



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE INGENIERÍA

CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

Título

OBTENCIÓN DE ÁCIDO ACÉTICO A BASE DEL FERMENTO NATURAL DEL
MUCÍLAGO DE CACAO (*Theobroma cacao L.*)

**Trabajo de Titulación para optar al título de
Ingeniero(a) Agroindustrial**

Autor:

QUIÑONEZ CEDEÑO ANGIE NICOL

Tutor:

Ing. PAÚL STALIN RICAURTE ORTÍZ. PhD.

Riobamba, Ecuador

2024

DERECHOS DE AUTORÍA

Yo, **Angie Nicol Quiñonez Cedeño**, con cédula de ciudadanía **0803405646**, autora del trabajo de investigación titulado: **Obtención de ácido acético a base del fermento natural del mucílago de cacao**, certifico que la producción, ideas, opiniones, criterios, contenidos y conclusiones expuestas son de mí exclusiva responsabilidad.

Asimismo, cedo a la Universidad Nacional de Chimborazo, en forma no exclusiva, los derechos para su uso, comunicación pública, distribución, divulgación y/o reproducción total o parcial, por medio físico o digital; en esta cesión se entiende que el cesionario no podrá obtener beneficios económicos. La posible reclamación de terceros respecto de los derechos de autora de la obra referida, será de mi entera responsabilidad; librando a la Universidad Nacional de Chimborazo de posibles obligaciones.

En Riobamba, a los **29 días de mayo del 2024**.



Angie Nicol Quiñonez Cedeño

C.I: 080340564-6

DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Quienes suscribimos, catedráticos designados Tutor y Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación “**Obtención de ácido acético a base del fermento natural de mucílago de cacao**”, presentado por **Angie Nicol Quiñonez Cedeño**, con cédula de identidad número **0803405646**, certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha asesorado durante el desarrollo, revisado y evaluado el trabajo de investigación escrito y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

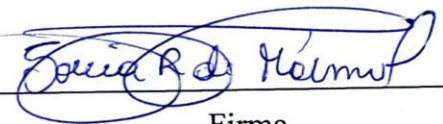
De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba a los 29 días del mes de mayo del 2024.

Ing. Davinia Sánchez. PhD.
Presidente del Tribunal de Grado



Firma

Ing. Sonia Lourdes Rodas E. PhD.
Miembro del Tribunal de Grado



Firma

Dra. Ana Hortencia Mejía L.
Miembro del Tribunal de Grado



Firma

Ing. Paul Stalin Ricaurte, PhD.
TUTOR



Firma

CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL

Quienes suscribimos, catedráticos designados Miembros del Tribunal de Grado para la evaluación del trabajo de investigación "**Obtención de ácido acético a base del fermento natural de mucílago de cacao**", presentado por **Angie Nicol Quiñonez Cedeño**, con cédula de identidad número **0803405646**, bajo la tutoría del Ing. Paúl Ricaurte PhD.; certificamos que recomendamos la APROBACIÓN de este con fines de titulación. Previamente se ha evaluado el trabajo de investigación y escuchada la sustentación por parte de su autor; no teniendo más nada que observar.

De conformidad a la normativa aplicable firmamos, en Riobamba a los 29 días del mes de mayo del 2024.

Presidente del Tribunal de Grado
Ing. Davinia Sánchez. PhD.



Firma

Miembro del Tribunal de Grado
Ing. Sonia Lourdes Rodas E. PhD



Firma

Miembro del Tribunal de Grado
Dra. Ana Hortencia Mejía L.



Firma



CERTIFICACIÓN

Que, **QUIÑONEZ CEDEÑO ANGIE NICOL** con CC: **0803405646**, estudiante de la Carrera **AGROINDUSTRIAL, NO VIGENTE**, Facultad de **INGENIERÍA**; ha trabajado bajo mi tutoría el trabajo de investigación titulado "Obtención de ácido acético a base del fermento natural del mucílago de cacao", cumple con el 5 %, de acuerdo al reporte del sistema Anti plagio **TURNITIN**, porcentaje aceptado de acuerdo a la reglamentación institucional, por consiguiente, autorizo continuar con el proceso.

Riobamba, 10 de Mayo de 2024

Ing. Paul Ricaurte PhD
TUTOR(A) TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

DEDICATORIA

A mi madre por ser mi pilar fundamental en cada etapa de mi vida estudiantil, por haberme sabido inculcar buenos valores y principios, estando siempre en mis buenos y malos momentos, siendo más que mi madre, mi amiga incondicional en todo momento.

A mi hermano Cristhian, quien es mi personita especial y que gracias a él me encuentro hoy en día donde estoy culminando mi etapa universitaria.

A una persona muy especial que quiero mucho y siempre ha estado dándome sus consejos y ayudándome hacer una mejor persona.

Angie Nicol Quiñonez Cedeño

AGRADECIMIENTO

Agradezco primeramente a Dios por ser quien nos cuida en cada uno de los pasos que damos en el transcurso de nuestro camino y me ha permitido llegar hasta este punto.

A la Universidad Nacional de Chimborazo y a la escuela de Agroindustria por permitirme estudiar en esta honorable institución y haberme brindado una educación de calidad.

A todos los docentes que pasaron por cada uno de los semestres a lo largo de mi carrera brindando sus enseñanzas y formando jóvenes profesionales para el futuro.

Al Ing. Paul Ricaurte quien estuvo guiando y apoyando en la realización de este trabajo de investigación, por su paciencia y por brindarme su amistad como docente y amigo.

