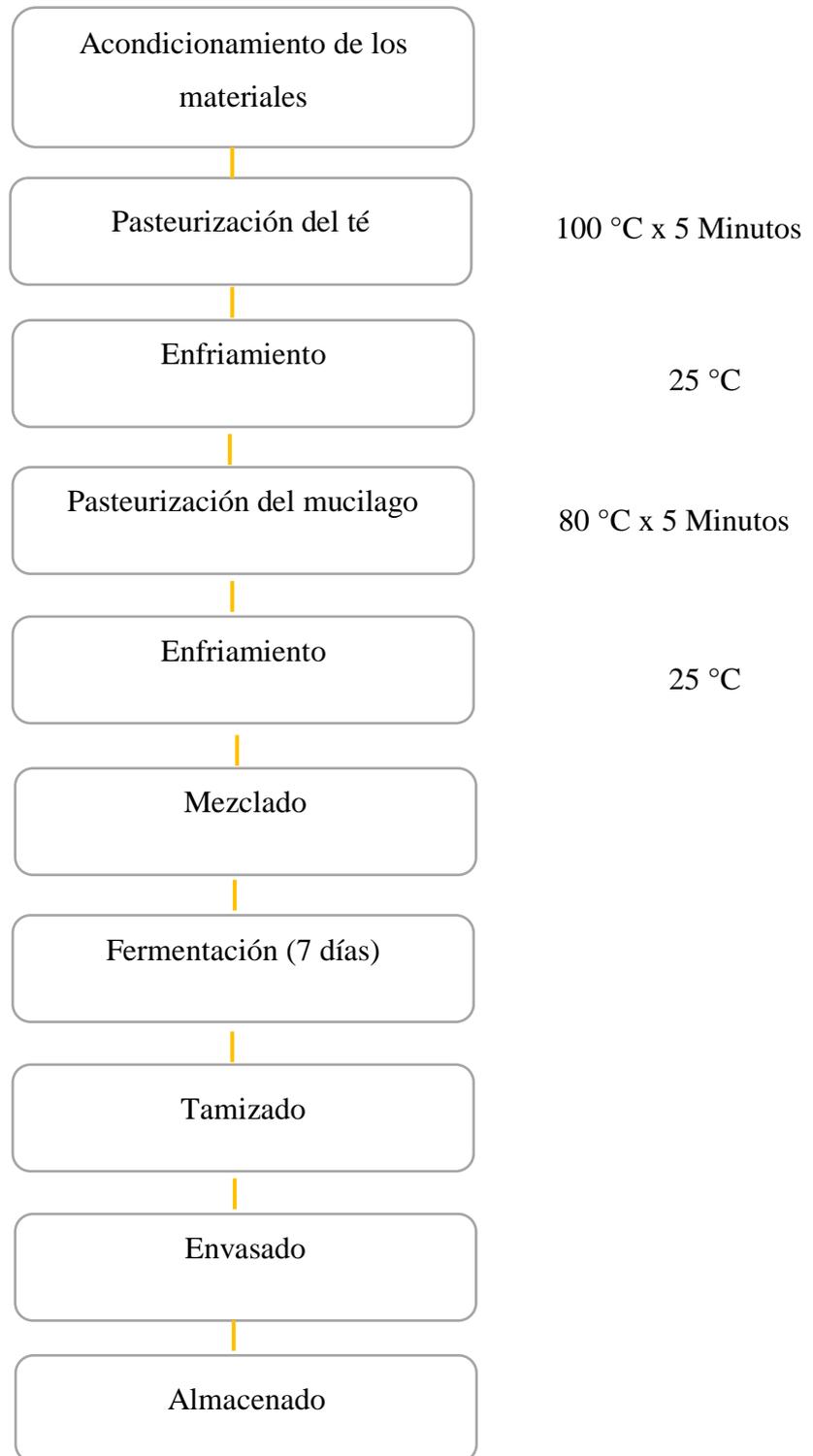
- [43] N. I. del Rocío Sánchez-Muyulema, M. Enrique Almeida-Guzmán III, and F. I. Patricio Erazo-Rodríguez, “Ciencias Técnicas y Aplicadas Artículo de Investigación,” vol. 66, pp. 459–478, 2022, doi: 10.23857/pc.v7i1.3488.
- [44] A. Velázquez-López, D. Covatzin-Jirón, M. D. Toledo-Meza, and G. Vela-Gutiérrez, “Bebida fermentada elaborada con bacterias ácido lácticas aisladas del pozol tradicional chiapaneco,” *CienciaUAT*, vol. 13, no. 1, p. 165, Jul. 2018, doi: 10.29059/cienciauat.v13i1.871.
- [45] T. Química, “Cómo citar el artículo Número completo Más información del artículo Proyecto académico sin fines de lucro, desarrollado bajo la iniciativa de acceso abierto,” vol. 39, no. 1, pp. 89–104, 2019, [Online]. Available: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=445558836007>
- [46] P. Falcon, E. Aguirre, A. Toscano, and E. Anate, “Elaboración y caracterización de una bebida fermentada elaborada con el fruto de capulí (*Prunus serotina*) y miel de abeja,” *Dom Ciencia*, vol. 7, no. 1, pp. 59–78, 2021, doi: 10.23857/dc.v7i1.1691.
- [47] D. H. Rodríguez-Villacis and A. Hernández-Monzón, “Desarrollo de una bebida fermentada de suero con la adición de jugo de Aloe vera y pulpa de fruta,” *Tecnología Química*, vol. 37, no. 1, Jan. 2017.
- [48] R. A. Arteaga Solórzano, F. A. Mendoza Rivadeneira, P. A. Vargas Zambrano, and R. L. Barre Zambrano, “Monitoreo del proceso fermentativo de cuatro licores de frutas (*Passiflora edulis*, *Citrus cinensis*, *Citrus nobilis* y *Citrus máxima*),” *Revista Arbitrada Interdisciplinaria Koinonía*, vol. 4, no. 8, p. 752, Jul. 2019, doi: 10.35381/r.k.v4i8.485.
- [49] Instituto Ecuatoriano de Normalización, “Inen 971”.
- [50] C. MENDÍVEZ VÁSQUEZ and C. MINCHÓN MEDINA, “Viscosidad cinemática y turbidez optimizadas en jugo mixto de ‘poro poro’ y ‘caña de azúcar,’” *UCV Scientia*, Jan. 2010.
- [51] T. M. O. S. Torres Juliana, “Desarrollo y optimización de una metodología analítica para la determinación de sedimento en bebida de mesa derivada del cacao,” *Scielo*, vol. 37, no. 2, Dec. 2008.

