



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

**“ELABORACION DE BEBIDA ALCOHOLICA A PARTIR DE
AGUAMIEL DE CABUYA, CON LEVADURA AISLADA DEL
BOSQUE NATIVO PUNGALÁ”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGROINDUSTRIAL

AUTORA:

CAROLAY SLENY RUIZ CARRILLO

Riobamba – Ecuador

2024



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

**“ELABORACION DE BEBIDA ALCOHOLICA A PARTIR DE
AGUAMIEL DE CABUYA, CON LEVADURA AISLADA DEL
BOSQUE NATIVO PUNGALÁ”**

Trabajo de Integración Curricular

Tipo: Trabajo Experimental

Presentado para optar al grado académico de:

INGENIERA AGROINDUSTRIAL

AUTORA: CAROLAY SLENY RUIZ CARRILLO

DIRECTOR: Ing. CÉSAR IVÁN FLORES MANCHENO PhD

Riobamba – Ecuador

2024

© 2024, Carolay Sleny Ruiz Carrillo

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el Derecho de Autor.

Yo, Carolay Sleny Ruiz Carrillo, declaro que el presente Trabajo de Integración Curricular es de mi autoría y los resultados del mismo son auténticos. Los textos en el documento que provienen de otras fuentes están debidamente citados y referenciados.

Como autora asumo la responsabilidad legal y académica de los contenidos de este Trabajo de Integración Curricular; el patrimonio intelectual pertenece a la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.

Riobamba, 25 de enero de 2024



Carolay Sleny Ruiz Carrillo

172498223-4

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS
CARRERA AGROINDUSTRIA

El Tribunal del Trabajo de Integración Curricular certifica que: El Trabajo de Integración Curricular; Tipo: Trabajo Experimental, “**ELABORACION DE BEBIDA ALCOHOLICA A PARTIR DE AGUAMIEL DE CABUYA, CON LEVADURA AISLADA DEL BOSQUE NATIVO PUNGALÁ**”, realizado por la señorita: **CAROLAY SLENY RUIZ CARRILLO**, ha sido minuciosamente revisado por los Miembros del Tribunal del Trabajo de Integración Curricular, el mismo que cumple con los requisitos científicos, técnicos, legales, en tal virtud el Tribunal Autoriza su presentación.

FIRMA

FECHA

Bqf. María Verónica González Cabrera, Msc.
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

2024-01-25

Ing. César Iván Flores Mancheno, PhD.
DIRECTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

024-01-25

Ing. Tatiana Elizabeth Sánchez Herrera, Msc.
ASESORA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

024-01-25

DEDICATORIA

Es mi deseo como sencillo gesto de agradecimiento dedicarles este trabajo de investigación, en primera instancia a Dios quien me ha dado fortaleza, paz, salud y amor para alcanzar este anhelo que lo viví lejos de mi familia, y que hoy se vuelve una realidad; dedicarle a mi madre por su apoyo incondicional, sus consejos y guiarme por el camino del bien; a mi hermana Daniela Ruiz quien ha sido el complemento perfecto con sus palabras de aliento para culminar una de mis metas. Finalmente, a cada una de las personas que estuvieron a mi lado en mi estadía y trayectoria universitaria.

Carolay

AGRADECIMIENTO

A Dios por brindarme entendimiento, fuerza y sabiduría día a día. A mi familia por su apoyo a pesar de cualquier circunstancia.

A mi director y asesora de trabajo de titulación, por su ayuda y supervisión en cada momento para poder culminar este trabajo de investigación.

A mi querida ESPOCH quien me abrió las puertas para formarme profesionalmente.

Al grupo de investigación SEALPRA quien fue fundamental para realizar esta investigación.

Carolay

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLAS.....	xii
ÍNDICE DE ANEXOS	xiii
RESUMEN.....	xiv
ABSTRACT	XV
INTRODUCCIÓN	1

CAPÍTULO I

1. DIAGNOSTICO DEL PROBLEMA	2
1.1 Planteamiento del problema.....	2
1.2 Justificación	3
1.3 Objetivos	3
1.3.1 <i>Objetivo general</i>	3
1.3.2 <i>Objetivos específicos</i>	3

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Cabuya Negra (<i>Agave americano</i>).....	4
2.1.1 <i>Composición química de la agave americana</i>	4
2.2 Aguamiel o savia de <i>Agave americana L.</i>	5
2.2.1 <i>Producción de aguamiel</i>	5
2.2.2 <i>Usos del aguamiel</i>	5
2.2.3 <i>Composición química del aguamiel de cabuya</i>	5
2.2.4 <i>Característica sensorial aguamiel</i>	6
2.3.5 <i>Microorganismos del aguamiel</i>	6
2.3.6 <i>Recuento de levaduras</i>	7

2.4	FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	7
2.5	BEBIDAS ALCOHÓLICAS	8
2.5.1	<i>Bebida alcohólica no destilada</i>	8
2.5.2	<i>Bebidas alcohólicas destiladas</i>	8
2.5.3	<i>Bebida blancas</i>	9
2.5.4	<i>Bebidas Añejas</i>	9
2.5.5	<i>Licor extra seco</i>	9
2.5.6	<i>Licor seco</i>	9
2.6	Parámetros físico-químicos	10
2.6.1	<i>Grado alcohólico</i>	10
2.6.2	<i>Extracto seco</i>	10
2.6.3	<i>Metanol</i>	10
2.6.4	<i>Aldehídos</i>	10
2.6.5	<i>Ésteres</i>	11

CAPÍTULO III

3.	MARCO METODOLÓGICO	12
3.1	Localización y duración del experimento	12
3.2	Unidades experimentales	12
3.3	MATERIALES, EQUIPOS E INSUMOS	12
3.3.1	<i>Materiales</i>	12
3.3.2	<i>Insumos</i>	13
3.3.3	<i>Equipos</i>	13
3.4	Tratamientos y diseño experimental	14
3.5	Mediciones experimentales	14
3.5.1	<i>Caracterización del sustrato</i>	14
3.5.2	<i>Caracterización bebida alcohólica</i>	15
3.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA	15

3.7	Procedimiento experimental	14
3.7.1	<i>Recepción materia prima</i>	16
3.7.1.1	<i>Selección del agave</i>	16
3.7.1.2	<i>Corte</i>	17
3.7.1.3	<i>Perforación</i>	17
3.7.1.4	<i>Raspado</i>	17
3.7.1.5	<i>Reposado</i>	17
3.7.1.6	<i>Extracción del aguamiel</i>	17
3.7.1.7	<i>Filtración</i>	17
3.7.1.8	<i>Envasado</i>	17
3.7.2	<i>Elaboración bebida alcohólica</i>	18
3.7.2.1	<i>Destilación</i>	18
3.8	METODOLOGÍA DE EVALUACIÓN	19
3.8.1	<i>Análisis sensorial del sustrato</i>	19
3.8.2	<i>Análisis físico químico del sustrato</i>	20
3.8.2.1	<i>Sólidos totales °Brix</i>	20
3.8.2.2	<i>pH</i>	20
3.8.2.3	<i>Acidez total mg/ml</i>	20
3.8.2.4	<i>Índice de refracción</i>	20
3.8.2.5	<i>Azúcares reductores totales (glucosa) g/100ml</i>	20
3.8.2.6	<i>Cenizas mg/100ml</i>	20
3.8.3	<i>Análisis microbiológico del sustrato</i>	20
3.8.3.1	<i>Recuento de levaduras</i>	21
3.8.4	<i>Análisis fisicoquímico de la bebida alcohólica</i>	21
3.8.4.1	<i>Contenido alcohólico (%Alc.vol)</i>	21
3.8.4.2	<i>Extracto seco mg/100ml</i>	21
3.8.4.3	<i>Alcoholes superiores mg/100ml</i>	21
3.8.4.4	<i>Metanol mg/100ml</i>	22
3.8.5	<i>Análisis microbiológico de la bebida alcohólica</i>	22

3.8.6	<i>Análisis sensorial de la bebida alcohólica</i>	22
3.8.7	<i>Análisis económico</i>	23

CAPÍTULO IV

4.	MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS	24
4.1	Caracterización fisicoquímica del sustrato	24
4.1.1	<i>Acidez</i>	24
4.1.2	<i>pH</i>	24
4.1.3	<i>Sólidos solubles</i>	25
4.1.4	<i>Cenizas</i>	25
4.1.5	<i>Azúcares reductores</i>	25
4.1.6	<i>Índice de refracción</i>	25
4.2	Caracterización microbiológica del sustrato	25
4.3	Caracterización sensorial del sustrato	26
4.3.1	<i>Sabor</i>	26
4.3.2	<i>Color</i>	27
4.3.3	<i>Olor</i>	27
4.4	Caracterización fisicoquímica de la bebida alcohólica	27
4.4.1	<i>Aldehídos</i>	28
4.4.2	<i>Furfural</i>	29
4.4.3	<i>Metanol</i>	29
4.4.4	<i>Alcoholes superiores</i>	30
4.4.5	<i>Ésteres</i>	30
4.4.6	<i>Extracto seco</i>	30
4.5	Caracterización microbiológica de la bebida alcohólica	31
4.5.1	<i>Mohos y levaduras</i>	31
4.6	Caracterización sensorial de la bebida alcohólica	31
4.7	Costos de producción	32

4.7.1	<i>Costos de producción</i>	33
4.7.2	<i>Beneficio/costo</i>	33

CAPÍTULO V

5.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	34
5.1	Conclusiones	34
5.2	Recomendaciones	35

BIBLIOGRAFÍA

ANEXOS

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 2-1: Composición de la cabuya negra.....	4
Tabla 2-2: Composición química del aguamiel de cabuya.....	5
Tabla 2-3: Especificaciones para licor blanco.....	9
Tabla 3-1: Esquema del experimento.....	14
Tabla 3-2: Esquema del ADEVA.....	15
Tabla 3-3: Formulación de tratamientos para elaboración de bebida alcohólica.....	16
Tabla 3-4: Esquema de evaluación del análisis sensorial.....	19
Tabla 3-5: Descripción de puntuación para análisis sensorial.....	19
Tabla 3-6: Método para determinar parámetros microbiológicos en el sustrato.....	20
Tabla 3-7: Método para determinar parámetros microbiológicos para bebida alcohólica.....	22
Tabla 3-8: Esquema de evaluación de análisis sensorial de la bebida alcohólica.....	22
Tabla 4-1: Resultados obtenidos con respecto a la caracterización del sustrato (aguamiel de cabuya).....	24
Tabla 4-2: Resultados del recuento de levaduras en el sustrato (aguamiel de cabuya).....	26
Tabla 4-3: Resultados de la caracterización sensorial del sustrato (aguamiel de cabuya).....	26
Tabla 4-4: Resultados de los análisis fisicoquímicos realizados a la bebida alcohólica.....	27
Tabla 4-5: Resultados del análisis microbiológico en las bebidas alcohólicas.....	31
Tabla 4-6: Resultados del análisis sensorial realizado a las bebidas alcohólicas.....	32
Tabla 4-7: Resultados del análisis económico para la elaboración de las bebidas alcohólicas...	32

ÍNDICE DE ANEXOS

- ANEXO A:** DIAGRAMA DE EXTRACCIÓN DE MATERIA PRIMA AGUAMIEL DE CABUYA
- ANEXO B:** DIAGRAMA DE ELABORACIÓN DE BEBIDA ALCOHÓLICA
- ANEXO C:** CONTENIDO DE ALCOHOL DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA REALIZADA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA
- ANEXO D:** CONTENIDO DE ALDEHÍDOS DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA REALIZADA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA
- ANEXO E:** CONTENIDO DE METANOL DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA REALIZADA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA
- ANEXO F:** CONTENIDO DE ALCOHOLES SUPERIORES DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA REALIZADA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA
- ANEXO G:** CONTENIDO DE ÉSTERES DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA REALIZADA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA.
- ANEXO H:** CONTENIDO DE EXTRACTO SECO DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA REALIZADA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA
- ANEXO I:** RESULTADOS FISICOQUÍMICOS DEL SUSTRATO
- ANEXO J:** RESULTADOS DE RECuento DE LEVADURAS EN SUSTRATO
- ANEXO K:** RESULTADOS ANÁLISIS SENSORIAL SUSTRATO
- ANEXO L:** RESULTADOS DE ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS DE BEBIDA ALCOHÓLICA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURAS
- ANEXO M:** RESULTADOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE BEBIDA ALCOHÓLICA
- ANEXO N:** RESULTADOS ANÁLISIS SENSORIAL EN BEBIDA ALCOHÓLICA
- ANEXO O:** ANÁLISIS DE VARIANZA DE OLOR, COLOR Y SABOR KRUSKAL WALLIS
- ANEXO P:** ANÁLISIS DE VARIANZA EN BEBIDAS ALCOHÓLICAS
- ANEXO Q:** ANÁLISIS DE VARIANZA BEBIDA ALCOHÓLICA COLOR, SABOR Y OLOR POR KRUSKAL WALLIS
- ANEXO R:** ANÁLISIS DE VARIANZA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO BEBIDA ALCOHOLICA
- ANEXO S:** ELABORACIÓN DE BEBIDA ALCOHÓLICA
- ANEXO T:** ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS DE BEBIDA ALCOHÓLICA
- ANEXO U:** ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE BEBIDA ALCOHÓLICA
- ANEXO V:** ANÁLISIS SENSORIAL DE BEBIDA ALCOHÓLICA

RESUMEN

En la presente investigación se elaboró una bebida alcohólica a partir de aguamiel de cabuya, utilizando una levadura aislada del Bosque nativo Pungalá. Se aplicó un diseño completamente al azar bajo un modelo lineal, para lo cual se tomó en cuenta 3 tratamientos correspondientes a levadura nativa (T1), levadura comercial (T2), levadura aislada (T3) con 5 repeticiones para cada uno. Para los análisis fisicoquímicos y microbiológicos se utilizó ADEVA, prueba de Tukey y estadística descriptiva. Con relación al análisis sensorial se aplicó la prueba de Kruskal Wallis y de aceptación con escala hedónica a 150 panelistas no entrenados, para el análisis económico se utilizó el indicador beneficio/costo. Con relación a la caracterización fisicoquímica del aguamiel se registra una acidez de 0,03%, 4,06 de pH, sólidos solubles con 15,84° Brix, cenizas de 0,24%, 7,97% de azúcares reductores y un índice de refracción de 1,35nD. Con relación a la carga microbiana registró $5,38 \times 10^6$ UFC/ml de levaduras (*Saccharomyces spp*), con relación al aspecto sensorial (olor, color y sabor) registraron una puntuación excelente encontrándose dentro de los requisitos establecidos por la norma NMX.V.022.1972. Se concluye a través de la evaluación fisicoquímica de las bebidas que se registró diferencias estadísticas, con respecto a grados de alcohol, aldehídos, metanol, alcoholes superiores, ésteres y extracto seco, mientras que para furfural no hay diferencias, valores que están en los límites de aceptación de la NORMA INEN 1837. Al análisis microbiológico se presentó menor población de levaduras en el T2 con 1UFC/ml y un mayor recuento en el T3 con 14 UFC/ml el mismo que no se encuentra dentro de los límites de aceptación por la NORMA INEN 2238 y sensorialmente el mejor evaluado el T1 que obtuvo una puntuación de excelente con beneficio/costo fue de 1,28 para los T1 y T3.

Palabras clave: <BEIBIDA ALCOHÓLICA> <LEVADURA> <ANÁLISIS FISICOQUÍMICO> <ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO> <FERMENTACIÓN>.