A mis amigos Lisbeth, Sergio, Erika, Mishell, Thaiz, Poeth, Yetty que me acompañaron en el transcurso de esta carrera y por haberme brindado su hermosa amistad, les agradezco por todos los momentos compartidos y los quiero mucho, les deseo éxitos en su nueva etapa de vida.

A una persona muy especial E. que me ha brindado su amor, cariño y sobre todo apoyo dándome los mejores consejos, acompañándome en cada etapa de la realización de este proyecto.

Al Sr José Rodríguez quien ha sido como un padre para mí, dándome sus mejores consejos y apoyándome cuando lo he necesitado, de todo corazón gracias.

Angie Nicol Quiñonez Cedeño

ÍNDICE GENERAL

DERECHOS DE AUTORÍA	
DICTAMEN FAVORABLE DEL TUTOR Y MIEMBROS DE TRIBUNAL	
CERTIFICADO DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL	
CERTIFICADO ANTIPLAGIO	
DEDICATORIA	
AGRADECIMIENTO	
ÍNDICE GENERAL	
ÍNDICE DE TABLAS	
ÍNDICE DE FIGURAS	
RESUMEN	
ABSTRACT	
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN.....	16
1.1.Antecedentes.....	16
1.2.Planteamiento del problema	16
1.3.Justificación	17
1.4.Objetivos.....	17
1.4.1.General.....	17
1.4.2.Específicos.....	17
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO.....	19
2.1.Estado del Arte	19
2.2.Marco teórico	20
2.2.1.Generalidades del Cacao.....	20
2.2.2.Clasificación botánica.....	20
2.2.3.El mucílago de cacao	21
2.2.4.Fermentación	22
2.2.5.Ácido acético	25
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	28
3.1.Tipo de Investigación.	28
3.2.Diseño de Investigación.....	28
3.3.Técnicas de recolección de Datos.....	29
3.4.Métodos de análisis.....	29
3.4.1.Materiales, equipos y reactivos	29
3.4.2.Descripción de la obtención del ácido acético de mucílago de cacao.	29
3.4.3.Análisis fisicoquímicos del ácido acético obtenido.....	33
3.4.4.Requisitos del vinagre	34
3.4.5.Obtención de las bacterias acéticas para utilización como inóculo	34
3.4.6.Preparación del vino o sustrato de mucílago de cacao para la fermentación acética	35
3.4.7.Análisis del cálculo de rendimiento del ácido acético.....	35

3.5. Procesamiento de datos.....	35
4.1. Resultados y discusión.....	36
4.1.1. Resultados del análisis químico del mucílago de cacao	36
4.1.2. Resultados de los parámetros físicos del ácido acético de mucílago de cacao	36
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES y RECOMENDACIONES.....	42
5.1. Conclusiones	42
5.2. Recomendaciones	43
BIBLIOGRAFÍA.....	44
ANEXOS.....	53

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Botánica sistemática del Cacao	21
Tabla 2 Composición química del mucílago de cacao	22
Tabla 3 Unidades experimentales utilizadas en la obtención del A.A	28
Tabla 4 Materiales, equipos y reactivos utilizados en la investigación	29
Tabla 5 Requisitos para el vinagre.....	34
Tabla 6 Caracterización del mucílago de cacao	36
Tabla 7 ANOVA de los Tratamientos	37
Tabla 8 Resultado de medias por tratamiento.....	38
Tabla 9 Resultado de medias por tratamiento.....	38
Tabla 10 Resultado de medias por tratamiento.....	39
Tabla 11 Resultado de medias por tratamiento.....	39
Tabla 12 Resultado de los rendimientos obtenidos para cada uno de los tratamientos.....	40
Tabla 13 Porcentaje de alcohol del ácido acético obtenido en los seis tratamientos.....	40

ÍNDICE DE FIGURAS

<i>Figura 1 Diagrama de flujo del proceso de obtención del ácido acético</i>	<i>32</i>
--	-----------

RESUMEN

En Ecuador existe alrededor del 72% de desperdicio de mucílago de cacao (proveniente de granos de cacao) a través de estudios realizados en el país, un método eficaz para el aprovechamiento de este recurso es la obtención del ácido acético conocido comúnmente como vinagre mediante el proceso de una fermentación bacteriana o de forma sintética por carbonilación de metanol. El objetivo de este proyecto es elaborar dicho producto para reducir el desperdicio que existe en las fincas cacaoteras. Se desarrolló una investigación cuantitativa-exploratoria, se inició con la recolección de las mazorcas adecuadas para la extracción del mucílago de cacao. Determinándose las características fisicoquímicas pH, °Brix y acidez titulable. Para la obtención se aplicó dos métodos de fermentación: una fermentación combinada (alcohólica + acética) y una fermentación mixta, para la fermentación alcohólica se preparó un inóculo de levaduras comercial de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, se obtuvo alcohol etílico y posteriormente se realizó una fermentación acética para adquirir el vinagre con la acción de un inóculo de bacterias acéticas de la especie *Acetobacter aceti* obtenidas por un asilamiento de células madres de un encurtido de vegetales. El proceso fermentativo tuvo una duración de máximo 7 días (método combinado) y 10 días (método mixto) controlando pH, acidez y temperatura durante el periodo de fermentación acética, la toma de las muestras fueron cada 24 horas. Se analizó estadísticamente mediante un ANOVA y un test TUKEY para determinar si existían diferencias significativas en función a los tratamientos. Los resultados en relación con las características fisicoquímicas del mucílago de cacao de las medias de las muestras reflejaron los siguientes valores: pH de 3,5, acidez total expresado como ácido acético de 0,98g/l y Brix de 14°. Finalmente se realizó la determinación de los grados alcohólicos donde el T2 y T6 cumplen con los valores establecidos en la normativa Ecuatoriana NTE INEN 2296:2013 para los requisitos del vinagre cuyos valores para cada uno de los tratamiento en función a los análisis mencionados anteriormente fueron T2: 2,85 de pH, Acidez fija 0,35 g/l a.a, Acidez volátil 3,6 g/l a.a, Acidez total 4,14 g/l a.a y T6: 2,71 de pH, Acidez fija 0,30 g/l a.a, Acidez volátil 3,72 g/l a.a, Acidez total 4,96 g/l a.a. Por último, se determinó el rendimiento presentando los siguientes porcentajes: 92.5%, 88%, 86%, 83.33% y 80 % para T1, T2, T3, T4, T6 y T5 respectivamente.