- [52] Pastor Pascual, Galvan Varo, and Fenollar Velda, “Contenido Alcoholico de las Bebidas ‘Sin Alcohol,’” *Adicciones*, vol. 12, no. 3, pp. 323–327, 2000.
- [53] Wscary Fabián Ortiz-Ávila, Jorge Alberto Cárdenas-Magaña, and Bernardo Gustavo Salazar-Aguilar, “Aprovechamiento del lactosuero residual de empresas productoras de queso en la región norte de colima y sur de jalisco para la elaboración de una bebida fermentada de bajo grado alcoholicos,” *Raximhai*, vol. 14, no. 3, Dec. 2018.
- [54] V. Robles, “UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURÍMAC,” Abancay, Aug. 2011.
- [55] L. Bartolo, J. Cabellos, and A. Gavidia, “Efecto del vacío en la absorbancia y el grado alcohólico en dos tipos de ‘Chicha de Jora,’” Trujillo, 2013.
- [56] D. O. Israel León-de la, D. Sedrac Méndez-Colín, D. Paola Rodríguez-Padilla, L. Puente-Hurle, and F. Isabel García-Sorrondegui Rosa Salgado-Brito, “Análisis bromatológico y aislamiento de microorganismos con potencial probiótico del pulque Bromatological analysis and isolation of microorganisms with probiotic potential from pulque,” Nov. 2012.
- [57] P. I. Gavilanes López, Á. María, Z. Zambrano, C. Fernanda, R. Rosado, and A. M. Peña, “Evaluación de una bebida láctea fermentada novel a base de lactosuero y harina de camote,” Manabi, 2018.
- [58] Á. Calvario-Palma, J. Cruz-Hernández, and L. Denisse Barroso-Bravo, “CARACTERIZACIÓN NUTRIMENTAL Y SENSORIAL DE UNA BEBIDA ELABORADA A BASE DE AMARANTO, MUICLE Y BERRIES NUTRITIONAL AND SENSORY CHARACTERIZATION OF A MUICLE BASED BEVE RAGE THAT COMBINES AMARANTO AND BERRIES Información del artículo,” 2019.
- [59] M. Marulanda, C. Granados, and L. Alberto García-Zapateiro, “Análisis sensorial y estimación fisicoquímica de vida útil de una bebida tipo yogur a base de lactosuero dulce fermentada con *Streptococcus Salivarius* ssp. *Thermophilus* y *Lactobacillus Casei* ssp. *Casei*,” 2016.
- [60] I. Acevedo Pons, O. García, J. Contreras, and I. Acevedo, “Elaboración y evaluación de las características sensoriales de un yogurt de leche caprina con jalea