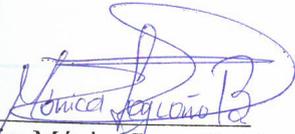


0258-DBRA-UPT-2024

ABSTRACT

This research aimed to develop an alcoholic beverage using agave sap from the cabuya plant, employing a yeast strain isolated from the native Pungalá Forest. A completely randomized design under a linear model was applied, considering three treatments: native yeast (T1), commercial yeast (T2), and isolated yeast (T3), each with five replications. ADEVA, Tukey's test, and descriptive statistics were essential for the Physicochemical and microbiological analyses. The sensory analysis used the Kruskal-Wallis and acceptance tests with a hedonic scale involving 150 untrained panelists. The economic analysis employed the benefit/cost indicator. Physicochemical characterization of the agave sap revealed an acidity of 0.03%, pH of 4.06, soluble solids of 15.84° Brix, ash content of 0.24%, 7.97% reducing sugars, and a refractive index of 1.35nD. Microbial load indicated 5.38×10^6 CFU/ml of yeast (*Saccharomyces spp.*). Sensory aspects (odour, colour, and flavour) scored excellent, meeting the requirements of standard NMX.V.022.1972. Physicochemical evaluation of the beverages showed statistical differences in alcohol content, aldehydes, methanol, higher alcohols, esters, and dry extract, while furfural showed no differences, values within the acceptance limits of standard INEN 1837. Microbiological analysis showed a lower yeast population in T2 with 1 CFU/ml and a higher count in T3 with 14 CFU/ml, exceeding acceptance limits according to standard INEN 2238. Sensory evaluation favored T1 with an excellent score, with a benefit/cost ratio of 1.28 for both T1 and T3.

Keywords: <ALCOHOLIC BEVERAGE> <YEAST> <PHYSICOCHEMICAL ANALYSIS>
<MICROBIOLOGICAL ANALYSIS> <FERMENTATION>.



Lic. Mónica Logroño B.
060274953-3

INTRODUCCIÓN

El Agave americana generalmente en el Ecuador es conocida como Cabuya Negra, siendo una planta perenne originaria de territorios mexicanos, y que ha sido introducida en diferentes zonas geográficas del mundo entero. En el Ecuador se localiza a lo largo del callejón interandino generalmente formando linderos la ventaja del gran abastecimiento se debe a que el penco crece y se adapta bien en las zonas áridas y secas de las regiones (Moya, 2006).

En la actualidad se conoce a la palabra agave en griego como “maravilla”, denominada así por antepasados ya que contribuye al hombre como alimento, bebida, material para artesanía, alimento para ganado, cuidado e higiene personal, etc. La misma que entre sus usos están la elaboración de jarabes y bebidas alcohólicas a partir del aguamiel siendo el líquido que exuda al hacer una herida en el corazón del Agave. Teniendo presente el legado ancestral de la utilización del aguamiel o también conocido como chaguarmishqui en la serranía ecuatoriana que se produce en las plantas adultas maduras, siendo este un fluido rico en carbohidratos como inulina, sacarosa y fructosa, además contiene pequeñas cantidades de aminoácidos y vitaminas; resulta ser una alternativa viable para la elaboración artesanal del pulque, una bebida alcohólica tradicional con adecuadas características sensoriales y fisicoquímicas (Moya, 2006).

Además, según (Pamplona, 2007 pág. 558), Se conoce más de 150 especies de agave, muy similares en su aspecto y sus propiedades, repartidas en México y toda Centro América, del agave y especies similares se obtiene una fibra con la cual fabrican cuerdas; las hojas carnosas y en el corazón del agave en México, producen una savia o jugo azucarado, conocido como aguamiel. A partir de él se elaboran diversas bebidas alcohólicas destacadas por su elevado grado alcohólico, como el pulque, el mezcal y el tequila.

A su vez en los procesos biotecnológicos para la producción de bebidas alcohólicas es necesario la capacidad fermentativa de microorganismos como levaduras presentes en el chaguarmishqui y su posterior proceso de destilación, de esta manera se obtiene un destilado alcohólico; por lo tanto es necesario la investigación en el estudio de la cadena agroindustrial de la cabuya negra y a su vez del proceso de recuperación del aguamiel acelerando su fermentación con la adición de varios tipos de levaduras proporcionando información de viabilidad en la producción de bebidas alcohólicas para la introducción de nuevas alternativas en la competencia de licores comerciales; y de esta forma brindar a la población que se favorece del abastecimiento de esta materia prima como un nuevo ingreso económico que mejore la calidad de vida de los pobladores.

CAPÍTULO I

1. DIAGNOSTICO DEL PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

El Agave americana popularmente conocida en el Ecuador como Cabuya Negra, es una planta perenne originaria de territorios mexicanos, y que ha sido introducida en varias zonas geográficas del mundo entero. En el Ecuador se la encuentra a lo largo del callejón interandino generalmente formando linderos. (Cueva E., 1999)

El Agave brinda al hombre alimento, bebida, material para artesanía, alimento para el ganado, cuidado e higiene personal, etc. Dentro de estos usos están la elaboración artesanal de jarabes y bebidas alcohólicas a partir del aguamiel que exuda al hacer una herida en el corazón del Agave. Teniendo presente el legado ancestral de la utilización del chaguarmishki en la serranía ecuatoriana siendo una fuente natural para la explotación económica sin embargo, existe poca investigación al respecto la investigación se encaminó a realizar la “Elaboración de bebida alcohólica a partir de aguamiel de cabuya, con levadura aislada del bosque nativo Pungalá” con el fin de potenciar la cadena agroindustrial del Agave americana (cabuya negra), al mismo tiempo se expondrá las etapas de la obtención del aguamiel (cosecha), el proceso de experimentación y formulación que en este caso se utilizará diferentes levaduras para su fermentación como es: levadura aislada del “Bosque Pungalá, levadura comercial y levadura nativa del aguamiel potenciando el uso de microorganismos benéficos útiles en la biotecnología y agroindustria; conjuntamente su aceptación y el costo de producción.

A más de que uno de los problemas principales en la zona de San Andrés provincia de Chimborazo, según (Gobierno Parroquial de San Andrés, 2019) manifiesta que ha sido la poca disponibilidad de agua y la variación en los cambios climáticos los mismos que han obstruido los objetivos esperados por los pequeños productores agropecuarios. Sin embargo, la producción de Licor de cabuya representa para las comunidades una oportunidad alternativa de ingresos económicos, debido al cultivo poco exigente, el conocimiento en el manejo y extracción del aguamiel.

Para comprender el significado de lo que es una bebida alcohólica se detalló lo descrito por el PROY-NOM-199-SCFI-2015:

Producto obtenido por fermentación principalmente alcohólica de la materia prima vegetal que sirve como base, sometida o no a destilación, rectificación, re destilación, infusión, maceración o cocción en presencia de productos naturales, susceptible de ser añejada, madurada o envejecida según sea el caso, y puede ser adicionada de ingredientes y aditivos permitidos. Su contenido alcohólico es de 2,0 a 55,0 % Alc. Vol.

A su vez, con respecto a la norma vigente en el Ecuador se puntualiza que “Son los productos alcohólicos aptos para el consumo humano, provenientes de la fermentación, destilación, preparación o mezcla de los mismos, de origen vegetal, salvo preparaciones farmacéuticas” (NORMA INEN 338)

1.2 Justificación

Al plantear este tipo de trabajo experimental sobre el uso de levadura aislada del Bosque nativo Pungalá, busca determinar que tratamiento es mejor para la elaboración de bebida alcohólica a partir de aguamiel de cabuya negra; y a su vez aprovechar los recursos proporcionados por el proyecto “SEALPRA”; con el fin de reducir el desperdicio y desaprovechamiento que sufre la cabuya negra como materia prima en la población en general.

Además, presentar productos biotecnológicos favoreciendo la cadena agroindustrial de la cabuya; y en efecto reunir las condiciones de calificación y valoración que exige el mercado, para obtener un producto de calidad en la industria licorera presentando así una nueva alternativa para la economía, para ello nos fundamentamos en criterios técnicos y recomendaciones literarias y profesionales.

1.3 Objetivos

1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Elaborar una bebida alcohólica a partir de aguamiel de cabuya, con levadura aislada del bosque nativo Pungalá.

1.3.2 OBJETIVO ESPECIFICOS

- Caracterizar el sustrato (aguamiel de cabuya) mediante los indicadores fisicoquímicos, microbiológicos y sensoriales utilizados en la elaboración de una bebida alcohólica.
- Determinar las características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales de la bebida alcohólica elaborada a partir de aguamiel de cabuya con levadura aislada del bosque nativo Pungalá (*Saccharomyces spp*), levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) y levadura nativa (*Saccharomyces spp*).
- Establecer costos de producción mediante el indicador costo/beneficio.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEORICO REFERENCIAL

2.1 Cabuya Negra (Agave americano)

A partir de varias fuentes bibliográficas revisadas concuerdan que el origen de la cabuya negra es principalmente de mexicano, sin embargo, al transcurrir los años se ha permitido insertarla en zonas interandinas ya que posee excelente capacidad de adaptación (Duque Sánchez, 2013 págs. 15-16), menciona que:

La planta ha sido introducida al continente americano por su alta producción de azúcares en su mayoría en forma de fructosa, el núcleo de esta planta es la característica más importante de la misma.

Cabe mencionar que el agave es eminente de los indígenas, denominado como planta de las maravillas utilizado comúnmente para demarcar territorios, contener la erosión en quebradas y en tierras laderasas, las hojas son utilizadas como medio para procesos de lavado por su contenido de saponinas, también son utilizados como fuente de alimentación para el ganado vacuno de los valles cálidos y secos del callejón interandino de las provincias de Cotopaxi, Tungurahua y Chimborazo ostenta (Amaya, W & Lasluisa J, 2018).

2.1.1 Composición química de la agave americana

La cabuya negra es una planta que se caracteriza por poseer en su composición los siguientes elementos que se mencionan en la tabla 1

Tabla 2-1: Composición de la cabuya negra

Componentes	Cantidad	Unidad
Humedad	78,18	%
Proteína	1,05	%
Grasa	0,17	%
Ceniza	1,66	%
Fibra	12,22	%
Carbohidratos Totales	6,72	%
Energía	32,61	Kcal/100g

Fuente: (Luzuriaga, 2010)

Realizado por: (Ruiz, C, 2023)

Dentro de la presente tabla el aporte en carbohidratos totales son los datos más relevantes en esta investigación debido a que son necesarios para que se produzca una fermentación alcohólica.

2.2 Aguamiel o savia de *Agave americana* L.

El aguamiel se denomina como el exudado obtenido a partir de la planta de maguey, cabuya negra; el mismo que es un producto líquido, de sabor agradable dulce, de olor característico, en donde el color varía de blanco a tenue a un amarillo claro dependiendo, el clima, la zona, o la hora de extracción. Los nombres con los que comúnmente se conoce este producto varían; dulce de cabuya, aguamiel de maguey, chaguarmishqui; es conocido así en México y otros países de América latina.

El desconocimiento del aporte que genera esta materia prima y los subproductos que se pueden realizar es bastante nula en la población por lo que lo explotan solamente por sus características organolépticas mas no por su aporte nutricional. La mayoría de las plantas explotadas se encuentran de forma silvestre.

2.2.1 Producción de aguamiel

En la sierra ecuatoriana, especialmente en las provincias de Imbabura, Loja y Cuenca, la producción del penco es aprovechada al aguamiel para la fabricación de bebidas fermentadas o también como miel o azúcar (Ayora, D & Quito, K 2013, pág. 38).

La producción del aguamiel es bastante baja debido al desconocimiento de los usos que presenta y sus maneras de extracción que han sido acogidas desde los antepasados.

2.2.2 Usos del aguamiel

Entre los usos del aguamiel fresca es como producto bebible de buen sabor dulce causando frescura; en Ecuador popularmente esta bebida típica es conocida también como aguamiel; esta es la misma bebida que disponemos de muestra con el complemento de más procesos obteniendo una bebida alcohólica destilada.

(Venero, 2006) describe que el líquido a partir de la exudación de la cabuya es usado para la elaboración de miel, vinagre; incluso en el aspecto medicinal debido a su gran aporte en azúcares que favorecen a personas diabéticas.

2.2.3 Composición química del aguamiel de cabuya

En la Tabla 2 se detalla la composición química del aguamiel, descrito por (Bautista, N & Arias, G 2008, pág. 48), en muestra fresca en donde su principal componente son los carbohidratos y azúcares totales.

Tabla 2-2: Composición química del aguamiel de cabuya

Parámetro	Muestra fresca
Ph	7,72
Carbohidratos	12,03

Cenizas	0,23
Acidez titulable	0,05
Azúcares reductores totales (% glucosa)	9,08

Fuente: Bautista, N & Arias, G 2008

Realizado por: Ruiz., C 2023.

Según como se evidencia en la tabla 1-2-3, lo manifestado por Bautista, N & Arias, G en el 2008 en su investigación de "Estudio químico bromatológico de aguamiel de Agave americana l. (maguey)" analizando en muestra fresca y muestra seca, presentando como resultados más satisfactorios expresados en g % en muestra fresca: 7,72 de pH, 12,03 de carbohidratos, 0,23 de cenizas, 0,05 de acidez titulable, 9,08 de azúcares reductores totales en g% de glucosa.

Con respecto a (Mena, A. 2013) en su investigación de "Caracterización fisicoquímica de aguamiel en tres variedades de agave", los resultados obtenidos de tres variedades de agaves se detallan lo siguiente: en aguamiel de Agave Manzo (*Agave salmiana*) un pH de 6,3 el índice de refracción 1,352 y azúcares reductores 1,637. Para el aguamiel en agave cenizo (*Agave durangensis*) el pH fue de 6,4 en el índice de refracción 1,353 y azúcares reductores 1,973; finalmente en el aguamiel de agave amarillo (*Agave americana*) se obtuvo un pH de 6,6 con índice de refracción de 1,365 y azúcares reductores un valor de 1,069.

Teniendo a consideración que el aguamiel de diferentes tipos de agave no representa diferencias altamente significativas a comparación del aguamiel de *Agave Americano L* que tiene características fisicoquímicas similares a estos agaves.

2.3.4 Característica sensorial Aguamiel

Dentro de la NMX.V.022.1972, se menciona que este líquido debe tener un color ambarino propio, donde su olor de ser característico del producto, su sabor bastante agradable dulce, y presentando un aspecto traslúcido.

2.3.5 Microorganismos del aguamiel

El aguamiel se especifica como el líquido fresco no fermentado con gran aporte de azúcares, en donde presenta fácil aprovechamiento para una población microbiana (Escalante et al.,2004 págs. 273-279).

Siendo un sustrato beneficiado nutricionalmente ayuda al crecimiento de poblaciones microbianas; las mismas que como fuente de energía y carbono utilizan los azúcares

proporcionados por el aguamiel fresca para producir nuevas células, en conjunto de productos de fermentación; además se presentaron varios tipos de microorganismos productoras de etanol.

En conjunto a la revisión, un estudio realizado por Herrera (2008), detalla que en el momento de fermentación del aguamiel la transición química que presenta el sustrato existe un desarrollo y continuación de microorganismos, como las bacterias ácido lácticas de género *Leuconostoc* y *Lactobacillus* y bacterias acéticas *Acetobacter spp* desarrollan la acidez en la bebida; las levaduras *Saccharomyces* y no *Saccharomyces*; las bacterias creadoras de dextranas *Leuconostoc spp* que conceden la viscosidad al pulque.

Las levaduras son microorganismos que se utilizan en la fermentación alcohólica en el enfoque de la industria de licores, dentro de este grupo se discurre la variedad de levadura que sea idónea de producir y tolerar altas concentraciones de alcohol. La variedad más utilizada es *Saccharomyces* (Prescott, et al., 1960).