Palabras claves: Cacao; mucílago, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acetobacter aceti*, ácido acético, fermentación.

ABSTRACT

In Ecuador there is around 72% waste of cocoa mucilage (from cocoa beans) through studies carried out in the country, an effective method for the use of this resource is the obtaining of acetic acid commonly known as vinegar through process of bacterial fermentation or synthetically by carbonylation of methanol. The objective of this project is to produce this product to reduce the waste that exists on cocoa farms. Quantitative-experimental research was developed, it began with the collection of the appropriate pods for the extraction of cocoa mucilage. Determining the physicochemical characteristics pH, °Brix and titratable acidity. To obtain it, two fermentation methods were applied: a combined fermentation (alcoholic + acetic) and a mixed fermentation, the first being the alcoholic fermentation where a commercial yeast inoculum of the species *Saccharomyces cerevisiae* was prepared. Ethyl alcohol was produced and subsequently an acetic fermentation was carried out to acquire the vinegar with the action of an inoculum of acetic bacteria of the species *Acetobacter aceti* obtained by isolating stem cells from a pickled vegetable. The fermentation process lasted a maximum of 7 days (combined method) and 10 days (mixed method), controlling pH, acidity and temperature; samples were taken every 24 hours. It was statistically analyzed using an ANOVA and a TUKEY test to determine if there were significant differences depending on the treatments. The results in relation to the physicochemical characteristics of the cocoa mucilage of the sample averages reflected the following values: pH of 3.5, total acidity of 0.98 and Brix of 14°. Finally, the determination of the alcoholic degrees was carried out where the T2 and T6 comply with the values established in the Ecuadorian regulations NTE INEN 2296:2013 for the requirements of vinegar whose values for each of the treatments based on the analyzes mentioned above were T2. : pH 2.85, Fixed acidity 0.35 g/l a.a., Volatile acidity 3.6 g/l a.a., Total acidity 4.14 g/l a.a. and T6: 2.71 pH, Fixed acidity 0.30 g/l a.a, Volatile acidity 3.72 g/l a.a, Total acidity 4.96 g/l a.a. Finally, the yield was determined based on the ml of cocoa mucilage presenting the following percentages: 30%, 28%, 20%, 15% and 13.33% for T1, T2, T3, T4, T6 and T5 respectively.

Keywords: Cocoa; mucilage, *Saccharomyces cerevisiae*, *Acetobacter aceti*, acetic acid, fermentation.



Reviewed by:

M.E.d Diana Chavez G.

ENGLISH PROFESSOR

C.C. 065003795-5

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

1.1. Antecedentes

El cacao es un fruto representativo del Ecuador, nace de un árbol majestuoso que adorna en gran cantidad el Litoral y la Amazonia. Es un arbusto del cual florecen flores pequeñas en las ramas y gesta una mazorca que en su interior se esconden los preciados granos recubiertos de una pulpa dulce. Se ha convertido en un orgullo de varias provincias especialmente en Los Ríos, Guayas, Manabí y Sucumbíos, debido a que el clima y la tierra son perfectos factores para el desarrollo de este fruto. (Guerrero, 2018).

La Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL, 2015) plantea que Ecuador ostenta el título de líder en la producción de cacao fino de aroma, acaparando el 62% del mercado mundial, brindando sostenimiento a más de cien mil familias que forman parte del sector cacaotero pero que mantienen bajos niveles de productividad.

El proceso de la postcosecha genera una gran cantidad de subproductos, de los cuales en su mayoría terminan siendo desechados. Entre estos se encuentra el mucílago de cacao (baba de cacao), una sustancia exquisita en azúcar (10-15%), pectina (1%) y ácido cítrico (1,5%). Una parte de este residuo es esencial para la fermentación de las almendras en la producción de alcohol y ácido acético. (Marquéz, 2015).

A parte de ser un papel fundamental en la fermentación de la almendra, guarda un potencial extraordinario que no ha sido explotado, debido a que esta sustancia rica en azúcares y fibra no solo proporciona un aroma que es característico de los productos derivados de cacao, sino que también porta características organolépticas excepcionales que la convierten en un ingrediente llamativo para la industria alimentaria. En la actualidad se utiliza como materia prima principal para la elaboración de productos alimenticios como espesante en salsas y cremas o incluso como ingrediente en bebidas fermentadas y licores. (Rodríguez, 2021).