semifluida de piña Development and sensory evaluation of the characteristics of a goats milk yogurt with pineapple jelly semifluid,” 2009.

VII. CAPÍTULO
ANEXOS

Anexo 1. Diagrama de proceso de elaboración de la bebida fermentada tipo Kombucha



Fuente: Autor.

Anexo 2. Análisis de °Brix



Refractómetro usado para lectura de los grados brix (°brix).

Fuente: Autor.

Anexo 3. Análisis de pH



pHMETRO usado para la lectura del pH. **Fuente:** Autor.

Anexo 4. Análisis de Densidad



Calculo de la densidad por el método del picnómetro.

Fuente: Autor.

Anexo 5. Análisis de la Acidez





Medición de la acidez titulable de la bebida fermentada.

Fuente: Autor.

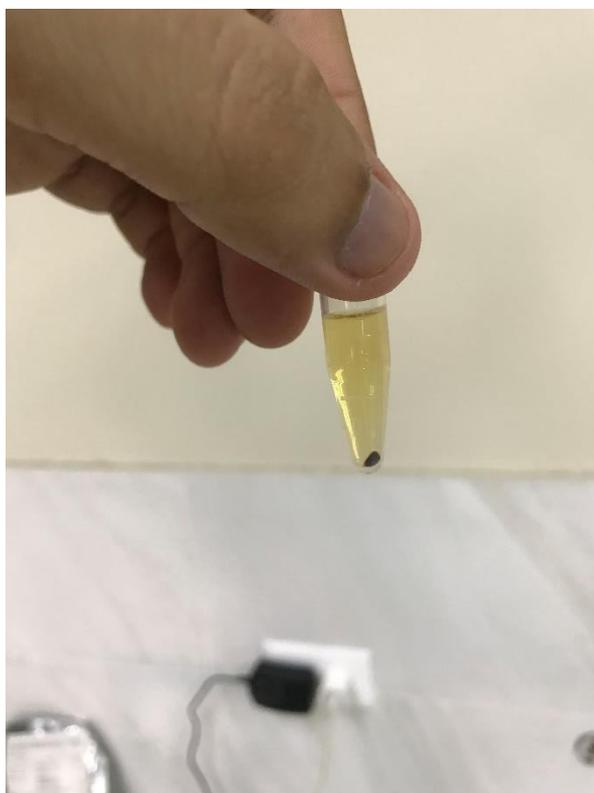
Anexo 6. Análisis de Turbidez de la bebida fermentada



Lectura de la turbidez de la bebida fermentada con el Turbidímetro.

Fuente: Autor.