El desarrollo y crecimiento de las levaduras está en la disponibilidad de fuentes de carbono o el porcentaje inicial de azúcar en el sustrato, adecuarlo en temperatura, pH, humedad y la oxigenación inicial del medio; el iniciador aerobio es importante mientras se realiza la inoculación ya que permite almacenar más número de células sanas en menor tiempo posible, para así continuadamente en los tanques de fermentación se ejecute ya en situaciones anaerobias.

Entre uno de los requerimientos importantes como se ha mencionado son las fuentes de carbono y energía, como es la glucosa y la sacarosa; puesto que en la producción de etanol alrededor de 96% se lleva a cabo por estos microorganismos (Escamilla, et al. 2008).

Los requerimientos de las levaduras, son detallados en el siguiente subtema en conjunto de la fermentación alcohólica que es la principal función para la producción de licores.

2.3.6 Recuento de levaduras

Para la producción de alcohol se da a partir de la fermentación alcohólica, la misma que debe contener gran número de unidades formadoras de colonias de levaduras para este proceso; como menciona en la norma INEN 2802 para bebidas alcohólicas / cocteles o bebidas alcohólicas mixtas y los aperitivos, donde se establece como máximo contenido de mohos y levaduras 10 UFC/ml; además autores mencionan que mientras más levaduras contenga el sustrato es mejor para una adecuada fermentación alcohólica.

2.4 FERMENTACIÓN ALCOHOLICA

La fermentación alcohólica es un proceso bioquímico anaeróbico producido por microorganismos sobre los azúcares de un medio, dando como resultado principalmente en etanol, y una generación

de gas carbónico. A su vez también existe producción de subproductos en mínimas cantidades como: glicerina, ácido acético y otras sustancias.

La fase de fermentación es apropiada cuando existe la transformación de azúcar en alcohol etílico, testificando condiciones aptas para el trabajo de los microorganismos en el medio de cultivo durante todo el proceso fermentativo. Este proceso es necesario para la obtención de bebidas alcohólicas destiladas, en la cual intervienen algunos factores que se detallaran a continuación según lo menciona (Prescott, S & Dunn, C,1960, págs.110-117).

La levadura que está presente en mayor proporción para la producción de la fermentación alcohólica es la variedad *Saccharomyces cerevisiae*, la cual es anaerobia facultativa presentando mayor rendimiento en la aerobiosis, a su vez mencionan que el mejor nivel de pH para el crecimiento de levaduras es entre el rango de 4,0 a 6,0 y como rango mínimo 2.60 a 2.80, ya que si el sustrato presenta niveles más bajo no se podría realizar la fermentación; pero los rangos anteriores son adecuados ya que presentarían un gran porcentaje de carbohidratos en el sustrato y sería ideal para que la fermentación se realice sin problemas (Togores, 2003, pág. 227).

2.5 BEBIDAS ALCOHOLICAS

Las bebidas alcohólicas pueden ser clasificadas de acuerdo a varios aspectos consideradas destiladas y no destiladas:

2.5.1 *Bebida alcohólica no destilada*

Son bebidas que netamente presentan la producción de alcohol, a partir de una fermentación de los azúcares presentes en el sustrato y se puede consumir sin la adición de otro proceso a su elaboración entre estas bebidas se encuentra la cerveza, vino, kombucha, hidromiel (Rivas, G. 2022 pág. 431).

2.5.2 *Bebidas alcohólicas destiladas*

Se considera al producto final de la destilación del líquido fermentado que se haya hecho a partir de materias primas vegetales en la que en su mayoría sus azúcares son fermentables y por ende ocurre una fermentación alcohólica; además este tipo de bebidas no debe ser rectificadas ya que debe considerarse en su contenido sustancias accesorias y que son características de la bebida; “el contenido alcohólico debe ser únicamente de 32,0% a 55,0% Alc. Vol.”; según se describe PROY-NOM-199-SCFI-2015

Según su tiempo de añejamiento:

2.5.3 *Bebidas blancas*

Son conocidas como bebidas blancas, debido a que se elaboran a partir de la fermentación, destilación y posteriormente su envasado sea inmediato y sin reposo; entre estas bebidas pueden ser como el vodka, ron, tequila, pisco, licores obtenidos de distintas frutas, entre otros; según lo menciona (Romero, J. 1976).

2.5.4 *Bebidas Añejas*

Bebidas alcohólicas que a partir de su envasado su crianza puede ir de uno a tres años en una barrica de madera; dado el caso que supere los tres años será considerado como una bebida extra añeja.

Según la proporción de alcohol y azúcares:

2.5.5 *Licor extra seco*

No presenta una cantidad alta de alcohol y en su composición los azúcares son menores al 12 % de azúcares.

2.5.6 *Licor seco*

Entre las clasificaciones de licores se tiene al licor seco, que es cuando contiene menos de 10 g/l de azúcares NORMA INEN 1837. A continuación, en la Tabla 1-2-3: se muestra las especificaciones ya de un licor blanco, es decir la bebida fermentada ya destilada según la normativa.

Tabla 3-3: Especificaciones para licor blanco

Parámetros	Blanco	
	Mín.	Máx.
Contenido Alcohólico a 20°C (% Alc. V ol.)	32,0	55,0
Extracto seco (g/l)	0,0	0,3
Aldehídos	0,0	40,0
Ésteres	2,0	200,0
Alcoholes superiores	10,0	500,0
Metanol	30,0	300,0
Furfural	0,0	5,0

Fuente: NORMA INEN 1837

Realizado por: Ruiz., C 2023.

Cabe mencionar que en el Ecuador no existe normativa vigente para bebidas a partir del aguamiel de cabuya, como de tal investigación, pero a raíz de requisitos en general de bebidas alcohólicas existe una relación predominante, por lo cual se citó los requisitos que son considerados como licor blanco.

2.6 Parámetros físico-químicos

En cuanto a la gran variedad de bebidas fermentadas las características y componentes son distintos, de manera que hay determinaciones en general que se las realiza.

2.6.1 Grado alcohólico

Se entiendo como la concentración alcohólica al porcentaje de alcohol que contiene en 100cm³ en el producto alcohólico con una temperatura de 20°C; en donde según la NORMA INEN 1837 van desde los 15 ° hasta los 45° máximo.

2.6.2 Extracto seco

Se entiendo como extracto seco a toda masa de la sustancia que no se logró volatizar en concluyentes condiciones físicas, el mismo que se expresa en gramos por litro; según norma mexicana NMX-V-017-NORMEX-2014 en la cual el valor mínimo es 0 g/l y un máximo de 0,3 g/l.

2.6.3 Metanol

Este compuesto químico líquido, sin color está presente cuando se produce alcohol etílico industrial, también conocido como alcohol metílico. Siendo un alcohol simple, es bastante venenoso y riesgoso si se llega a consumir en cantidades altas, produciendo ceguera e incluso la muerte; el olor de este es repulsivo; en normativa se menciona en cantidades bajas evitando causar algún daño (Butler, & Grosser, 1995; Sánchez, 2005; Hills, 2005). Según se detalla en el destilado blanco un mínimo de 30 mg/ml y como máximo 300 mg/ml.

2.6.4 Aldehídos

Los aldehídos son concentraciones de alcohol deshidrogenado, que se forma a partir de la oxidación que elimina hidrogeno de un alcohol. En bebidas alcohólicas de la misma manera se oxida el alcohol dando como producto el acetaldehído que seguidamente se transforma en ácido acético. Este compuesta se prevé que da mal olor; pero cabe mencionar según el autor que en

bebidas particulares da un aroma agradable y permite complementar los sabores (Macy, 2005, pág. 281; Hills, 2005; pág. 45). Por lo tanto, los valores dentro de la norma van de 0 a 40 mg/ml en destilado blanco.

2.6.5 Ésteres

Estos compuestos se presentan por una deshidratación intermolecular de ácido orgánico y de alcohol, produciendo una molécula de alcohol y éster; según la NMX-V-005-NORMEX-2013 en bebidas alcohólicas destiladas blancas el rango oscila de 2 y como máximo 200 mg/ml; a su vez también en Ecuador la NORMA INEN 1837 rige en que menos sean los valores mejor es para el consumo humano.

En bebidas ya fermentadas los esteres principales son los que se dan por la unión de alcoholes superiores y ácido acético. El acetato de etilo, es el que se encuentra en bebidas alcohólicas como contenido de esteres. Uno de los ejemplos, es en la producción de vino que este compuesto se localiza en las uvas, en la fermentación y maduración de vinos menciona (Hills, 2005).

CAPITULO III

3. MARCO METODOLOGICO

3.1 Localización y duración del experimento

La presente investigación tuvo inicio en la ciudad de Riobamba cantón San Andrés para adquisición de materia prima; en conjunto de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en la panamericana Sur km 1 ½. En cuanto a los análisis microbiológicos, bromatológicos y sensoriales se llevaron a cabo en las instalaciones del laboratorio de ciencias biológicas de la Facultad de Ciencias Pecuarias en el área de Microbiología y el Laboratorio de Bromatología y Nutrición Animal.

El presente trabajo experimental se realizó en un tiempo estimado de 12 semanas en la elaboración de una bebida alcohólica a partir del aguamiel de cabuya con levadura aislada del bosque nativo Pungalá.

3.2 Unidades experimentales

Cada unidad experimental estuvo constituida por 250 ml de muestra por tratamiento, siendo tres tratamientos con 5 repeticiones dando un total de 3750 ml de muestra a analizar.

3.3 MATERIALES, EQUIPOS E INSUMOS

3.3.1 *Materiales*

- Mascarillas
- Cofia
- Guantes
- Mandil
- Toalla de cocina
- Papel aluminio
- Cuchillos
- Envases de vidrio esterilizados
- Fundas
- Azadón
- Probeta
- Bureta

- Matraz
- Espátula
- Soporte universal
- Tubos de ensayo
- Pinzas
- Pipetas
- Pipetas pasteur
- Cajas Petri
- Gradillas
- crisol
- Mesas
- Jarras plásticas
- Botellas plásticas
- Papel filtro
- Vasos plásticos

3.3.2 *Insumos*

- Aguamiel de cabuya negra fresca
- Levadura aislada del Bosque nativo Pungalá (*Saccharomyces spp*)
- Levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) SafAle S-04
- Agar PDA (Potato Dextrose Agar)
- Fehling A y Fehling B
- Agua destilada
- Reactivos
- Alcohol

3.3.3 *Equipos*

- Balanza digital
- Autoclave
- Refractómetro digital
- Agitador Vortex
- Equipo de destilación rotavapor
- pH metro
- Refractómetro de inmersión
- Contador de colonias

- Mufla
- Estufa
- Vasos de precipitación
- Desecador
- Alcohólímetro

3.4 Tratamientos y diseño experimental

En la presente investigación se probó las diferentes formulaciones para la obtención de bebida alcohólica a partir de aguamiel y levadura aislada del bosque nativo Pungalá (*Saccharomyces spp*), levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) y levadura nativa (*Saccharomyces spp*).

Tabla 4-1: Esquema del experimento

Tratamientos	Código	N° de repeticiones	T.U.E.	ml/Tratamiento
T1 Aguamiel de cabuya + levadura nativa (<i>Saccharomyces spp</i>)	T1	5	250 ml	1250
T2 Aguamiel de cabuya + levadura comercial (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) SafAle S-04	T2	5	250 ml	1250
T3 Aguamiel de cabuya + levadura aislada del Bosque nativo Pungalá (<i>Saccharomyces spp</i>)	T3	5	250 ml	1250
Total, ml				3750

Realizado por: (Ruiz, 2023)

Las mediciones experimentales serán modeladas bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) el mismo consta de 3 tratamientos, 5 repeticiones.

En donde La fórmula del diseño es:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \epsilon_{ij}$$

Dónde:

Y_{ij} = Valor del parámetro en determinación.

μ = media general del ensayo por observación.

α_i =Efecto de los tratamientos.

ϵ_{ij} = error experimental

3.5 Mediciones experimentales

3.5.1 Caracterización del sustrato

Análisis fisicoquímicos

- Sólidos totales ° Brix
- Azúcares reductores totales (en glucosa) g/100 ml
- Acidez total
- pH
- Cenizas mg/ 100ml
- Índice de refracción con el refractómetro de inmersión a 20°C

Análisis microbiológicos

- Recuento de levaduras

Análisis sensorial

- Color, olor, sabor

3.5.2 Caracterización bebida alcohólica

Análisis fisicoquímicos

- Contenido alcohólico (% Alc. Vol.)
- Extracto seco g/l
- Metanol mg/100ml
- Aldehídos (acetaldehído) mg/100ml
- Esteres (como acetato de etilo)
- Furfural

Análisis microbiológicos

- Mohos y levaduras ufc/ml

Análisis sensorial

- Olor, sabor y color

Análisis económico

- Costos de producción (dólares/ml)

3.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO Y PRUEBAS DE SIGNIFICANCIA

- Análisis de varianza para la diferencia de las medias (ADEVA)
- Separación de medias según la prueba de Tukey ($P \leq 0,05$)
- Prueba no paramétrica cualitativa de Kruskal- Wallis

En la tabla 3-2 se logra identificar el esquema utilizado para el análisis de varianza (ADEVA), que se aplicó al diseño completamente al azar.

Tabla 3-5 Esquema del ADEVA

Fuente de Variación	Grados de libertad
Total	14
Tratamientos	2
Error experimental	12

Realizado por: (Ruiz, 2023)

3.7 Procedimiento experimental

La tabla 3-3 nos muestra la formulación utilizada para cada tratamiento, en donde se encuentran las cantidades aplicadas para la elaboración de la bebida alcohólica a partir de aguamiel de cabuya con levadura aislada del bosque nativo Pungalá; tomando en cuenta como referencia el estudio de la cadena agroindustrial de la cabuya en la producción de miel y licor de cabuya por parte de Jurado y Sarzosa (2009), en donde los tratamientos que obtuvieron mayor rendimiento fue cuando se empleó el 1 % y el 0,5% en peso de inóculo de levadura fresca; y el tratamiento con mayor calificación al momento de ser catado fue el de 0,5% de inóculo; por lo que se utilizó esta formulación.

Tabla 3-6 Formulación de tratamientos para elaboración de bebida alcohólica

	Tratamientos		
	T1 Levadura nativa (<i>Saccharomyces spp</i>)	T2 Levadura comercial (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>) SafAle S-04	T3 Levadura aislada del bosque Pungalá (<i>Saccharomyces spp</i>)
Aguamiel de Cabuya	1250 ml	1250 ml	1250 ml
Levaduras	+0,5% 0,057 g	0,5% 0,057 g	0,5% 0,057 g

Realizado por: (Ruiz, 2023)

3.7.1 Recepción materia prima

Para la recepción de materia se tomó en cuenta las investigaciones de Cuellar & Marcos (2019, págs. 35-45) en su tesis de “Obtención de una bebida alcohólica a partir del aguamiel de cabuya negra (*Agave americana L.*) y cabuya blanca (*Furcraea andina*) aromatizada con cedrón (*Aloysia citriodora*) y toronjil (*Melissa officinalis*)”, por lo que se detallan los siguientes pasos:

3.7.1.1 Selección del agave

Se procedió a seleccionar la cabuya negra idónea, mediante observación, donde sus hojas fueron

demasiado grandes símbolo de que está madura y ya presenta aproximadamente 5 años de madurez.

3.7.1.2 Corte

Con una hoz y un cuchillo realizamos cortes de las hojas teniendo en cuenta la 4ta y 5ta hoja desde el corazón.