1.2. Planteamiento del problema

El cacao es un pilar fundamental de la economía ecuatoriana, generando alrededor de 500.000 empleos de forma directa e indirecta a las familias. El 98% de la producción procede de las pequeñas fincas. Sin embargo, a pesar del éxito del cacao ecuatoriano, un subproducto clave es la baba de cacao o mucílago que se extrae de la pepa de esta fruta, enfrenta un panorama desafiante. Muchos productores lo desechan por ser considerado un residuo sin valor comercial, desconociendo su potencial y las nuevas oportunidades de emprender que ofrece. (Sociedad Anonima Inmonte, 2023)

Se ha observado que actualmente muchos productores del sector cacaoero desechan el mucílago, donde por cada tonelada de cacao se llega a desperdiciar más de 70 litros de este subproducto mucilaginoso pudiendo ser una estrategia para incrementar la cadena productiva. Los factores que llevan a esta problemática son la falta de conocimientos por parte de los productores y la despreocupación de algunos organismos para el aprovechamiento de este recurso. La mayoría de los productores desconocen las propiedades y nutrientes que posee como tal el mucílago de cacao y a la vez como puede ser optimizado, debido a que este desecho puede ser aprovechado en la industria para la elaboración de otros derivados alimenticios como lo son: jaleas, mermeladas, vinos, jugos y vinagre. Por lo tanto, la explotación de estos recursos permitirá dinamizar la economía, diversificar el mercado y a su vez la agroindustria. (Sánchez Olaya et al., 2019)

1.3. Justificación

La presente investigación se enfoca en un objetivo innovador: obtener ácido acético a partir de la fermentación bacteriana del mucílago de cacao. Este subproducto, generalmente desechado en las fincas cacaoeras ecuatorianas, guarda un potencial extraordinario que puede ser aprovechado para la elaboración de un producto novedoso: vinagre de mucílago de cacao. La valoración del mucílago de cacao no solo representa una oportunidad para diversificar la oferta de productos derivados del cacao, sino que también contribuye a la sostenibilidad de la industria, al aprovechar este subproducto que habitualmente se desecha se reduce el impacto ambiental y se generan nuevas fuentes de ingresos para las comunidades cacaoeras. El vinagre de mucílago de cacao se presenta en esta investigación como un producto novedoso con un gran potencial para conquistar a los consumidores que buscan nuevas experiencias culinarias y debido a su sabor lo convierte en un ingrediente ideal en la cocina y además abre camino a la industria cacaoera ecuatoriana, al otorgarle un valor agregado a un desecho, se fortalece la cadena productiva y se contribuye al desarrollo sostenible de las comunidades.

1.4. Objetivos

1.4.1. General

Evaluar el rendimiento y caracterizar el ácido acético obtenido a partir del fermento natural del mucílago de cacao (*Theobroma cacao L*).

1.4.2. Específicos

- Efectuar una fermentación alcohólica del mucílago de cacao que servirá como sustrato para la producción del ácido acético o vinagre.
- Llevar a cabo una fermentación acética por medio del sustrato alcohólico del mucílago de cacao y bacterias acéticas.

- Realizar los análisis fisicoquímicos del producto obtenido.
- Calcular el rendimiento del producto obtenido.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. Estado del Arte

Chicaiza & López (2020) en su estudio “Inmovilización microbiana en alginato de calcio para la producción de vinagre a partir del mucílago de cacao ccn-51.” Aplicó la técnica de inmovilización en gel, donde se utilizó el mucílago de cacao como la materia prima principal, la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y *Acetobacter aceti*, donde se ejecutó los dos procesos de fermentación bacteriana controlando las variables de tiempo y temperatura, para ello modificaron el tamaño de las esferas y el tiempo de la fermentación conjunta, introdujeron ambas esferas en el fermentador donde colocaron primeramente las células inmovilizadas de la levadura y posterior a ello las células inmovilizadas de la bacteria, evaluando los parámetros de °Brix, pH, % alcohol y % de ácido acético que se generó durante la fermentación. Concluyeron que en base a las fermentaciones aisladas y conjuntas se evidenció que para que exista el proceso de la fermentación alcohólica en cuanto a la conversión de los azúcares a etanol se necesitó una duración de 87 horas, mientras que para que se consuma el alcohol producido en la etapa anterior y se produzca la fermentación acética se requirió de un tiempo de 145 horas, se enfatiza que el proceso de la fermentación acética sostuvo un mayor tiempo, debido a que las bacterias deben acoplarse a los correspondientes porcentajes de alcohol presentes en cada uno de los tratamientos y ante los cambios se pierden algunas células, siendo muy lenta su capacidad de adaptación en comparación con las levaduras presentes. Los resultados obtenidos fueron óptimos en la parte de la fermentación aislada, donde se obtuvo una mejor producción de ácido acético en el (T₃) con un rendimiento de 3,52% a comparación del (T₁) y (T₂).