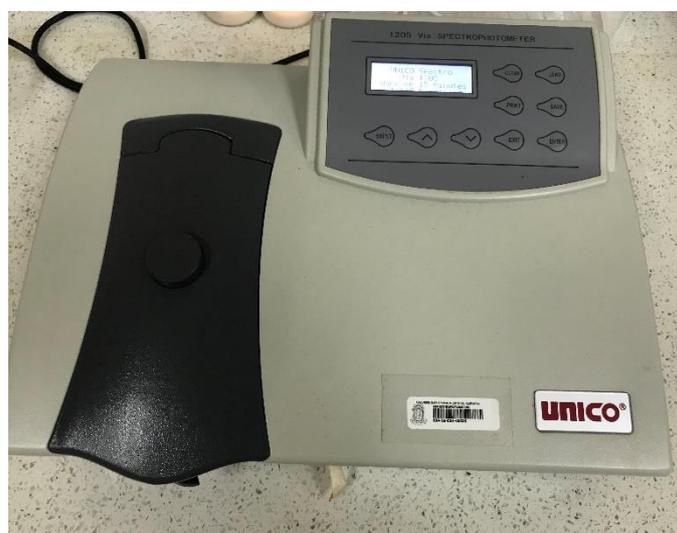
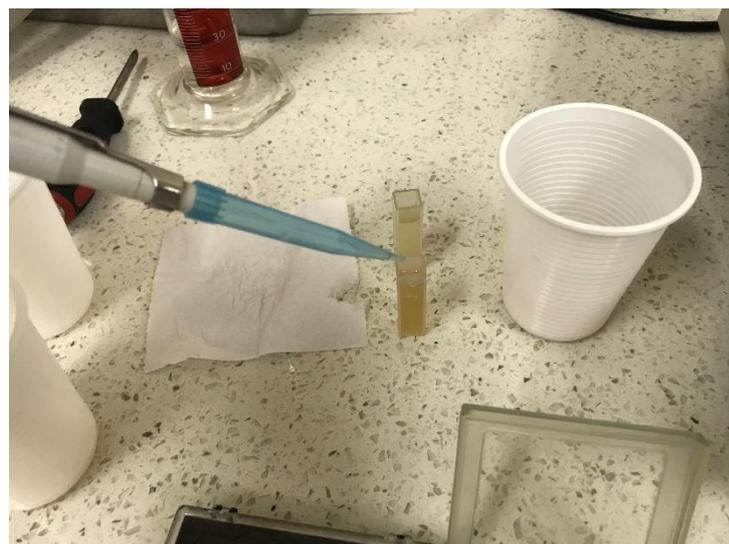
Anexo 7. Análisis de sedimentación



Lectura de la sedimentación utilizando la Centrifuga a 13000 rpm durante 5 minutos.

Fuente: Autor.

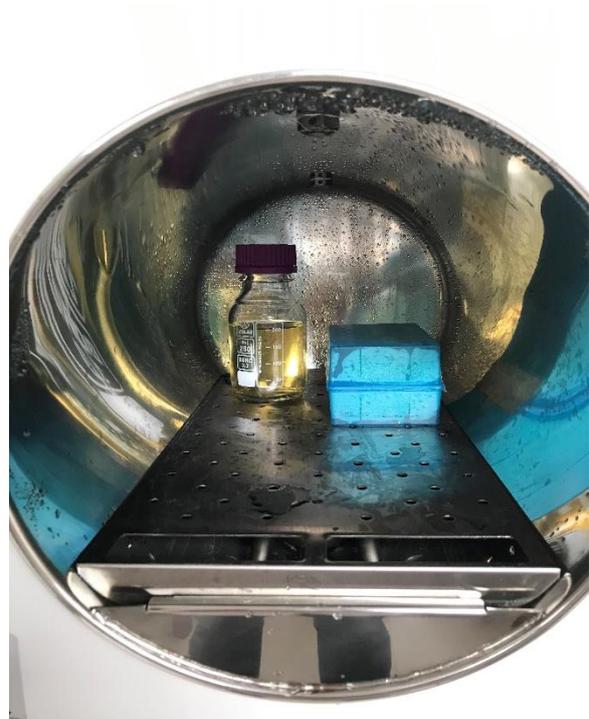
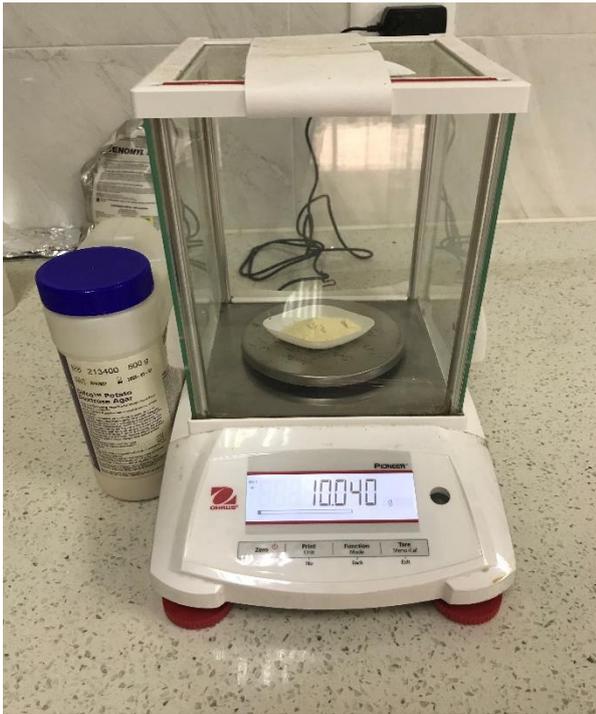
Anexo 8. Análisis de Absorbancia y Transmitancia



Lectura de la absorbancia y transmitancia por medio del espectrofotometro y celdas de cuarzo.