3.7.1.3 Perforación

Una vez realizado el corte de las hojas, accedimos con facilidad al centro de la cabuya conocido como corazón de la planta; haciendo una perforación de manera circular con una profundidad media.

3.7.1.4 Raspado

Con un raspador se realizó enseguida un raspado uniforme aproximadamente de 1 a 2 milímetros en dicha profundidad en la perforación; cabe mencionar que cada vez que se realice este paso se profundiza el hoyo y el aguamiel será más dulce.

3.7.1.5 Reposado

Una vez realizado el raspado en la mañana, se dejó reposar hasta la tarde; teniendo en cuenta que se recubrió el hoyo con una funda, tratando de evitar contaminación por el aire o insectos presentes en la zona. Cabe mencionar que el raspado se lo hacía en la mañana y tarde.

3.7.1.6 Extracción del aguamiel

Según (Pardo O, 2005 pág. 2) mencionan que la recolección del aguamiel tiene que ser durante 90 días hasta que la planta muera; por consiguiente, nuestra recolección fue en la mañana y en la tarde de 3 a 4 litros diarios en botellas plásticas desinfectadas durante 3 días.

Una vez que esté en condiciones adecuados previniendo en que se produzca alguna contaminación del ambiente externo.

3.7.1.7 Filtración

Una vez recolectada el aguamiel en las botellas plásticas, se llevó a cabo una filtración con papel filtro reduciendo cualquier signo de materia indeseada en nuestro liquido a simple vista.

3.7.1.8 Envasado

Por resultante de la filtración, se colocó en envases de vidrio ya esterilizados para llevarlos a los

laboratorios inmediatamente evitando el inicio de la fermentación, en donde se procedió a la elaboración de la bebida alcohólica y de los análisis expuestos.

3.7.2 Elaboración bebida alcohólica

La fase de fermentación es apropiada cuando existe la transformación de azúcar en alcohol etílico, testificando condiciones aptas para el trabajo de los microorganismos en el medio de cultivo durante todo el proceso fermentativo.

Este proceso es necesario para la obtención de bebidas alcohólicas destiladas, en la cual intervienen algunos factores que se detallaran a continuación según lo menciona (Prescott, S & Dunn, C, 1960, págs. 110-117).

El iniciador es una porción del sustrato a iniciar la fermentación en donde la inoculación la agitación y la aireación son pasos previos a la fermentación que ayudan a distribuir las levaduras y oxigenar el medio, para el crecimiento microbiano.

Conjuntamente con estudios que se revisaron, existe la agregación de levaduras a diferencia de las silvestres propias del sustrato *saccharomyces spp.* a utilizar, una vez pasteurizado el sustrato durante 5 minutos a 120° en baño maría, se agregó una concentración de 0,5% para proceder a inocular levadura comercial y levadura aislada en el sustrato para la fermentación; a su vez estudios de (Togores, 2003, pág. 227) mencionan que el mejor nivel de pH para el crecimiento de levaduras es entre el rango de 4,0 a 6,0; con una temperatura desde 15 a 25°C para que haya ajuste de las levaduras al sustrato el mismo que se mantuvo en la investigación.

Por lo tanto, la fermentación anaeróbica se realizó con su respectivo control en un tiempo máximo de 19 días, hasta inhibir las levaduras y que los azúcares se convirtieran en alcohol como menciona (Cuellar & Marcos; 2019, pág. 45).

3.7.2.1 Destilación

Entre la búsqueda del proceso de destilación encontramos un sin número, pero en el que nos guiaremos será lo puntualizado en **PROY-NOM-199-SCFI-2015**:

Es la separación de los constituyentes de una mezcla líquida por vaporización parcial de la misma y recuperación de los vapores y residuos; es decir, la separación de una mezcla de sustancias en donde se fraccionan los componentes volátiles de un residuo no volátil. La destilación alcohólica está basada en que el alcohol etílico siendo más ligero que el agua, vaporiza a una temperatura menor que el punto de ebullición del agua, los vapores que suben pueden ser condensados y convertidos a forma líquida con un alto contenido alcohólico.

A partir de este proceso podemos medir ya el grado alcohólico de la bebida, teniendo en cuenta que existen varios métodos y equipos de destilación.

3.8 METODOLOGIA DE EVALUACIÓN

3.8.1 Análisis sensorial del sustrato

Para el análisis sensorial, se realizó a 30 panelistas no entrenados únicamente para que puedan calificar los atributos del aguamiel según menciona en la NORMA NMX.V.022.1972, mediante una prueba hedónica.

Siendo las muestras extraídas en diferentes tiempos se procedió a codificar de la siguiente manera:

- Aguamiel extraído en la mañana
- Aguamiel extraído en la tarde
- Aguamiel extraído en la mañana de una cabuya con perforación

En donde las muestras de la cabuya 1 y 2 se extrajeron en ese mismo día y en la tarde de la perforación, a diferencia de la muestra 3 que el líquido extraído fue de una cabuya que ya tenía 7 días desde que se hizo la perforación y de igual manera se extrajo en el día.

Tabla 3-7: Esquema de evaluación del análisis sensorial

PARÁMETROS	ESCALA DE PUNTUACIÓN
Olor	1-5
Color	1-5
Sabor	1-5

Realizado por: (Ruiz, 2023)

En donde la tabla 3-5 nos muestra la descripción de cada puntuación en los atributos evaluados.

Tabla 3-8: Descripción de puntuación para análisis sensorial

PUNTUACION	OLOR	COLOR	SABOR
5	Característico olor Fresco	Demasiado ambarino	Demasiado dulce
4	Poco olor a fresco	Muy ambarino	Muy dulce
3	Inoloro	Casi translucido	Lo justo
2	Poco olor a Fermentado	Poco ambarino	Muy amargo
1	Característico olor a fermentado	Nada ambarino	Demasiado amargo

Realizado por: (Ruiz, 2023)

3.8.2 *Análisis físico químico del sustrato*

A partir de los resultados que se obtuvo en el análisis sensorial, se realizó los siguientes análisis con la muestra que tuvo mayor puntuación.

3.8.2.1 *Sólidos totales °Brix*

Para obtener los grados Brix se utilizó una pipeta pastur para extraer el líquido y colocar en el medidor de grados Brix digital; se esperó 10 segundos y el dato se encuentre fijo; se repetía el mismo procedimiento una vez calibrado con alcohol y agua destilada para que no exista errores en la toma de datos (Soto, M & Calderón, R 2015 págs. 98-100).

3.8.2.2 *pH*

La metodología que se utilizó para la determinación de pH fue en base la norma NMX-V-041- 1972, es con el uso del pHmetro.

3.8.2.3 *Acidez total mg/ml*

Según NMX-V-015-NORMEX-2014 se realizó mediante el método de titulación ácido-base de las muestras de aguamiel de cabuya.

3.8.2.4 *Índice de refracción*

Se realizó a partir de la NORMA NMX.V.022.1972 con el refractómetro de inmersión que de acuerdo a los grados Brix presentes en la muestra nos detalla el índice de refracción.

3.8.2.5 *Azúcares reductores totales (glucosa) g/100ml*

La norma NMX-V-006-NORMEX-2013 menciona que la metodología de Lane-Eynon es adecuada para realizar azúcares reductores totales en glucosa.

3.8.2.6 *Cenizas mg/100ml*

Los métodos de ensayo son basados en la NMX-V-017-NORMEX-2014 en donde se realizó el procedimiento de calcinación de la muestra y medición de pesos.

3.8.3 *Análisis microbiológico del sustrato*

Los análisis microbiológicos del sustrato se realizaron en el Laboratorio de Biotecnología y Microbiología animal de la Facultad de Ciencias pecuarias de la ESPOCH.

En la tabla 3-4 se puede observar el método aplicado para el recuento de levaduras en el sustrato aguamiel de cabuya que obtuvo mayor puntuación según el análisis sensorial realizado.

Tabla 3-9: Método para determinar parámetros microbiológicos en el sustrato

Microorganismo	Tipo de medio de cultivo	Temperatura óptima	Tiempo de cultivo
<i>Levaduras</i>	Agar PDA	30°C	48h

Realizado por: (Ruiz, 2023)

3.8.3.1 Recuento de levaduras

La NOM-111-SSA1-1994 menciona el método en el cual se basó en el recuento y confirmación del número más probable de levaduras presentes en el sustrato aguamiel de cabuya; el mismo que se determinó a través del agar PDA; con diluciones a la -3 para su fácil conteo.

3.8.4 Análisis fisicoquímico de la bebida alcohólica

3.8.4.1 Contenido alcohólico (%Alc. Vol.)

Para la determinación del contenido alcohólico presente en cada uno de los tratamientos se utilizó un alcoholímetro concordando con lo que nos menciona MX-V-013-NORMEX-2013.

3.8.4.2 Extracto seco mg/100ml

Con mención a la NMX-V-017-NORMEX-2014 el método utilizado es a través de calcinación y pesajes de muestras.

3.8.4.3 Alcoholes superiores mg/100ml

NMX-V-005-NORMEX-2013 menciona que el método de ensayo se realizó a partir de cromatografía de gases.

3.8.4.4 *Metanol mg/100ml*

Para este análisis de metanol según la NMX-V-005-NORMEX-2013 fue realizado a partir de la cromatografía de gases que gracias a la capacidad de separación al analizar compuestos volátiles en la bebida alcohólica permitió dar resultados de metanol.

A partir de la norma NMX-V-005-NORMEX-2013 se realizó por cromatografía de gases los siguientes análisis fisicoquímicos:

- *Aldehídos (acetaldehído) mg/100ml*
- *Esteres (como acetato de estilo)*
- *Furfural*

3.8.5 *Análisis microbiológico de la bebida alcohólica*

Según (Moragas, 2022, pág. 17) los correspondientes Reales Decretos ecuatorianos (vino, sidra, whisky, etc.) no recogen normas microbiológicas; por lo consiguiente cuando termina el proceso de fermentación ya las levaduras existentes mueren debido a que han metabolizado todo los azucres del sustrato; por lo tanto, se realizó el siguiente proceso.

Tabla 3-10: Método para determinar parámetros microbiológicos para bebida alcohólica

Microorganismo	Tipo de medio de cultivo	Temperatura óptima	Tiempo de cultivo
<i>Mohos y Levaduras</i>	Agar PDA	30°C	48h

Realizado por: (Ruiz, 2023)

Para la siembra de bacterias y tener un conteo exacto no se realizó diluciones; se procedió con la preparación del Agar PDA el mismo que fue colocado en cajas petri adecuadamente codificadas; para finalizar con el asa de siembra se coloca el inóculo en la superficie del medio de cultivo y a su vez se llevó a la estufa a una temperatura de 37°C durante 48 horas para concluir con el proceso se reportó a través del contador de colonias, las unidades formadoras de colonias.

3.8.6 *Análisis sensorial de la bebida alcohólica*

Para el análisis sensorial de los tres tratamientos de elaboración de una bebida alcohólica a partir del aguamiel, se entablo a 150 panelistas no entrenados para que nos dieran resultados

significativos.

Tabla 3-11: Esquema de evaluación de análisis sensorial de la bebida alcohólica

PARÁMETROS	ESCALA DE PUNTUACIÓN
Olor	1-5
Color	1-5
Sabor	1-5

Realizado por: (Ruiz, 2023)

En donde las puntuaciones son representadas de la siguiente manera:

5= Excelente

4= Muy buena

3= Buena

2= Regular

1= Mala

3.8.7 Análisis económico

Los costos de producción se determinaron sumando todos los gastos que se generaron en la elaboración de la bebida alcohólica y divididos para la cantidad total obtenida en cada uno de los tratamientos.

El beneficio/costo se obtuvo dividiendo los ingresos totales para los egresos realizados.

CAPITULO IV

4. MARCO DE RESULTADOS, DISCUSIÓN Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Caracterización fisicoquímica del sustrato

En la tabla 4-1, se presentan los resultados que se obtuvieron al realizar la caracterización fisicoquímica del sustrato.

Tabla 4-1: Resultados obtenidos con respecto a la caracterización del sustrato (aguamiel de cabuya)

Parámetro	Unidad	Ruiz, 2023	Cuellar & Marcos, 2019	Bautista & Arias, 2008
Acidez	%	0,03	0,69	0,05
Ph	-	4,06	4,35	7,72
Solidos solubles	°Brix	15,84	15,03	-
Cenizas	%	0,24	0,44	0,23
Azucares reductores	-	7,97	1,85	9,08
Índice de refracción	-	1,35	-	-

Fuente: Cuellar & Marcos, 2019, p. 55; Bautista & Arias, 2008.

Realizado por: Ruiz C., 2023.

4.1.1 Acidez

El contenido de acidez en el sustrato en la presente investigación fue de 0,03 % valor similar al registrado por el valor encontrado por Bautista & Arias, (2008) en su estudio bromatológico realizado al aguamiel de *Agave Americano L*, es inferior al reportado por Cuellar & Marcos, (2019) en su trabajo de investigación de obtención de una bebida a partir de aguamiel de cabuya negra y blanca, ya que obtuvieron 0.69% de acidez titulable en aguamiel de cabuya negra. Esto se debe posiblemente a la procedencia de la planta y el tipo que se utilizó.

4.1.2 pH

Se obtuvo un valor de pH de 4, 06 en el aguamiel de cabuya, valor que es similar al reportado por (Cuellar & Marcos, 2019, p. 55) que en su estudio obtuvo un pH de 4,35, por otro lado, (Bautista & Arias, 2008) determinó un pH de 7, 72 en aguamiel de cabuya negra, discrepando de los anteriores en gran medida; una de las razones podría verse influenciada por el tipo de planta o a su vez la procedencia de la misma.

4.1.3 Sólidos solubles

Los datos encontrados en cuanto a sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix) fueron de 15,84% valor que coincide con el determinado por (Cuellar & Marcos, 2019, p. 55) en su análisis en aguamiel de cabuya negra, estos valores se deben debido al estado de maduración de la cabuya ya que el estado de maduración fue similar.

4.1.4 Cenizas

Se obtuvo 0,24% de cenizas, valor muy similar a los reportados por (Cuellar & Marcos, 2019, p. 55) y (Bautista & Arias, 2008) que encontraron valores de 0,44 y 0,23% respectivamente, en estudios similares al realizado en esta investigación. El valor de las cenizas en la cabuya no suele variar considerablemente ya que de acuerdo con (Cuellar & Marcos, 2019, p. 28) en su composición nutricional el contenido de cenizas no sobrepasa el 0,5%.

4.1.5 Azúcares reductores

Los azúcares reductores en esta investigación se midieron en cuanto al contenido de glucosa obteniendo un valor de 7,97% que se acerca al valor encontrado por Bautista & Arias (2008) que encontró 9,08, en cuanto que (Cuellar & Marcos, 2019, p. 55) reporta 1,85% de azúcares reductores, esto se debe a que su contenido posiblemente no fue medido en función de la glucosa sino de otro azúcar reductor como puede ser la fructosa, manosa, lactosa entre otros.

4.1.6 Índice de refracción

Por último, el índice de refracción determinado en el sustrato es de 1,35, lo cual quiere decir que el aguamiel utilizado es similar a la miel de abeja en cuanto a su índice de refracción ya que de esta su valor es de 1,49 considerando que el índice de refracción está directamente relacionado con la densidad del líquido.

4.2 Caracterización microbiológica del sustrato

Los resultados del recuento de levaduras realizado al sustrato se presentan en la tabla 4-2, misma que se detalla a continuación:

Tabla 4-2: Resultados del recuento de levaduras en el sustrato (aguamiel de cabuya)

Determinación	Tipo de levadura	Media	±	D.E.
Recuento de levaduras	Nativas	5,38x10 ⁶	±	1,66x10 ⁶

Realizado por: Ruiz C., 2023.