Villagómez & Argüello (2013) en su investigación “Optimización y aprovechamiento del residuo (exudado del mucílago) de la almendra fresca del cacao (*Theobroma cacao* L.) CCN51 en la elaboración de vinagre” exploraron la viabilidad de obtener vinagre a través de un proceso piloto controlado. El objetivo fue diseñar y construir un acetificador piloto a pequeña escala, basado en el acetificador Frings, para la fermentación sumergida del “vino de cacao” y la obtención de un vinagre que cumpliera con los requisitos establecidos en la norma ecuatoriana NTE 2296:2013 de los requisitos del vinagre. Para ello construyeron un acetificador piloto a pequeña escala, caracterizaron químicamente el sustrato (exudado del mucílago de cacao) y establecieron un diseño completamente al azar para evaluar el efecto de exposición al oxígeno en la fermentación acética, aplicando tres tratamientos T₁= 24 horas ;T₂ 18 horas y T₃ 12 horas por día, realizaron dos repeticiones por cada tratamiento, utilizando un volumen de oxigenación de 0,5 vvw y se evaluó los parámetros de producción de ácido acético, características fisicoquímicas del vinagre y sensoriales. Obtuvieron el resultado que el T₁, resultó ser el óptimo, produciendo mayor contenido de ácido acético (4,05 g/l) y que a su vez cumplió con los requisitos establecidos en la normativa.

Calderón (2018) en su trabajo de investigación “Producción de etanol a partir de mucílago de cacao (*Theobroma cacao*) mediante fermentación alcohólica” tiene como objetivo obtener etanol por medio de la fermentación alcohólica del mucílago de cacao con el fin de aprovechar y darle un valor agregado al subproducto, el cual es desechado por muchos de la cadena productiva del cacao, el proceso de fermentación se lo llevó a cabo en frascos de vidrio sellados herméticamente por un tampón de corcho natural en el cual se adicionó el mucílago y posteriormente la levadura, el proceso duró 7 días a temperaturas

estables de 25°, 30° y 28°C, se llevo un control cada 12 horas del pH, azúcares reductores y el contenido de etanol.

Alaniz (2013) en su investigación “Produccion de postres y vinagre a partir de exudado de cacao en la cooperativa de servicios multiples Rio de agua viva, 21 de Junio, municipio rancho de Matagalpa” propuso la obtencion de vinagre mediante dos tratamientos uno con muestras pausterizadas y el otro sin pausterizar. Los dos tratamientos se realizaron con el objetivo de valorar cual método resultaba mas eficiente en la producción de vinagre; sin embargo el 100% de las muestras no pausterizadas no lograron completar el proceso debido a que a los 3 días de fermentación adquirieron olor y sabor desagradable, por el contrario las muestras del exudado de cacao pausterizadas tenían olor y sabor característico a vinagre.

2.2. Marco teórico

2.2.1. Generalidades del Cacao

El cacao, conocido científicamente como (*Theobroma cacao L*), tiene su origen en la cuenca del río Amazonas, América del Sur. Este árbol majestuoso, venerado por las culturas precolombianas, ha encontrado un hogar ideal en las regiones amazónicas superiores de Perú, Ecuador, Colombia y Brasil, así como en las riberas de importantes redes fluviales que desembocan en el rio Marañón y el Amazonas (Quintana & García , 2021).

Desde tiempos inmemoriales, las comunidades indígenas de la región amazónica han cultivado y venerado el cacao, considerándolo un alimento sagrado y un regalo de los dioses, por ello que *Theobroma* en griego significa “alimento de los dioses” (Nasam, 2013).

El cacao, es un tesoro que ha conquistado los paladares alrededor del mundo, guarda una historia fascinante que se remonta a las profundidades de la Amazonía. Si bien tradicionalmente se creía que su domesticación ocurrió en América Central, pero un estudio genómico reciente ha revelado un dato sorprendente que la mayor diversidad genética del cacao se encuentra en el alto Amazonas, específicamente en América del Sur. La pulpa de la fruta, rica en nutrientes, se consumía como un energizante natural y se convertía en un refrescante jugo al igual que se fermentaba para elaborar una bebida alcohólica utilizada en rituales y celebraciones. Mas allá de su valor religioso y cultural, el cacao también desempeñaba un papel crucial en el intercambio comercial entre los pueblos prehispánicos. Las semillas de cacao, apreciadas por su sabor y propiedades energizantes, circulaban por las rutas comerciales que conectaban las comunidades de la Costa ecuatoriana. (Acuña, 2020).

2.2.2. Clasificación botánica

El cacao es un futo delicioso, pertenece al género *Theobroma* de la familia (*Malvaceae*). Esta familia comprende alrededor de 20 especies, entre las cuales destaca *Theobroma cacao* por su importancia económica y social. Sin embargo, la ubicación taxonómica del cacao comercial

ha generado confusión durante mucho tiempo, esto se debe a la gran variabilidad genética que presenta esta especie, la cual se manifiesta en diferentes características de sus flores, frutos y semillas (Quizhpi, 2016).

Botánicamente, al cacao se le ha asignado la clasificación indicada en la Tabla 1.

Tabla 1
Botánica sistemática del Cacao

Reino	<i>Plantae</i>
División	<i>Espermatofita</i>
Clase	<i>Angiosperma</i>
Orden	<i>Malvales</i>
Familia	<i>Malvaceae</i>
Género	<i>Theobroma</i>
Especie	Cacao

Nota. Adaptado de (Quizhpi, 2016)

Se trata de una planta perenne de tamaño mediano, que puede alcanzar alturas de hasta 20 metros cuando crece bajo sombras intensas. Su tamaño promedio oscila entre los 5 y 8 metros. Las hojas del cacao son simples, con bordes enteros y de colores variables que van desde el café claro hasta el morado, rojizo o verde pálido. Las flores son pequeñas y se desarrollan en racimo pequeños sobre el tejido maduro del tronco y las ramas, donde antes hubo hojas. Los frutos son de tamaño, color y formas variables, generalmente tienen forma de baya, que pueden adquirir una longitud de 30 cm y un diámetro de 10 cm. Su superficie puede ser lisa o acostillada y su color varía entre rojo, amarillo, morado o café. La pared es gruesa, dura o suave, con una consistencia similar al cuero y en su interior, los frutos se dividen en cinco celdas. La pulpa es blanca, rosada o café, de sabor ácido a dulce y aromática. Cada fruto contiene entre 20 y 40 semillas, de las cuales son planas y redondeadas con un color blanco, café o morado (Dumble, 2013).