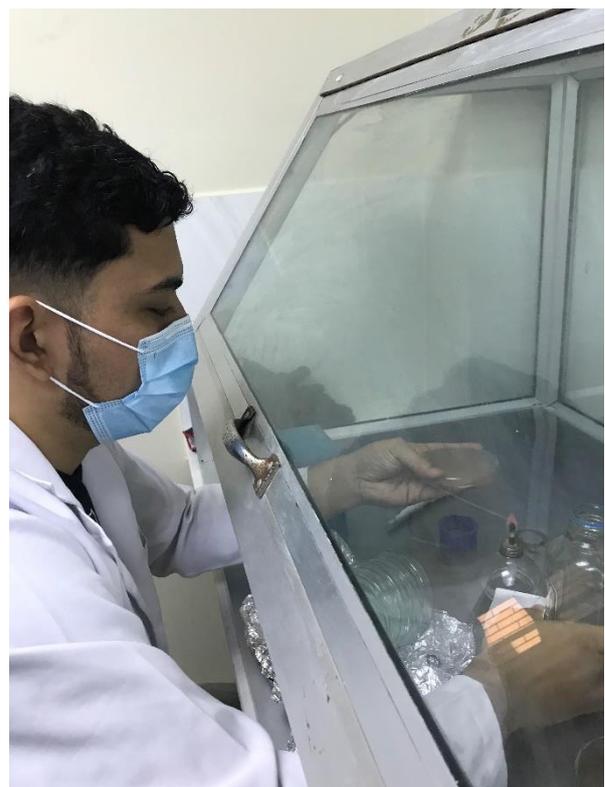
Fuente: Autor.

Anexo 9. Análisis microbiológicos de la bebida fermentada



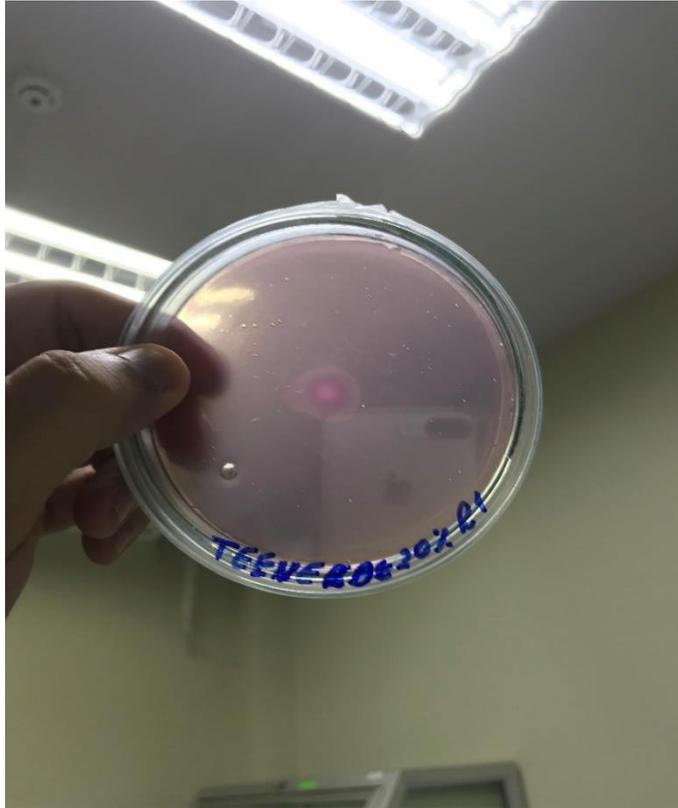
Preparación de la solución Agar para detectar microorganismos. Cocinado y desinfección del medio en la autoclave.

Fuente: Autor.