De acuerdo al análisis microbiológico del recuento de levaduras presentes en el aguamiel de la cabuya se determinó que contiene 5,38x10⁶, 1,66x10⁶ UFC, siendo una cantidad considerable para realizar el proceso de fermentación natural en la misma, según el estudio realizado por Herrera (2008), entre las levaduras que se encuentran de manera natural en el aguamiel de cabuya se encuentran las del género *Saccharomyces* y no *Saccharomyces*. La gran cantidad de azúcares presentes en el aguamiel favorecen a la producción de etanol de manera natural gracias a la población microbiana presente.

4.3 Caracterización sensorial del sustrato

Los resultados obtenidos de la caracterización sensorial del sustrato se detallan en la tabla 4-3.

Tabla 4-3: Resultados de la caracterización sensorial del sustrato (aguamiel de cabuya)

Parámetros	Aguamiel de Cabuyas			H cal	Prob.	
	423	106	742			
Sabor	5 Demasiado Dulce	5 Demasiado dulce	Muy amargo	2	59,79	< 0,0001
Color	4 Muy ambarino	4 Muy ambarino	Muy ambarino	4	2,17	0,0544
Olor	5 Característico olor fresco	5 Característico olor fresco	Inoloro	3	52,22	< 0,0001

+Realizado por: Ruiz C., 2023.

4.3.1 Sabor

El sabor del aguamiel de cabuya presenta diferencias altamente significativas probablemente al efecto del tiempo de reposo realizado a las muestras, con una puntuación de 4 categorizándose como “Muy dulce” a las muestras extraídas el mismo día de la perforación al penco (muestras 423 y 106), mientras que, la muestra 742 que fue extraída a los 7 días de la perforación obtuvo una puntuación de 2 correspondiente a “Muy amargo”, es evidente el cambio en cuanto al sabor

debido al tiempo de reposo que se realizó a la última muestra ya que en los 7 días la muestra en estado natural, sin ningún tipo de conservación sufre varios cambios químicos dentro de su composición incluida la fermentación natural haciendo que pierda su sabor. Las primeras muestras cumplen con los estándares de calidad para el agua de Agave descrito en la norma NMX-FF-110- SCFI-2008 donde se menciona que debe ser su sabor característico dulce.

4.3.2 Color

El color no presenta diferencias significativas por efecto del tiempo de reposo, todas las muestras se categorizaron como “Muy ambarino” con una puntuación de 4/5, cumpliendo con los requisitos estipulados en la norma la norma NMX-FF-110- SCFI-2008 para el color del aguamiel de cabuya.

4.3.3 Olor

En cuanto al parámetro olor del aguamiel de cabuya los datos obtenidos presentan diferencias altamente significativas por efecto del tiempo de reposo de la muestra teniendo un valor de 5 “Característico olor fresco” para las muestras receptadas el primer día, mientras que la puntuación para muestra recolectada a los siete días calificó como “inolora” con una puntuación de 3, al igual que el sabor, en este parámetro es evidente que los cambios químicos, biológicos naturales sucedidos en el aguamiel es la razón de las diferencias percibidas por los panelistas, por otro lado de acuerdo con (López, 2013, p. 98) el olor del aguamiel debe ser propio característico, condición que cumplen las muestras receptadas el mismo día.

4.4 Caracterización fisicoquímica de la bebida alcohólica

En la tabla 4-4, se presentan los resultados de la bebida alcohólica realizada a base de aguamiel de cabuya con diferentes levaduras.

Tabla 4-4: Resultados de los análisis fisicoquímicos realizados a la bebida alcohólica

Parámetro	Tipo de levadura			E.E.	Prob.
	Nativa	Comercial	Bosque Pungalá		
Alcohol	31,80 c	14,80 a	19,40 b	0,28	< 0,0001
Aldehídos	0,02 b	0,00 a	0,00 a	1,2E-03	< 0,0001
Furfural	0,00	0,00	0,00	0,00	-----

Metanol	0,40	b	0,04	a	0,03	a	0,04	< 0,0001
Alcoholes superiores	26,38	c	13,88	a	18,16	b	0,26	< 0,0001
Esteres	0,82	b	0,52	a	0,81	b	0,01	< 0,0001
Extracto seco	0,29	b	0,28	b	0,22	a	3,5E-03	< 0,0001

Realizado por: Ruiz C., 2023.

Para el análisis fisicoquímico se registran diferencias altamente significativas para el contenido de alcohol; metanol, extracto seco, alcoholes superiores y esterres registrándose los mayores valores en el tratamiento 1 con 31,80°, 0,40 mg/ml, 0,29ng/ml, 26,38 mg/ml, 0,82 mg/ml respectivamente y los menores valores en el tratamiento 2 levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) con 14,80°, 0,04mg/ml, 0,28 mg/ml, 13,88 mg/ml, 0,52 mg/ml, ; mientras que para el parámetro de aldehídos registró con 0,02 mg/ml el T1 (levadura nativa) y para la presencia de furfural no se evidencio diferencias estadísticas entre los tratamientos puesto que en ninguno se registra valores; por lo cual los datos obtenidos en porcentajes de alcohol de la bebida según (Montero, 2023, p. 59), posiblemente depende de su adaptación al sustrato y así el metabolismo será mejor y por ende van a producir mayor cantidad de alcohol, como es el caso de las levaduras nativas que están presentes de manera natural por ende su metabolismo es mejor, haciendo que exista mayor producción de alcohol.

Sin embargo estos valores son inferiores a los registrados por (Loor,2018, p.12) su investigación titulada “Obtención de alcohol etílico a partir de dos variedades de cabuya: alternativa para su industrialización” determinó que la bebida alcohólica contenía 40° de alcohol, he inferiores a los reportados por (Cuellar & Marcos, 2019, p.59) encontraron valores de 14,67° en su investigación sobre la “Obtención de una bebida alcohólica a partir del aguamiel de cabuya negra (*agave americana l.*) y cabuya blanca (*fucrea andina*) aromatizada con cedrón (*aloesia citriodora*) y toronjil (*melissa officinalis*)”, valor que se acerca al valor encontrado al realizar la bebida con levadura comercial y levadura aislada del Bosque Pungalá, sin embargo, esto posiblemente se debe a la procedencia del sustrato tomando en consideración que estos parámetros se encuentran dentro de los límites de aceptación que establece la norma INEN 1837 para licores fermentados.

4.4.1 Aldehídos

La bebida alcohólica presenta diferencias altamente significativas en cuanto al contenido de aldehídos (acetaldehídos) por efecto de la levadura utilizada, presentando el mayor contenido la

bebida fermentada naturalmente con un valor de 0,02 mg/100ml de la bebida y para las bebidas realizadas con la levadura comercial y con las levaduras aisladas del del bosque Pungalá no existe presencia de acetaldehídos, esto posiblemente es debido a que como lo menciona (Hills, 2005, p. 45) la presencia de aldehídos en una bebida alcohólica existe cuando el alcohol se oxida dando paso a la formación de acetaldehídos lo cual hace que las bebidas tengan un olor no deseado es por ello que en caso de existir su presencia en las bebidas su cantidad será mínima. Los valores de aldehídos en esta investigación son mínimos en comparación con los determinados por (Cuellar & Marcos, 2019, p.59) quién en su investigación detalló valores de 0,93 y 0,03 de ácido acético, así como también (Loor, 2018, p.12) reportó valores de 10 mg/100mL de acetaldehídos en su bebida elaborada.

4.4.2 Furfural

Las bebidas realizadas con las distintas levaduras no contienen furfural en su composición fisicoquímica, haciendo que las bebidas elaboradas no causen efectos como mareos, náuseas, dolor de cabeza que son los principales síntomas que provoca este compuesto, sin embargo, en la norma mexicana “Norma Mexicana NOM-142-SSA1/SCFI-2014” para bebidas alcohólicas se tolera hasta un máximo de 4mg por cada 100 ml de alcohol.

4.4.3 Metanol

Los resultados obtenidos en cuanto al contenido de metanol presente en las bebidas elaboradas reportan diferencias altamente significativas por efecto de las levaduras utilizadas, teniendo el valor más alto en la bebida fermentada naturalmente (0,40 mg/100ml) y con valores de 0,04 y 0,03 mg/ml para las bebidas elaboradas con levadura comercial y aisladas del bosque Pungalá respectivamente. Este efecto quizá se genera por el tipo de levadura utilizada, la levadura presente de manera natural en el aguamiel gracias a su adaptación en el medio puede generar la mayor cantidad de compuestos, mientras que las otras levaduras no van a trabajar de la misma manera es por ello que se produce menor cantidad (Sánchez, 2005), no obstante, en las bebidas alcohólicas su presencia puede causar efectos secundarios y daños a la salud, es por ello que la normativa lo establece como máximo 10 mg/100ml en licores fermentados. Loor (2018, p.12) en su bebida realizada a base de aguamiel de agave determinó que contenía < 2,5 mg/100ml de metanol, valor que es considerablemente mayor en comparación con los determinados en esta investigación, estableciéndose que las bebidas realizas no causaran daño a la salud de las personas que lo consuman.

4.4.4 Alcoholes superiores

El contenido de alcoholes superiores presenta diferencias altamente significativas por efecto de las levaduras utilizadas, reportándose el mayor contenido al realizar la bebida realizada con las levaduras presentes de forma natural en el aguamiel con un valor de 26,38mg/100ml y el menor contenido se encuentra en la bebida realizada con levadura comercial con 13,88 mg/100ml de alcoholes superiores. De acuerdo con (Montero, 2022, p. 57) esto puede deberse por el sustrato utilizado y a la capacidad de las levaduras de producir enzimas capaces de metabolizar los aminoácidos presentes en el medio, mientras más aminoácidos presentes será mayor la cantidad de alcoholes superiores que en las bebidas alcohólicas son los responsables del flavor.

Los resultados obtenidos se aproximan a los valores reportados por (Loor, 2018, p.12) quien obtuvo 20 mg/100ml de alcoholes superiores en bebida alcohólica de cabuya, cabe mencionar que la variabilidad depende la cantidad de sustrato, tiempo de fermentación, tipo de levaduras, e incluso la cantidad de inóculo, pese a ello los valores están dentro de las especificaciones de la norma INEN 1837 para bebidas alcohólicas fermentadas.

4.4.5 Ésteres

En cuando a los datos obtenidos con respecto al contenido de esteres medido como acetato de etilo en las bebidas, presentan diferencias altamente significativas por efecto del tipo de levadura utilizada, encontrándose los valores más altos al realizar la bebida con levaduras nativas y levaduras aisladas del bosque Pungalá con valores de 0,82 y 0,81 en su orden, y el menor valor al realizar la bebida con levadura comercial con un valor de 0,52. Probablemente se debe a que las levaduras presentes de origen natural en las frutas o en te caso en al aguamiel de la cabuya tienen la capacidad de aprovechar los componentes para la producción de ya sean compuestos es por ello que existe mayor contenido de esteres en las bebidas realizadas con levaduras nativas y las aisladas en el bosque Pungalá mientras que al utilizar la levadura comercial la cantidad disminuye ya que las levaduras comerciales la mayoría son específicas para la producción de compuestos.

4.4.6 Extracto seco

Los datos obtenidos con respecto al contenido de extracto seco de las bebidas alcohólicas realizadas reportan diferencias altamente significativas por efecto de las levaduras utilizadas, presentando el contenido menor al emplear levaduras aisladas del bosque Pungalá con 0,22 g/L y

el mayor contenido con valores similares cuando se utilizó levadura comercial y levaduras nativas con valores de 0,28 y 0,29 g/L respectivamente, este efecto posiblemente se produce por el proceso de fermentación mismo, puesto que no se van a eliminar completamente todas las sustancias presentes a menos que se realice un proceso adicional para eliminarlos es por ello que van a existir en mínimas cantidades. Al comparar los resultados obtenidos con los de (Loor, 2023, p.12) que reportó un valor de 0,09 g/L se puede deducir que también el tipo de levadura que se utiliza influye en la cantidad de residuos que no se volatilizan tomando en consideración que la levadura comercial en esta investigación presenta menor cantidad de extracto seco.

4.5 Caracterización microbiológica de la bebida alcohólica

En la tabla 4-5 se presentan los resultados del análisis sensorial realizado a las bebidas alcohólicas.

Tabla 4-5: Resultados del análisis microbiológico en las bebidas alcohólicas.

Determinación	Tipo de levadura	Media	±	D.E.
Mohos y levaduras (UFC/ml)	Nativa	0,4 x10 ¹	±	0,54Ex10 ¹
	Comercial	0,1 x10 ¹	±	0,1Ex10 ¹
	Bosque Pungalá	1,4x10 ¹	±	0,54Ex10 ¹

UFC: Unidades Formadoras de Colonias

Realizado por: Ruiz C., 2023.

4.5.1 Mohos y levaduras

En cuanto a los análisis microbiológicos se reportaron diferencias estadísticas entre los tratamientos registrándose una mayor población en el tratamiento T3 levaduras aisladas del bosque Pungalá (*Saccharomyces spp*) con 14 UFC/ml, con una población de 4 UFC/ML para el T1 levadura nativa (*Saccharomyces spp*) y 1 UFC/ml para el tratamiento T2 levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*). Tomando en consideración que los tratamientos 1 y 2 están dentro de lo que establece la NORMA INEN 2802 con un máximo de 10 UFC/ml, no así el T3 de levaduras aisladas del bosque Pungalá (*Saccharomyces spp*) registrando mayor población.

4.6 Caracterización sensorial de la bebida alcohólica

Los resultados del sensorial realizado a los 150 panelistas, una vez realizada la prueba no paramétrica cualitativa de Kruskal- Wallis, reportaron los valores que se detallan a continuación:

Tabla 4-6: Resultados del análisis sensorial realizado a las bebidas alcohólicas

Parámetros	Tipo de levadura			H cal	Prob.
	Nativa	Comercial	Bosque Pungalá		
Sabor	4,0 Muy Buena	3,0 Buena	4,0 Muy Buena	220,34	< 0,0001
Color	5,0 Excelente	5,0 Excelente	4,0 Muy Buena	68,82	< 0,0001
Olor	5,0 Excelente	4,0 Muy Buena	4,0 Muy Buena	39,96	< 0,0001

Realizado por: Ruiz C., 2023.

En lo que se refiere a los análisis sensoriales el T1 (levadura nativa) obtuvo una puntuación dada por los evaluadores de sabor (4) muy buena, color y olor de (5) excelente siendo por lo tanto el que mejor puntaje obtuvo. Seguido del T3 (levadura aislada) que obtuvo un puntaje de sabor (4), color y olor (4) y finalmente el T2 (levadura comercial) obtuvo el menor puntaje en sabor (3) buena, color (5) y olor (4). Posiblemente esto se da a que en bebidas alcohólicas las percepciones en cuanto a sabor, olor y color suelen discreparse y más aún al utilizar panelistas no entrenados, cada uno tiene su percepción distinta, sin embargo cabe resaltar que las bebidas tienen buena acogida, corroborando estos resultados con los obtenidos por (Loor, 2018, p.13) quien menciona que el sabor de las bebidas realizadas con agave tienen similitud al sabor del Tequila, y su percepción hacia los consumidores es de muy buena, estos resultados se ajustan a la NORMA NMX-FF- 110-SCFI-2008.

4.7 Costos de producción

En la tabla 4-7 se presentan los resultados en cuanto al análisis económico realizado a la bebida para obtener 750 ml de bebida alcohólica.