2.2.3. El mucílago de cacao

Según Gamboa (2019) el cacao guarda un tesoro escondido dentro de sus pepas, el cual es el mucílago, esta pulpa blanca, de consistencia algodonosa y viscosa, recubre las semillas del cacao y posee características únicas que la convierten en un ingrediente con gran potencial. El sabor del mucílago del cacao está determinado por las condiciones climáticas del lugar donde se cultiva que influye en el sabor, en zonas más cálidas tiende a tener un sabor más dulce, mientras que en climas fríos su sabor puede ser más ácido. Las raíces del árbol de cacao absorben la humedad del suelo y de otros árboles que encuentran a su alrededor, por ello influye en el sabor del mucílago, aportando matices que varían según la especie de los árboles vecinos.

Debido a su naturaleza fermentable, posee una vida útil de máximo seis meses en congelación para preservar su calidad y sabor.

De acuerdo con Vera (2020) el mucílago experimenta una transformación durante la fermentación. Este proceso natural convierte la pulpa en sustancias líquidas con características únicas que abren un mundo de posibilidades para su aprovechamiento. Durante la fermentación, el azúcar presente en la pulpa se embarca en un viaje de transformación de dos etapas; la conversión en alcohol, que se descompone mediante la acción de microorganismos presentes en el ambiente y la acidificación, que se convierte el alcohol en ácido acético de igual forma mediante la acción de microorganismos.

El mucílago de cacao es un tesoro azucarado. El 60% de su peso seco está compuesto por sacarosa, un azúcar simple que aporta dulzor y energía. Además, contiene una mezcla de glucosa y fructosa en un 39%, pentosas de cinco carbonos que representan entre el 2% y el 3% del peso lo que confiere un sabor característico y propiedades nutricionales adicionales, ácido cítrico, pectinas, vitaminas y aminoácidos con proteínas. La rica composición del mucílago lo convierte en un medio favorable para el crecimiento microbiano (Largo y Yugcha, 2016).

Tabla 2

Composición química del mucílago de cacao

Componentes	%pp
Agua	82 - 87
Proteína	0,09 - 0,11
Azúcares	10 -15
Pectinas	1-1.5
Ácido cítrico	1-3

Nota. Adaptado de (Ortiz & Álvarez , 2015)

2.2.4. Fermentación

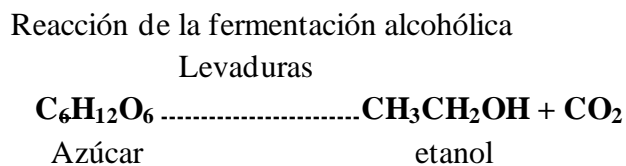
La fermentación es un mecanismo metabólico fascinante que ocurre a nuestro alrededor, incluso en la propia cocina. Se trata de una oxidación incompleta de moléculas, donde los microorganismos como las levaduras y bacterias actúan como principales en la transformación de los azúcares en compuestos orgánicos y liberando energía química. La fermentación ha acompañado a la humanidad desde tiempos remotos y es la responsable de productos como el pan, la cerveza, el vino, el yogurt y el queso, los cuales son alimentos básicos en la dieta de muchas culturas alrededor del mundo (Corpus, 2022).

Al momento de hablar de fermentación no es exclusivamente sobre licores o vinos, debido a que existen cuatro tipos de fermentación y las más comunes son: alcohólica, acética, láctica y butírica cada una depende del tipo de sustancia que se vaya a fermentar ya que están estrechamente ligadas con la biotecnología, donde dicha ciencia se encarga del estudio de los procesos metabólicos.

Para este proyecto de investigación se centró en dos tipos de fermentación: Mixta o doble etapa (alcohólica y acética) y una Combinada (alcohólica + acética), por lo que se describe con más detalle estos 2 tipos:

Fermentación alcohólica

Es un proceso anaeróbico, protagonizado por las levaduras y algunas bacterias. Los mismos que transforman los azúcares en etanol (C₂H₅OH) y anhídrido carbónico (CO₂). La glucosa se degrada en un compuesto llamado ácido pirúvico y este se convierte en dióxido de carbono y etanol, liberando energía en el proceso. El resultado es una mezcla de etanol, es el responsable del sabor y el efecto embriagante de las bebidas alcohólicas y dióxido de carbono, que da lugar a las burbujas presentes en la cerveza y otros productos fermentados (Garzón, 2018).