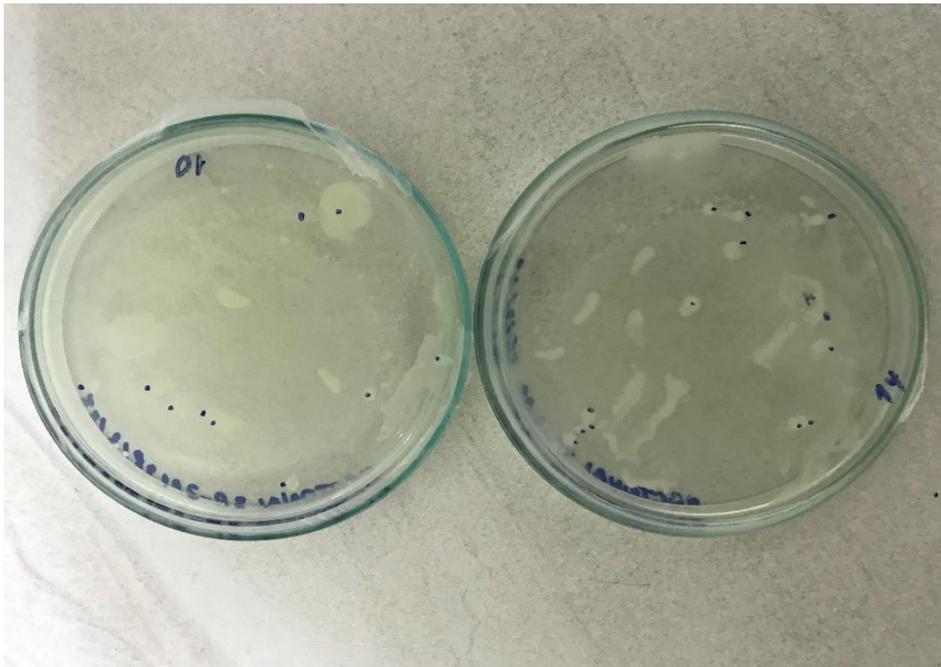
Adición de Agar con ayuda de una pipeta. Siembra de muestra de la bebida con ayuda de una pipeta.

Fuente: Autor.



Placa libre de contaminación luego de transcurridas 48h de la primera siembra.

Fuente: Autor.



Placa con colonias formadas de levaduras luego de 48h de la siembra, 10 y 14 colonias respectivamente.

Fuente: Autor.

Anexo 10. Producto final luego de realizar todos los análisis



Fuente: Autor.

Anexo 11. Prueba de aceptabilidad de la bebida.



Fuente: Autor.



Fuente: Autor.

Anexo 12. NORMA INEN usada de referencia



Quito – Ecuador

**NORMA
TÉCNICA
ECUATORIANA**

NTE INEN 1837
Segunda revisión
2016-09

BEBIDAS ALCOHÓLICAS. LICORES. REQUISITOS

ALCOHOLIC BEVERAGES. LIQUORS. REQUIREMENTS

DESCRPTORES: Bebidas alcohólicas, licores, licores de frutas, requisitos
ICS: 67.102.10

6
Páginas

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	BEBIDAS ALCOHÓLICAS LICORES REQUISITOS	NTE INEN 1837:2016 segunda revisión 2016-09
---	---	--

1. OBJETO

Esta norma establece los requisitos para los licores considerados aptos para el consumo humano.

2. REFERENCIA NORMATIVAS

Los siguientes documentos, en su totalidad o en parte, son referidos y son indispensables para su aplicación. En el caso de que existan referencias fechadas, solamente aplica la edición citada. Para referencias sin fecha, aplica la última edición del documento de referencia (incluyendo cualquier enmienda).

NTE INEN 338, *Bebidas alcohólicas. Definiciones*

NTE INEN 339, *Bebidas alcohólicas. Muestreo*

NTE INEN 340, *Bebidas alcohólicas. Determinación del grado alcohólico*

NTE INEN 358, *Bebidas alcohólicas. Determinación de azúcares totales por inversión*

NTE INEN 2014, *Bebidas alcohólicas. Determinación de productos congéneros por cromatografía de gases*

NTE INEN 1108, *Agua potable. Requisitos*

NTE INEN-CODEX 192, *Norma general del Codex para los aditivos alimentarios (MOD)*

NTE INEN 1933, *Bebidas alcohólicas. Rotulado. Requisitos*

3. DEFINICIONES

Para los efectos de esta norma, se adoptan las definiciones contempladas en NTE INEN 338 y las que a continuación se detallan:

3.1 Licor. Bebida alcohólica que se obtiene por destilación de mostos fermentados, por mezcla de aguardientes, alcohol etílico rectificado (neutro o extraneutro) o bebidas alcohólicas destiladas o sus mezclas, con o sin, sustancias de origen vegetal, extractos obtenidos por infusiones, percolaciones, maceraciones o destilaciones de los citados productos, o con sustancias aromatizantes, edulcoradas o no, a las que se puede añadir ingredientes y aditivos alimentarios aptos para el consumo humano.