Tabla 4-7: Resultados del análisis económico para la elaboración de las bebidas alcohólicas

Detalle	Tratamientos		
	T1 L. nativa	T2 L. comercial	T3 L. bosque Pungalá
Materia prima			
Aguamiel de cabuya	1.46	1.46	1.46
Levadura comercial <i>Saccharomyces spp.</i>	0.47	0.93	0.47

TOTAL	1.93	2.39	1.93
Costos indirectos de fabricación			
Envase de vidrio	1.25	1.25	1.25
Airlock	1.75	1.75	1.75
Silicon	0.20	0.20	0.20
Energía eléctrica	0.10	0.10	0.10
Fundas	0.10	0.10	0.10
Guantes	1.75	1.75	1.75
Papel filtro	0.25	0.25	0.25
Gasolina	2.40	2.40	2.40
TOTAL	7.80	7.80	7.80
Costos de producción	9.73	10.19	9.73
Cantidad (ml)	750.00	750.00	750.00
Precio (750 ml)	12.00	10.00	12.00
Utilidad (10%)	0.97	1.02	0.97
Ingresos	10.97	13.02	10.97
Beneficio costo	1.28	1.13	1.28

Realizado por: Ruiz C., 2023.

4.7.1 Costo de producción

El costo de producción se calculó por cada 750 ml de bebida alcohólica elaborada con diferentes levaduras, encontrándose que, al utilizar levaduras Nativas y levaduras aisladas del bosque Pungalá, se obtuvo el costo de producción más bajo con \$ 9,73 dólares, mientras que, utilizar la levadura comercial el costo de producción aumenta a \$ 10,19 dólares.

4.7.2 Beneficio/costo

A través del indicador beneficio/costo se determinó que el mayor beneficio económico se obtiene al realizar la bebida con levaduras nativas y aisladas del bosque Pungalá, puesto a que se obtiene un B/C de 1.28, mientras que, al realizar la bebida con levadura comercial dicho valor se reduce a 1.13 de B/C.

CAPITULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

- Al caracterizar el aguamiel de cabuya en su composición fisicoquímica posee: 0,03% de acidez, pH de 4,06, sólidos solubles 15,84°Brix, 0,24% de cenizas, 7,97% de azúcares reductores y un índice de refracción de 1,35nD. Comprobándose la presencia de *Saccharomyces spp* como levadura nativa con una población de $5,38 \times 10^6$ UFC/ml, con características sensoriales que cumplen con los requisitos establecidos por la norma.
- La caracterización fisicoquímica de las bebidas elaboradas a partir de aguamiel de cabuya presenta diferencias estadísticas entre los tratamientos, registrándose valores más altos en el T1 al utilizar levadura nativa con un contenido de alcohol de 31,8°, 0,03 mg/100ml de metanol, 18,16 mg/100ml de alcoholes superiores, 0,81 mg/100 ml de esteroides, 0,22 mg/ 100ml de extracto seco, aldehídos 0,02 mg/ml y ausencia en furfural.

En lo que respecta al análisis microbiológico se registra una menor población de *Saccharomyces spp* en los tratamientos T1 y T3, ya que registraron recuentos de 1 y 4 UFC/ml respectivamente. En cuanto al análisis sensorial las bebidas de los tratamientos T1 y T3 tuvieron una aceptación de muy buena parámetros que se encuentra dentro de los requisitos que establece la NORMA INEN 2238.

- Al elaborar la bebida alcohólica con levaduras en los T1 y T3 frente al T2 con levadura comercial, genera un costo de producción de 10,19 dólares alcanzando un beneficio/costo de 1,28, siendo los más rentables en términos económicos.

5.2 Recomendaciones

- Elaborar bebidas utilizando aguamiel de cabuya, ya que registra parámetros fisicoquímicos, microbiológicos, y sensoriales aceptables.
- Ampliar investigaciones con el desarrollo de nuevos productos biotecnológicos con levadura *Saccharomyces spp* aislada del bosque Pungalá.

BIBLIOGRAFÍA

1. **Amaya, W & Lasluisa J.** Obtención, caracterización e incorporación de mucilago de malva (*Malva sylvestris*) y su efecto en la clarificación del aguamiel del agave (*agev americana L.*) para la producción de miel. [En línea] (Trabajo de Titulación) (Pregrado). Universidad Técnica de Cotopaxi, 2018. [Citado el: 10 de Mayo de 2023.] Disponible en: <https://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/9331/1/PC-000454.pdf>.
2. **AYORA, David & QUITO, Karol.** "Procesos de extracción del Mishqui y elaboración del Chaguarmishqui en Ñamarin, provincia del Azuay. Propuesta de nuevos usos gastronómicos y bebidas". [En línea] (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad de Cuenca, 2013. pág. 38 [Consultado el: 13 de Mayo de 2023.]. Disponible en: <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/5025>
3. **BAUTISTA, Nelson. & ARIAS, Gladys.** "ESTUDIO BROMATOLOGICO DE AGUAMIEL DE AGAVE AMERICANA L. (MAGUEY)". Ciencia e investigación, vol. 11, n° 2, (2008), (Perú). págs. 48.
4. **BAUTISTA, M; et al.** "El agave tequilana Weber y la producción de tequila"[en línea], 2011, (México), vol. 11 (2), págs. 29-30. [Consulta: 12 junio 2023]. Disponible en: <https://doi.org/10.15174/au.2001.301>.
5. **CERVANTES MENESES, Livia Guisella & CUYA INGA, Sonia.** Elaboración de miel de cabuya y estudio pre factibilidad de una planta en el distrito Guanca Huanca, provincia de Angaraes, departamento de Huancavilca. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Nacional de San Marcos, Lima. 2015. págs. 273-279. [Consulta: 2023-05-03]. Disponible en: <https://hdl.handle.net/20.500.12672/4227>.
6. **CUELLAR CARLOS, Keminy Ela & MARCOS ROSAS, Diana Liada.** "Obtención de una bebida alcohólica a partir del aguamiel de cabuya negra (*Agave americana L.*) y cabuya blanca (*Fucraea andina*) aromatizada con cedrón (*Aloysia citriodora*) y toronjil (*Melissa officinalis*)". [En línea] (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Nacional Hermilio Valdizán, Huánuco-Perú. 2019. págs. 35-45. [Consulta: 07 junio 2023]. Disponible en: <https://repositorio.unheval.edu.pe/handle/20.500.13080/5243>
7. **DÁVILA, C.** Estrategias para la comercialización de los derivados de la Cabuya (*Agave americana L.*). Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima. [En línea] 2002. [Citado el:

20 de Mayo de 2023.]

8. **DUQUE SÁNCHEZ, Juan Carlos.** Evaluación de tres métodos de reproducción del penco azul (*Agave americana*), en la Parroquia Tocachi, Cantón Pedro Moncayo Provincia Pichincha. [En línea] (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca, 2013. [Citado el: 10 de Mayo de 2023.] <https://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/5068>.
9. **ESCALANTE, A; et al.** "Characaterization of bacterial diversity in Pulque, a traditional Mexican alcoholic fermented beverage, as determined by 16S rDNA analysis". FEMS Microbiolology Letters [en línea], 2004, (Inglaterra), págs.273-279. [Consulta: 28 mayo 2023]. ISSN 1090. Disponible en: <https://academic.oup.com/femsle>
10. **ESCAMILLA, M; et al.** *Fermentación alcohólica* [en línea]. Iztapalapa- México: Universidad Autónoma metropolitana, 2008 [02 junio 2023]. Disponible en: <http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/fermentaciones.pdf>.
11. **ESTRADA, G; et al.** "Levaduras aniquilantes (zimocidas) y su importancia en la producción de cerveza", *Bebidas Mexicanas*, vol. 5, n° (3), (1996), (México). págs. 4-8.
12. **FEMAP.** *Proyecto forestería en micricuencas Altoandinas de PRONMACHCS*. Lima: s.n., 1998.
13. **GARASSINI, L.** *Microbiología Tecnológica*. Caracas-Venezuela Ediciones de la Universidad Central de Venezuela, 1964.
14. **HERRERA, M; et al.** "Identificación polifásica de levaduras y bacterias ácido lácticas aisladas de aguamiel, pulque y semilla". In VII Simposio Internacional de Producción de alcoholes y levaduras, [en línea], 2008, (México). [Consulta: 14 junio 2023]. Disponible en: https://smbb.mx/congresos%20smbb/acapulco09/TRABAJOS/AREA_X/OX-07.pdf
15. **HILLS, P.** Degustar el vino. El sabor del vino explicado [en línea]. Buenos Aires- Argentina: Albatros, 2005. [Consultado: 20 de julio 2023]. Disponible en: https://books.google.com.ec/books/about/Degustar_El_Vino.html?id=z1wtcJdV8AsC&redir_esc=y
16. **HRISTOV A.** "Artículo científico sobre Agave americana ". *Ciencia net* [En línea] 2004.

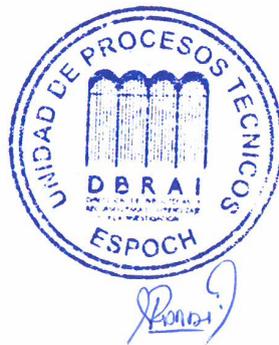
[Citado el: 10 de Mayo de 2023.] Disponible en:
<http://www.ciencia.net/VerArticulo/Agave-americana>.

17. **JURADO LÓPEZ, Sofía Evelyn & SARZOSA PAZMIÑO, Xavier Santiago.** Estudio de la cadena agroindustrial de la cabuya en la producción de miel y licor de la cabuya. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Escuela Politécnica Nacional, Quito-Ecuador. 2009. págs. 76-77. [Consulta: 2023-06-12]. Disponible en: <https://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/1693/1/CD-2305.pdf>
18. **LINNÉ, CARL VON.** *Species plantarum*. Holmia : Impensis Direct, Lurentii Salvii, 1763.
19. **LUZURIAGA, O.** *Análisis de composición química de la penca azul*. Quito: Laboratorios LABOLAB, 2010.
20. **MACY, R.** *Química orgánica simplificada*. Barcelona-España: Editorial Reverté, 2005, pág. 281.
21. **MENA, A.** Carbonatación del Aguamiel. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Autónoma Agraria de México, 2013. pág. 47 [Consulta: 2023-06-12]. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/handle/123456789/549?show=full>
22. **MOYA, R.** *Climas del Ecuador*. 1st ed. Quito : INHAMI, 2006. págs. 9-10.
23. **NOM-199-SCFI-2017.** "*Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba*".
24. **NOM-111-SSA1-1994** "*Método para la cuenta de mohos y levaduras en alimentos*"
25. **NMX-V-041-1972.** "*Método de prueba para la determinación de pH en bebidas alcohólicas*".
26. **NMX.V.022.172.** "*AGUAMIL*"
27. **NMX-V-004-NORMEX-2013.** "*Bebidas alcohólicas-Determinación de furfural-Métodos de ensayo*"
28. **NMX-V-005-NORMEX-2013.** "*Bebidas alcohólicas-Determinación de aldehídos, esteres, metanol y alcoholes superiores-Métodos de ensayo*"

29. **NMX-V-006-NORMEX-2013.** "Bebidas alcohólicas- Determinación de azúcares- Azúcares reductores directos y totales"
30. **NMX-V-013-NORMEX-2013.** "Bebidas alcohólicas- Determinación del contenido alcohólico (por ciento de alcohol en volumen a 20°C (%Alc. Vol.)- Método de ensayo.
31. **NMX-V-015-NORMEX-2014.** "Bebidas alcohólicas-Determinación de acidez total, acidez fija y acidez volátil- Métodos de prueba"
32. **NMX-V-017-NORMEX-2014.** "Bebidas alcohólicas- Determinación de extracto seco y cenizas- Método de ensayo"
33. **NORMA INEN 1837.** "BEBIDAS ALCOHOLICAS. LICORES. REQUISITOS"
34. **NORMA INEN 338.** "BEBIDAS ALCOHOLICAS"
35. **PAMPLONA, R.** *ENCICLOPEDIA DE LAS PLANTAS MEDICINALES.* Argentina: Safeliz S.L, 2007. pág. 558.
36. **PARDO O.** El agave americano (Agave americana L): uso alimentario en el Perú. *Chloris Chilensis.* [En línea] 2005. [Citado el: 11 de Mayo de 2023.] Disponible en: <http://www.chlorischile.cl/>.
37. **PINAL, Z & GSCHAEDLER, M** " La etapa de fermentación y la generación de compuestos organolépticos". *Bebidas Mexicana*, vol. 7, n° 1, (1998), (México). págs. 10-12.
38. **PRESCOTT, S & DUNN, C** "*Microbiología Industrial*" Madrid-España: Ediciones Aguilar, 1960, págs. 8-9; 110-117
39. **PROY-NOM-199-SCFI 2015.** *BEBIDAS ALCOHOLICAS, DENOMINACIÓN, ESPECIFICACIONES FISICOQUÍMICAS, INFORMACIÓN COMERCIAL Y MÉTODOS DE PRUEBA*"
40. **RAMOS C.** Estudio fitoquímico y toxicológico, cuantificación de ácido oxálico por método permanganométrico y de absorción atómica; determinación de metales pesados por microscopía electrónica de barrido en las hojas de *Agave americans L* y *Bixa orellana L*. [En línea]. (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú. 1992. [Consultado: 2024-01-01]. Disponible en:

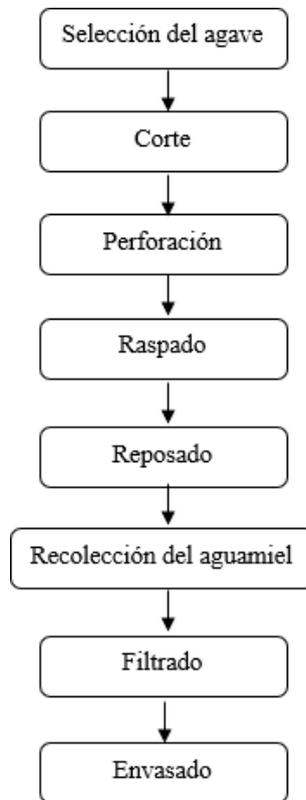
<https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-187004>.

41. **GONZALO, J.** Rivas. Alcohol. Bebidas alcohólicas. *Tratado de nutrición*, 2022, p. 431.
42. **ROMERO MENDOZA**, José Cristo. Las bebidas alcohólicas. 1976.
43. **TELLEZ, M.** "El conocimiento, una etapa importante en la producción del tequila". *Bebidas Mexicanas*, vol. 7, n° (1), (1998), (México). págs. 19-20.
44. **TOGORES, J.** *Tratado de Enología. Madrid*, España. 2003, Ed. Mundi-Prensa S.A.
45. **VASQUEZ, A.** Evaluación de dos procesos para la obtención de miel de *Agave atrovirens Karw.* [En línea] (Trabajo de titulación) (Pregrado). Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro". México. 2009.pág.14. [Consulta: 12 de Mayo de 2023]. Disponible en: <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/420/60980s.pdf?sequence=1>
46. **VENERO, J.** Formas de uso del maguey (Agave americana) en el humedal Lucre-Hucacarpay. Revista "Chloris Chilensis" Año 9, Cusco, Perú, [En línea] 2006. [Citado el: 11 de Mayo de 2023.] Disponible en: <http://www.chlorischile.cl>.