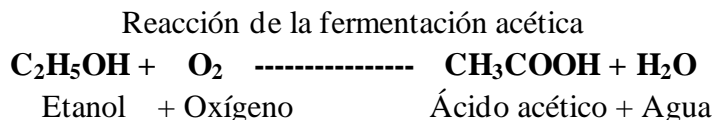


La *Saccharomyces cerevisiae*, una levadura de origen animal y vegetal es la maestra indudable de la fermentación alcohólica. Su nombre proviene de las palabras *Saccharo* (azúcar), *myces* (hongo) y *cerevisiae* (cerveza). Refleja su estrecha relación con este proceso esencial para la elaboración de bebidas y alimentos como la cerveza, el vino, el pan y el yogurt. Se ha encontrado evidencias de su uso en la elaboración de cerveza que datan de hace más de 10.000 años. Esta levadura ha jugado un papel crucial en el desarrollo de diferentes culturas y civilizaciones, contribuyendo a la alimentación, el bienestar y la celebración. Además, es una levadura heterótrofa, significa que obtiene energía a partir de compuestos orgánicos como la celulosa. Su elevada capacidad fermentativa la convierte en la levadura ideal para la producción de etanol y dióxido de carbono, los cuales son los compuestos claves de la fermentación alcohólica. (Suárez et al., 2016).

Fermentación acética

Es un proceso fascinante, llevado a cabo por bacterias del género *Acetobacter*, que tienen la capacidad de transformar el alcohol etílico en ácido acético. A diferencia de la fermentación alcohólica ocurre en ausencia de oxígeno, es decir es un proceso aeróbico. Es por ello que la

fermentación acética suele darse en vinos expuestos al aire, donde las bacterias encuentran el oxígeno necesario para actuar (Álvarez, 2021).



Las bacterias acéticas son Gram-negativas, presentan forma de pequeños bastoncitos, se encuentran naturalmente en el aire, suelo y las frutas, y son atraídas por el alcohol etílico. Poseen una temperatura optima de desarrollo entre 25 y 30°C y un pH óptimo de 5 a 6, aunque pueden crecer en ambiente con pH inferiores a 4. Las bacterias acéticas llevan a cabo una oxidación incompleta de los azúcares y alcoholes, durante este proceso se produce una acumulación de ácidos orgánicos como productos finales y cuando el sustrato es el etanol, el principal producto en obtener es el ácido acético, del cual deriva el nombre de estas bacterias. Las bacterias acéticas no solo son importantes para la producción de vinagre, sino que también juegan un papel crucial en la elaboración de otros productos fermentados y tienen gran potencial para nuevas aplicaciones en diversas áreas (Rivera, 2013).

Fermentación Combinada

Es un proceso metabólico complejo que involucra la participación de dos o más tipos de microorganismos, generalmente bacterias y levaduras, que trabajan en sinergia para transformar un sustrato inicial en una mezcla de productos finales.

Microorganismos involucrados:

- **Bacterias:** Acetobacter.
- **Levaduras:** Saccharomyces cerevisiae.

Características principales de la fermentación combinada

- **Diversidad microbiana:** La comunidad microbiana involucrada está compuesta por diferentes tipos de microorganismos, cada uno con funciones metabólicas específicas.
- **Interacciones sinérgicas:** Los microorganismos interactúan entre sí, intercambiando productos y creando un ecosistema metabólico interdependiente.
- **Productos finales variados:** La composición de los productos finales depende de la cepa de microorganismos presentes, el sustrato utilizado y las condiciones ambientales.
- **pH ácido:** El proceso generalmente se desarrolla en un ambiente ácido, con un pH cercano a 4,5, óptimo para la actividad de los microorganismos involucrados.

Diferencias entre la fermentación en doble etapa y la combinada

La fermentación en dos etapas y la fermentación combinada son dos procesos metabólicos que involucran la acción de microorganismos para transformar un sustrato inicial en productos finales. Sin embargo, presentan diferencias significativas en su naturaleza y aplicaciones:

Fermentación mixta o en dos etapas:

- **Proceso secuencial:** Se realiza en dos pasos distintos, donde cada etapa involucra un tipo específico de microorganismo:
 1. **Fermentación alcohólica:** Las levaduras fermentan azúcares (glucosa, fructosa) para producir etanol y dióxido de carbono.
 2. **Fermentación acética:** Las bacterias acéticas oxidan el etanol producido en la primera etapa a ácido acético, liberando agua y calor.

Fermentación combinada:

- **Proceso simultáneo:** Ocurre en un solo proceso, donde diferentes tipos de microorganismos (levaduras y bacterias) trabajan en sinergia (CONICET-CIIDEPT, 2015).

2.2.5. *Ácido acético*

El ácido acético es un compuesto versátil con múltiples aplicaciones, también conocido como vinagre que es de gran importancia en diversas industrias. Su fórmula química es, se clasifica dentro del grupo de los ácidos carboxílicos. Este líquido incoloro y con un olor punzante se obtiene a través de dos métodos principales. Industrialmente se obtiene mediante la carbonilación de metanol, que se realiza a alta presión y temperatura y en la industria alimentaria se añade un cultivo de bacterias *Acetobacter* al etanol, controlando las condiciones de temperatura y pH para optimizar la producción (Grupo PCC, 2021).

Aplicaciones del ácido acético

Conocido popularmente como vinagre, es un compuesto químico con una doble función, en los hogares es común en las cocinas, mientras que también es un componente esencial en una gran variedad de productos industriales. En su forma diluida en agua (3% y 5%), el ácido acético se convierte en vinagre, un aderezo indispensable para las ensaladas, salsas y marinados. Sin embargo, su versatilidad lo convierte en un componente clave en diversas industrias como; los textiles, laboratorios, fotografía y hasta en la medicina. Es importante recordar que en proporciones mayores puede representar riesgos para la salud (Uriarte, 2022).