4. CLASIFICACIÓN

4.1 Licor seco. Producto que tiene un contenido de azúcares de hasta 50 gramos por litro.

4.2 Licor semiseco. Producto que tiene un contenido de azúcares entre 51 gramos por litro hasta 100 gramos por litro.

4.3 Licor dulce. Producto que tiene un contenido de azúcares entre 101 gramos por litro hasta 250 gramos por litro.

4.4 Licor crema o crema. Producto de consistencia viscosa que tiene un contenido de azúcares mayor a 251 de gramos por litro.

4.5 Licor escarchado. Producto sobresaturado de azúcar y que presenta formación de cristales de azúcar.

5. REQUISITOS

5.1 El agua utilizada para la hidratación debe ser potable conforme a NTE INEN 1108, la misma que puede ser sometida a un proceso de tratamiento posterior.

5.2 Los licores debe tener un color, olor y sabor característicos de las materias primas utilizadas.

5.3 Los licores deben contener los niveles máximos permitidos de aditivos alimentarios conforme con NTE INEN-CODEX 192.

5.4 Los licores deben cumplir los requisitos físicos y químicos establecidos en la tabla 1.

TABLA 1. Requisitos físicos y químicos para los licores

Requisitos	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Alcohol, fracción volumétrica	%	15	50	NTE INEN 340
Furfural	mg/100 cm ³ (¹)		10	NTE INEN 2014
Metanol	mg/100 cm ³ (¹)		10	NTE INEN 2014
Alcoholes superiores ^{**}	mg/100 cm ³ (¹)		150	NTE INEN 2014
Azúcares totales:	g/L			NTE INEN 358
Licor seco		-	50	
Licor semiseco		51	100	
Licor dulce		101	250	
Licor crema o crema		251	-	
Licor escarchado		saturado	-	

¹ El volumen de 100 cm³ corresponde al alcohol absoluto.
^{**} Alcoholes superiores comprenden: isopropanol, propanol, isobutanol, isomilico, amílico.

6. INSPECCIÓN

6.1 Muestreo

El muestreo se debe realizar de acuerdo con NTE INEN 339.

6.2 Aceptación y rechazo

Se acepta el lote muestreado de conformidad con NTE INEN 339 y cuyos resultados cumplan con los requisitos indicados en esta norma, caso contrario se rechaza.

7. ROTULADO

7.1 El rotulado debe realizarse de acuerdo con NTE INEN 1933.

7.2 En el rótulo se deben utilizar las denominaciones "licor", "licor seco", "licor semiseco", "licor dulce", "licor crema" o "crema", "licor escarchado", según el caso, o en combinación con una de las siguientes opciones:

7.2.1 "Licor de ...", aquellos licores cuyas características organolépticas propias provengan exclusivamente de materias primas de origen vegetal, apoyados por los procesos tecnológicos adecuados.

EJEMPLO: licor dulce de durazno, licor de frutas, licor de almendra, licor de menta.

7.2.2 "Licor de ...", aquellos licores cuyas características organolépticas propias provengan exclusivamente de otras bebidas alcohólicas destiladas cuyo contenido sea mayor al 20 % en base de alcohol anhidro.

EJEMPLO: Licor seco de ron, licor de whisky.

7.2.3 "Licor de ... al/ con ...", aquellos licores cuyas características organolépticas propias provengan exclusivamente de materias primas de origen vegetal y otras bebidas alcohólicas destiladas, cuyo contenido sea mayor al 20 % en base de alcohol anhidro.

EJEMPLO: licor de café con ron, licor de manzana al ron, licor de whisky con canela.

7.2.4 "Licor sabor a...", aquellos licores que utilicen saborizantes, excepto cuando se haga referencia a otras bebidas alcohólicas destiladas o fermentadas que tengan norma específica.

EJEMPLO: licor sabor a mora, licor sabor a canela.