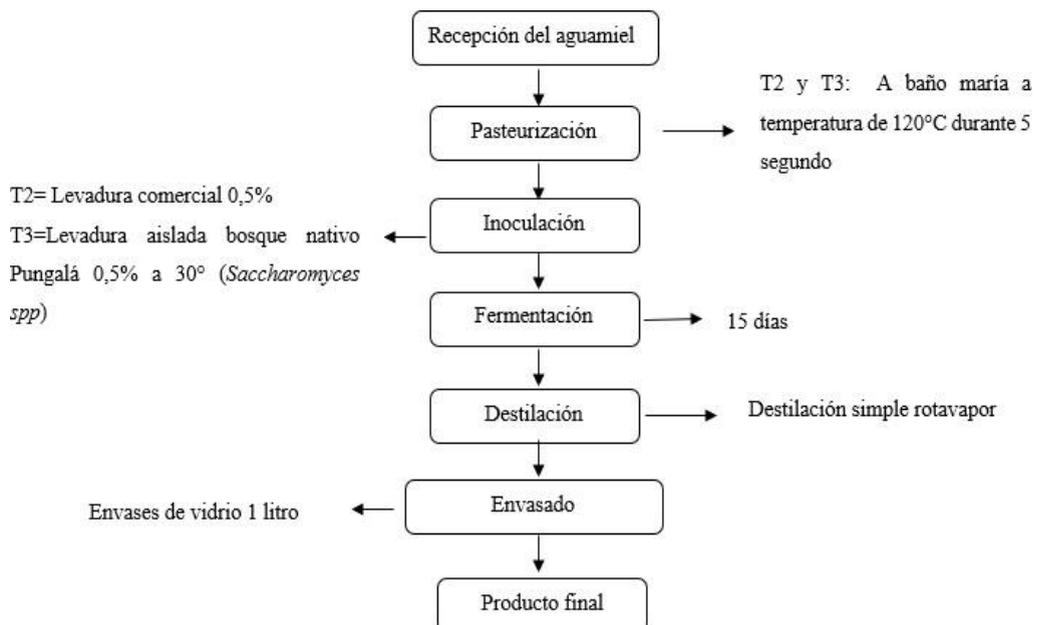


ANEXOS

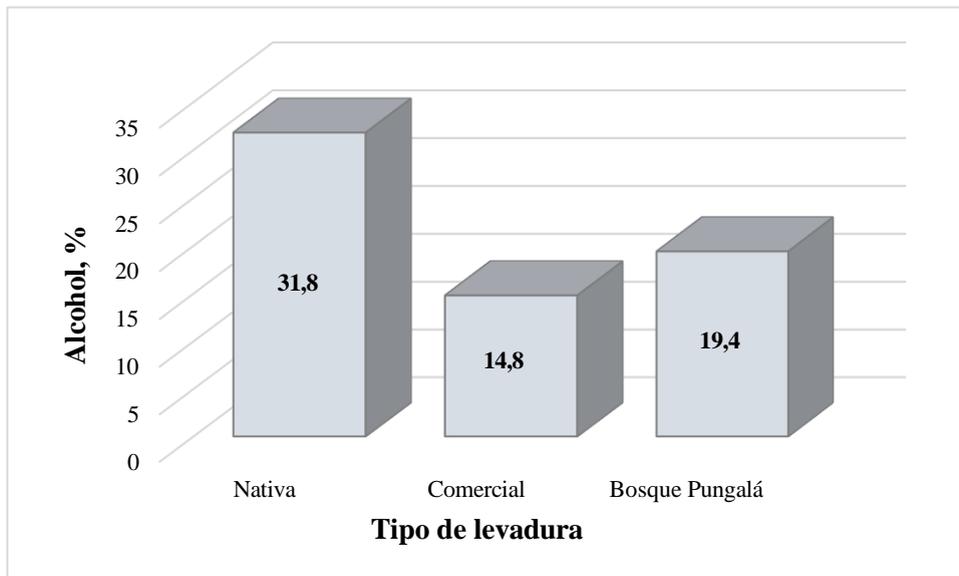
ANEXO A: DIAGRAMA DE EXTRACCION DE MATERIA PRIMA AGUAMIEL DE CABUYA



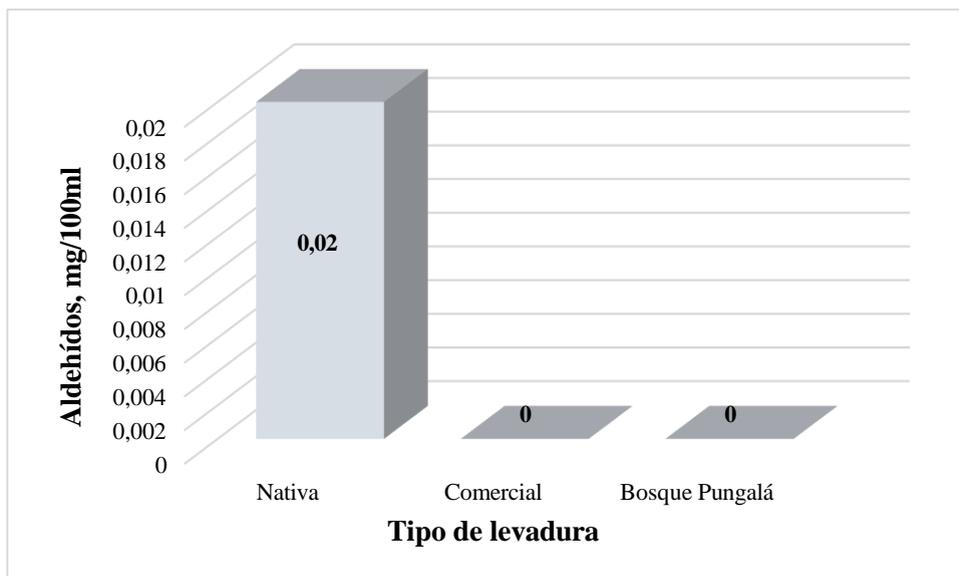
ANEXO B: DIAGRAMA DE ELABORACION DE BEBIDA ALCOHOLICA



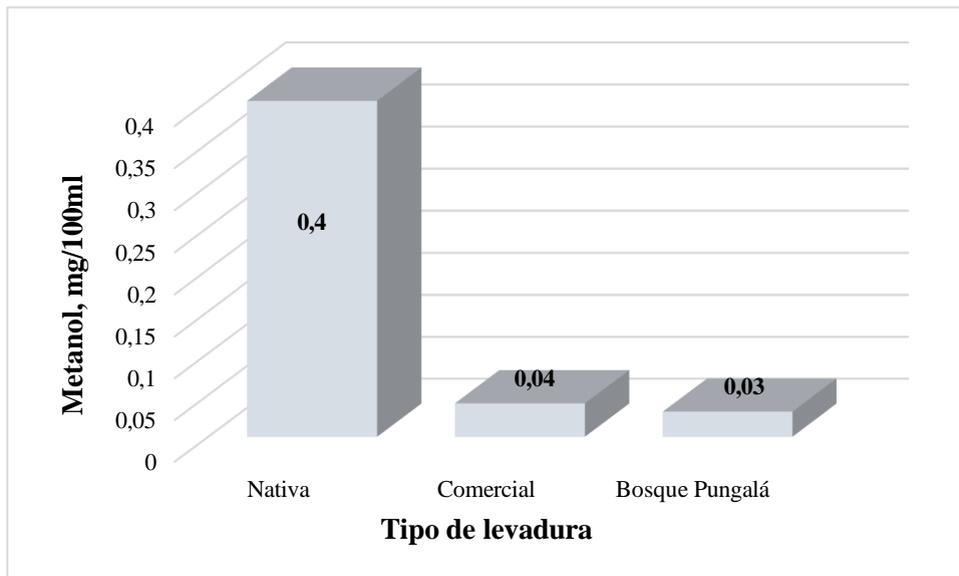
ANEXO C: CONTENIDO DE ALCOHOL DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA REALIZADA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA



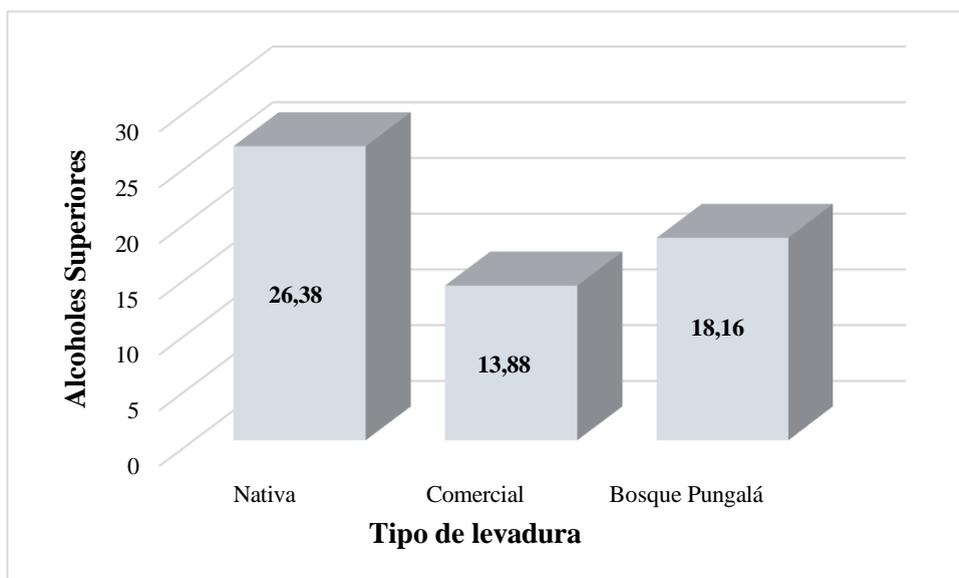
ANEXO D: CONTENIDO DE ALDEHÍDOS DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA REALIZADA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA



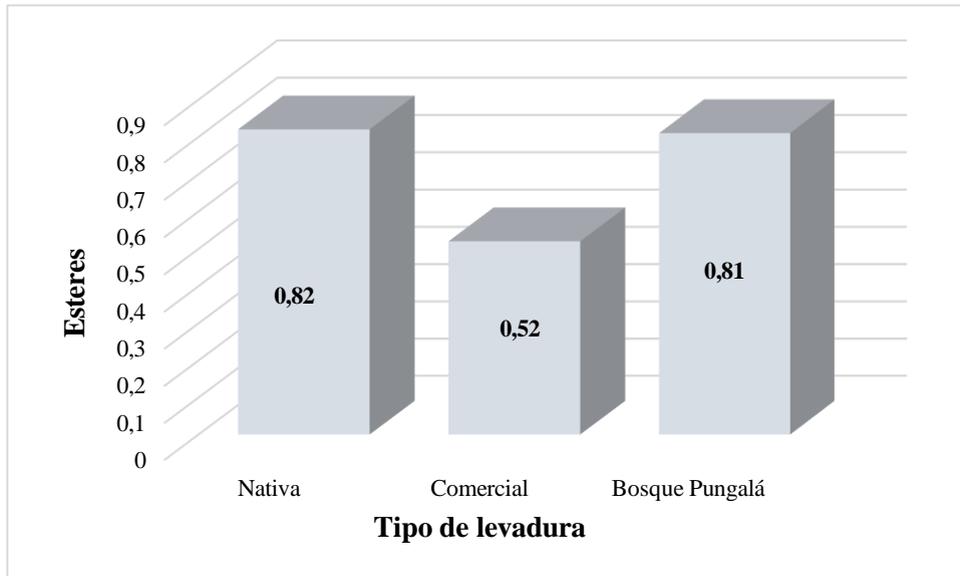
ANEXO E: CONTENIDO DE METANOL DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA REALIZADA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA



ANEXO F: CONTENIDO DE ALCOHOLES SUPERIORES DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA REALIZADA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA

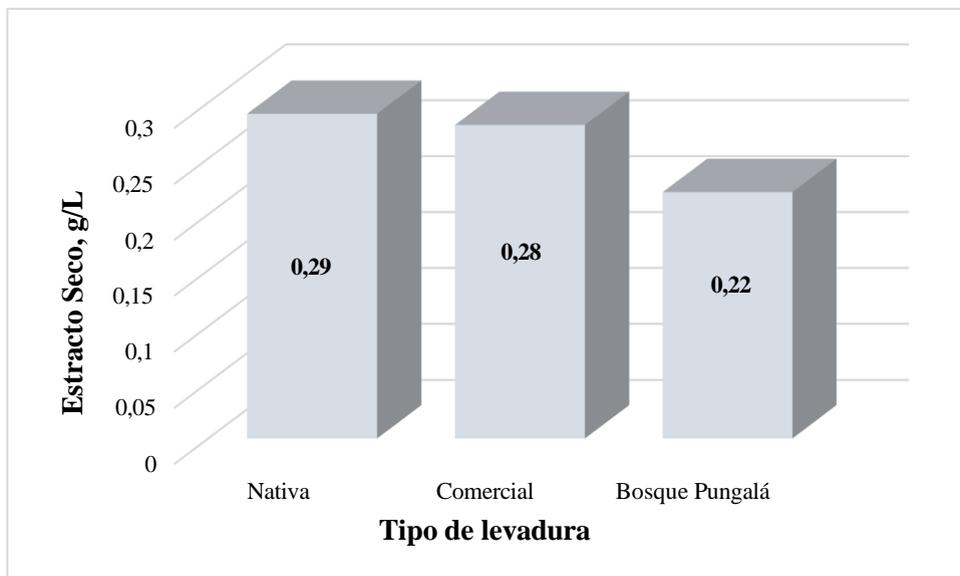


ANEXO G: CONTENIDO DE ESTERES DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA REALIZADA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA.



Realizado por: Ruiz C., 2023.

ANEXO H: CONTENIDO DE EXTRACTO SECO DE LA BEBIDA ALCOHÓLICA REALIZADA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURA



ANEXO I: RESULTADOS FISICOQUIMICOS DEL SUSTRATO

SUSTRATO	ACIDEZ	P H	°BR IX	CENIZAS	AZUCARES REDUCTORES	INDICE DE REFRACCION
R1	0,0284	4,1	15,8	0,246	8,258	1,34
R2	0,0284	4,1	15,8	0,244	8,258	1,35
R3	0,03408	4,1	15,8	0,234	8,258	1,34
R4	0,03124	4	15,9	0,24	7,529	1,35
R5	0,03124	4	15,9	0,239	7,529	1,35

ANEXO J: RESULTADOS DE RECuento DE LEVADURAS EN SUSTRATO

SUSTRATO	LEVADURAS
R1	7,1 x 10 ⁶
R2	5,9 x 10 ⁶
R3	3,0 x 10 ⁶
R4	6,5 x 10 ⁶
R5	4,4 x 10 ⁶

ANEXO K: RESULTADOS ANALISIS SENSORIAL SUSTRATO

	COLO R	OLOR	SABOR
423	4	5	5
423	4	5	5
423	5	5	5
423	4	5	4
423	4	5	5
423	4	5	5
423	4	5	5
423	3	5	5
423	4	5	5
423	4	5	5
423	4	5	5

423	4	5	5
423	4	5	4
423	3	5	5
423	4	5	4
423	4	5	4
423	4	5	5
423	4	5	5
423	4	5	5
423	4	5	5
423	4	5	3
423	4	5	4
423	4	5	5
423	4	5	4
423	5	5	5
423	5	5	5
423	5	5	5
423	4	5	5
423	5	5	5
423	4	5	5
106	4	4	5
106	4	5	5
106	4	3	5
106	4	4	5
106	4	4	5
106	4	4	4
106	3	4	4
106	4	4	5
106	4	5	4
106	4	5	4
106	4	5	4
106	4	5	5
106	4	5	5
106	4	5	4
106	4	5	5
106	4	5	5
106	3	5	4
106	4	5	4
106	4	5	4
106	4	4	5
106	4	4	5
106	4	5	5
106	3	4	5
106	4	4	4
106	4	5	4

106	4	5	4
106	3	5	4
106	4	5	4
106	4	5	4
742	4	4	3
742	3	4	3
742	4	4	2
742	4	3	3
742	4	3	2
742	4	3	3
742	3	3	2
742	4	3	2
742	4	3	1
742	4	3	2
742	4	3	1
742	4	3	2
742	4	4	2
742	4	4	2
742	4	4	3
742	4	4	3
742	4	4	2
742	4	4	2
742	4	4	3
742	4	3	3
742	4	3	2
742	4	2	2
742	4	3	3
742	4	3	2
742	4	3	2
742	4	4	2
742	4	4	2
742	4	4	2
742	4	3	3
742	4	4	3

ANEXO L: RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DE BEBIDA ALCOHÓLICA CON DIFERENTES TIPOS DE LEVADURAS

TRATAMIENTOS	% alcohol	Furfural	Aldehidos	Metanol	Alcoholes superiores	Esteres	extracto seco
T1 <i>L. NATIVA</i>	32,0	0,00	0,02	0,46	26,55	0,83	0,29
T1 <i>L. NATIVA</i>	32	0,00	0,02	0,46	26,55	0,83	0,29
T1 <i>L. NATIVA</i>	31	0,00	0,01	0,155	25,72	0,80	0,28
T1 <i>L. NATIVA</i>	32	0,00	0,02	0,46	26,55	0,83	0,29
T1 <i>L. NATIVA</i>	32	0,00	0,02	0,46	26,55	0,83	0,29
T2 <i>L. COMERCIAL</i>	15	0,00	0,00	0,04	14,07	0,53	0,28
T2 <i>L. COMERCIAL</i>	15	0,00	0,00	0,04	14,07	0,53	0,28
T2 <i>L. COMERCIAL</i>	14	0,00	0,00	0,037	13,13	0,50	0,26
T2 <i>L. COMERCIAL</i>	15	0,00	0,00	0,04	14,07	0,53	0,28
T2 <i>L. COMERCIAL</i>	15	0,00	0,00	0,04	14,07	0,53	0,28
T3 <i>L. BOSQUE PUNGALA</i>	20	0,00	0,00	0,03	18,72	0,83	0,23
T3 <i>L. BOSQUE PUNGALA</i>	20	0,00	0,00	0,03	18,72	0,83	0,23
T3 <i>L. BOSQUE PUNGALA</i>	18	0,00	0,00	0,027	16,85	0,75	0,21
T3 <i>L. BOSQUE PUNGALA</i>	20	0,00	0,00	0,03	18,72	0,83	0,23
T3 <i>L. BOSQUE PUNGALA</i>	19	0,00	0,00	0,0285	17,78	0,79	0,22

ANEXO M: RESULTADOS ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE BEBIDA ALCOHOLICA

TRATAMIENTOS	Mohos y Levaduras	
T1 <i>L. NATIVA</i>	1,0	X10 ¹
T1 <i>L. NATIVA</i>	0,0	X10 ¹
T1 <i>L. NATIVA</i>	0,0	X10 ¹
T1 <i>L. NATIVA</i>	0,0	X10 ¹
T1 <i>L. NATIVA</i>	1,0	x10 ¹
T2 <i>L. COMERCIAL</i>	2,0	x10 ¹
T2 <i>L. COMERCIAL</i>	2,0	x10 ¹
T2 <i>L. COMERCIAL</i>	1,0	x10 ¹
T2 <i>L. COMERCIAL</i>	0,0	x10 ¹
T2 <i>L. COMERCIAL</i>	0,0	x10 ¹
T3 <i>L. PROYECTO</i>	2,0	x10 ¹
T3 <i>L. PROYECTO</i>	2,0	x10 ¹
T3 <i>L. PROYECTO</i>	1,0	x10 ¹

4	5	5
4	5	5
4	5	5
4	5	5
4	5	5
5	5	5
5	5	5
5	5	5
5	5	4
5	5	4
5	5	5
4	5	5
4	5	5
4	4	5
5	5	5
5	5	5
5	5	5
5	5	5
5	5	5
5	5	4
5	5	4
5	5	4
5	5	4
5	5	4
5	5	5
5	5	5
4	5	4
4	5	4
4	5	4
4	5	3
4	5	3
4	5	3
4	5	3
4	5	4
4	5	3
4	5	4
4	4	3
4	4	4
4	4	3
5	4	3
5	5	4
5	5	4
5	5	4
4	5	4
4	5	5
4	5	5
4	5	5

4	5	3
4	5	3
4	5	4
4	5	3
4	5	4
4	4	3
4	4	4
4	4	3
5	4	3
5	5	4
5	5	4
5	5	4
4	5	4
4	5	5
4	5	5
4	5	5
4	5	5
5	5	5
5	5	5
5	5	5
5	5	4

	sabor	Color	olor
T2 LEVADURA COMERCIAL	3	4	4
	3	5	4
	3	5	4
	2	5	4
	3	5	4
	2	5	4
	3	5	4
	3	5	4
	3	5	4
	3	5	4
	3	5	4
	3	5	4
	3	5	4
	3	5	4
	3	5	4
	2	5	4
	2	5	4
	2	5	4
	3	4	4
	3	4	4
3	4	4	
4	4	4	
4	4	4	

3	4	4
3	4	4
2	4	4
2	5	4
3	4	4
4	4	3
3	5	4
3	5	3
3	5	4
3	5	3
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
2	5	4
2	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
4	4	4
4	4	4
4	5	3
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	4	4
3	4	4
3	5	4
3	5	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
3	4	4
3	5	4
2	4	4
3	4	4
3	5	4
3	5	4
2	5	4
3	5	4
2	5	4

3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
2	5	4
2	5	4
2	5	4
3	4	4
3	4	4
3	4	4
4	4	4
4	4	4
3	4	4
3	4	4
2	4	4
2	5	4
3	4	4
4	4	3
3	5	4
3	5	3
3	5	4
3	5	3
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
2	5	4
2	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
4	4	4
4	4	4
4	5	3
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	4	4

3	4	4
3	5	4
3	5	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
3	4	4
3	5	4
2	4	4
3	4	4
3	5	4
3	5	4
2	5	4
3	5	4
2	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
3	5	4
2	5	4
2	5	4
2	5	4
3	4	4
3	4	4
3	4	4
4	4	4
4	4	4
3	4	4
3	4	4
2	4	4
2	5	4
3	4	4
4	4	3

	sabor	Color	olor
T3 LEVADURA AISLADA BOSQUE PUNGALA	3	4	4
	3	4	4
	3	4	4
	3	4	3

3	4	4
3	4	4
3	4	4
4	4	5
3	5	5
3	5	3
3	5	3
4	5	3
4	5	4
4	5	4
4	5	4
4	4	4
3	4	4
3	4	4
3	4	4
3	4	3
4	5	4
3	4	4
3	4	4
3	4	4
3	4	4
3	4	3
3	5	4
3	4	4
3	5	4
5	5	4
5	5	4
5	5	4
5	5	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
3	4	4
3	4	4
4	4	4
4	5	4
3	5	4
3	5	3
3	5	3
3	5	4
3	5	4

3	5	4
3	5	4
3	4	4
3	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	3
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	3
4	4	4
4	4	4
3	4	4
3	4	4
3	4	4
3	4	4
4	4	5
3	5	5
3	5	3
3	5	3
4	5	3
4	5	4
4	5	4
4	5	4
3	4	4
3	4	4
3	4	4
3	4	3
4	5	4
3	4	4
3	4	4
3	4	4
3	4	4
3	4	3
3	5	4
3	4	4
3	5	4
5	5	4
5	5	4
5	5	4
5	5	4
4	4	4

4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
4	4	4
3	4	4
3	4	4
4	4	4
4	5	4
3	5	4

ANEXO O: ANALISIS DE VARIANZA DE OLOR, COLOR Y SABOR KRUSKAL WALLIS

Variable	Columnal	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
COLOR	106	30	3,87	0,35	4,00	2,17	
							0,0544
COLOR	423	30	4,10	0,48	4,00		
COLOR	742	30	3,93	0,25	4,00		
Variable	Columnal	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
OLOR	106	30	4,60	0,56	5,00	52,23	
							<0,0001
OLOR	423	30	5,00	0,00	5,00		
OLOR	742	30	3,43	0,57	3,00		
Variable	Columnal	N	Medias	D.E.	Medianas	H	p
SABOR	106	30	4,50	0,51	4,50	59,79	
							<0,0001
SABOR	423	30	4,73	0,52	5,00		
SABOR	742	30	2,30	0,60	2,00		

ANEXO P: ANALISIS DE VARIANZA EN BEBIDAS ALCOHOLICAS

% alcohol

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
% alcohol	15	0,99	0,992,87	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	S C	gl	C M	F	p-valor
TRATAMIENTOS	773,20	2	386,60	966,50	<0,0001
Error	4,80	12	0,40		
Total	778,00	14			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,06715

Error: 0,4000 gl: 12

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T2 L. COMERCIAL	14,80	5	0,28	A
T3 L. BOSQUE PUNGALA	19,40	5	0,28	B
T1 L. NATIVA	31,80	5	0,28	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Furfural

Variable	N	R ²
R ² Aj CV Furfural	15	
sd		sd
sd		

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTOS	0,00	2	0,00	sd	sd
Error	0,00	12		0,00	
Total	0,00	14			

Aldehidos

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV Aldehidos	15	1,00	1,00
5,23							

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	S C	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTOS	7,3E-04	2	3,7E-04	5476,00	<0,0001
Error	8,0E-07	12	6,7E-08		
Total	7,3E-04	14			

Test:TukeyAlfa=0,05 **DMS=0,0004**
 Error: 0,0000 gl: 12 **4**

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T3 L. BOSQUE PUNGALA	0,00	5	1,2E-04	A
T2 L. COMERCIAL	0,00	5	1,2E-04	A
T1 L. NATIVA	0,01	5	1,2E-04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Metanol

Variable	N	R ²	R ² Aj CV
Metanol	15	1,00	1,00 1,60

Cuadro de Análisis de la Varianza				(SC tipo III)	F	p-valor
F.V.	SC	gl	CM			
TRATAMIENTOS	0,60	2	0,30	38060,09	<0,0001	
Error	9,4E-05	12	7,9E-06			
Total	0,60	14				

Test:TukeyAlfa=0,05 **DMS=0,0047**
 Error: 0,0000 gl: 12 **3**

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.	
T3 L. BOSQUE PUNGALA	0,03	5	1,3E-03	A
T2 L. COMERCIAL	0,04	5	1,3E-03	B
T1 L. NATIVA	0,46	5	1,3E-03	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Alcoholes superiores

Variable	N	R ²	R ² Aj CV
Alcoholes superiores	15	0,99	0,99

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TRATAMIENTOS	403,75	2	201,88	596,78	<0,0001
Error	4,06	12	0,34		
Total	407,81	14			

Test:TukeyAlfa=0,05 **DMS=0,98136**

Error: 0,3383 gl: 12

TRATAMIENTOS	Medias	N	E.E.	
T2 L. COMERCIAL	13,88	5	0,26	A
T3 L. BOSQUE PUNGALA	18,16	5	0,26	B
T1 L. NATIVA	26,38	5	0,26	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Esteres

Variable	N	R ²	R ² Aj CV Esteres	15	0,98	0,97
3,26						

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	C M	F	p-valor
TRATAMIENTOS	0,28	2	0,14	258,9 1	<0,0001
Error	0,01	12	5,5E-04		
Total	0,29	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03945

Error: 0,0005 gl: 12

TRATAMIENTOS	Medias	N	E.E.
T2 L. COMERCIAL	0,52	5	0,01 A
T3 L. BOSQUE PUNGALA	0,81	5	0,01 B
T1 L. NATIVA	0,82	5	0,01 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

extracto seco

Variable	N	R ²	R ² Aj CV extracto
seco	15	0,94	0,93
2,95			

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	S C	gl	C M	F	p-valor
TRATAMIENTOS	0,01	2	0,01	96,44	<0,0001
Error	7,2E-04	12	6,0E-05		
Total	0,01	14			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01307

Error: 0,0001 gl: 12

TRATAMIENTOS	Medias	n	E.E.
T3 L. BOSQUE PUNGALA	0,22	5	3,5E-03 A
T2 L. COMERCIAL	0,28	5	3,5E-03 B
T1 L. NATIVA	0,29	5	3,5E-03 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

**ANEXO Q: ANALISIS DE VARIANZA BEBIDA ALCOHOLICA COLOR, SABOR Y OLOR
POR KRUSKAL WALLIS**

Variable	LEVADURAS	N	Medias	D.E.
SABOR	T1 LEVADURA NATIVA	150	4,48	0,50
4,00	220,34			<0,0001
SABOR	T2 LEVADURA COMERCIAL	150	2,97	0,58
3,00				
SABOR	T3 LEVADURA BOSQUE PUNGALA..	150	3,58	0,64
3,50				

Variable	LEVADURAS	N	Medias	D.E.
COLOR	T1 LEVADURA NATIVA	150	4,91	0,29
5,00	68,82			<0,0001
COLOR	T2 LEVADURA COMERCIAL	150	4,65	0,48
5,00				
COLOR	T3 LEVADURA BOSQUE PUNGALA..	150	4,35	0,48
4,00				

Variable	LEVADURAS	N	Medias	D.E.
OLOR	T1 LEVADURA NATIVA	150	4,33	0,76
4,50	39,96			<0,0001
OLOR	T2 LEVADURA COMERCIAL	150	3,94	0,24
4,00				
OLOR	T3 LEVADURA BOSQUE PUNGALA..	150	3,89	0,39
4,00				

ANEXO R: ANÁLISIS DE VARIANZA ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO BEBIDA ALCOHOLICA

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV Mohos y Levaduras
15	0,34	0,23	96,23	

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
TARTAMIENTOS	8,40	2	4,20	3,15	0,0795
Error	16,0012				1,33
Total	24,4014				

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,94833

Error: 1,3333 gl: 12

TARTAMIENTOS	Medias	nE.E.	T1
NATIVA	0,40	5	0,52
A			
T2 L. COMERCIAL	1,00	5	0,52
AT3 L. PROYECTO	2,20	5	0,52 <u>A</u>

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO S: ELABORACION DE BEBIDA ALCOHOLICA



ANEXO T: ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DE BEBIDA ALCOHOLICA



ANEXO U: ANALISIS MICROBIOLÓGICOS DE BEBIDA ALCOHOLICA



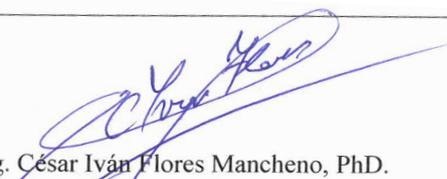
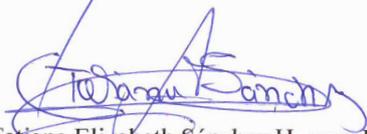
ANEXO V: ANALISIS SENSORIAL DE BEBIDA ALCOHOLICA





ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO
CERTIFICADO DE CUMPLIMIENTO DE LA GUÍA PARA
NORMALIZACIÓN DE TRABAJOS DE FIN DE GRADO

Fecha de entrega: / 01/ 2024

INFORMACIÓN DEL AUTOR
Nombres – Apellidos: CAROLAY SLENY RUIZ CARRILLO
INFORMACIÓN INSTITUCIONAL
Facultad: CIENCIAS PECUARIAS
Carrera: AGROINDUSTRIA
Título a optar: INGENIERA AGROINDUSTRIAL
<div style="text-align: center;"> Ing. César Iván Flores Mancheno, PhD. Firma del Director del Trabajo de Integración Curricular</div> <div style="text-align: center;"> Ing. Tatiana Elizabeth Sánchez Herrera Msc. Firma de la Asesora del Trabajo de Integración Curricular</div>