Reacción para la obtención de ácido acético

La oxidación de etanol por *Acetobacter* se realiza en dos etapas, se oxida el etanol a acetaldehído y acetaldehído a ácido acético.



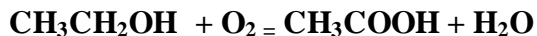
La concentración de etanol entre el 10 y 13% es fundamental para realizar una óptima fermentación, pero si sobrepasa el 13% el alcohol no se oxida a ácido acético en su totalidad (Muller, 2019).

Métodos de obtención del ácido acético

El ácido acético puede obtenerse de forma biológica, mediante fermentación bacteriana o de forma sintética por Carbonilación del metanol

Fermentación bacteriana u oxidativa

En la microbiología, las bacterias del género *Acetobacter* destacan por su particular habilidad en transformar compuestos alcohólicos en ácido acético, este proceso es el responsable del sabor característico del vinagre.



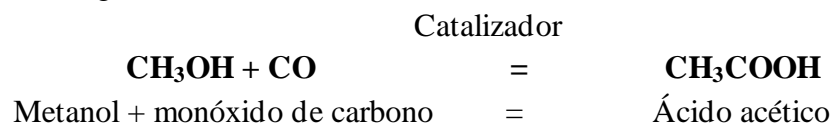
La producción de ácido acético es el ingrediente principal del vinagre, el cual es un proceso fascinante que involucra la acción de bacterias especiales en presencia de oxígeno. A diferencia de las levaduras, que producen alcohol en un ambiente sin oxígeno, las bacterias acéticas necesitan aire para realizar su trabajo. La rapidez con la que el alcohol se transforma en ácido acético depende de la actividad de las bacterias acéticas, si hay pocas o no son del tipo adecuado, la fermentación acética puede ser lenta o hasta incluso no se llega a producir. La temperatura, la acidez del medio y la presencia de otros microorganismos también pueden influir en la fermentación acética (Torres, 2017).

Carbonilación del metanol

La síntesis de ácido acético a partir de metanol y monóxido de carbono es un proceso que involucra una serie de reacciones químicas catalizadas por yoduro de cobalto, más conocido como carbonilación de metanol, el cual se utiliza a escala industrial para producir ácido acético de alta pureza. En este proceso, el metanol reacciona con monóxido de carbono en presencia de yoduro de cobalto II, actuando como catalizador. La reacción se lleva a cabo en fase líquida a una temperatura de 250°C y una presión de 680 bar.

El ácido acético obtenido de la reacción no es puro al 100%, para ello se realiza un proceso de destilación fraccionada, esta técnica separa los diferentes componentes de la mezcla en sus puntos de ebullición, obteniendo un producto con una pureza del 99,8% (Sanchez , 2016).

La reacción es la siguiente:



CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo de Investigación.

La investigación tiene un enfoque cuantitativo-exploratorio, debido a que se tienen datos cuantificables y se realizaron varios ensayos para la obtención del producto, se realizó análisis fisicoquímicos y un cálculo del rendimiento al obtener el producto ácido acético. Las pruebas se llevaron a cabo en el laboratorio de procesos y control de calidad de la carrera de Agroindustria de la Universidad Nacional de Chimborazo.

3.2. Diseño de Investigación

Se recolectó cantidades de 500, 400 y 600 ml de líquido mucilaginoso, el cual fue obtenido del grano del cacao recolectado de la finca Pepa de Oro ubicada en el cantón Quinindé de la Provincia de Esmeraldas en el Km E20 de la vía a Sto. Domingo entrada al barrio Valle Alto, donde se seleccionaron las mazorcas que cumplieran con las condiciones (maduras y sin presencia de plagas), para obtener la materia prima.

El diseño experimental para la obtención del ácido acético a partir de la fermentación del mucílago de cacao se realizó considerando los ensayos o unidades experimentales indicados en la Tabla 3.

Tabla 3

Unidades experimentales utilizadas en la obtención del A.A.

Unidades Experimentales	Tipo de Fermentación	Microorganismos	Tiempo de fermentación
T1	Fermentación combinada	Levaduras <i>Saccharomyces</i> y Bacterias Acéticas	7 días
T2	Fermentación mixta	Levaduras <i>Saccharomyces</i> y Bacterias Acéticas	10 días
T3	Fermentación combinada	Levaduras <i>Saccharomyces</i> y Bacterias Acéticas	5 días
T4	Fermentación mixta	Levaduras <i>Saccharomyces</i> y Bacterias Acéticas	5 días
T5	Fermentación combinada	Levaduras <i>Saccharomyces</i> y Bacterias Acéticas	6 días
T6	Fermentación mixta	Levaduras <i>Saccharomyces</i> y Bacterias Acéticas	7 días

Nota. AA= ácido acético; T es la codificación de las unidades experimentales que se realizaron.

Se realizó tres replicas por cada condición de fermentación para la obtención del ácido acético, dando un total de 18 unidades repeticiones.

3.3. Técnicas de recolección de Datos

Para determinar el mejor método de obtención del ácido acético se consideró el tiempo de fermentación y el rendimiento. Además, se evaluó la calidad del ácido acético a través de los análisis del pH, Acidez volátil, Acidez fija, Acidez total, Grados alcohólicos y °Brix.

3.4. Métodos de análisis

3.4.1. Materiales, equipos y reactivos

En la Tabla 4 se describen los materiales, equipos y reactivos utilizados en todo el proceso de la investigación.

Tabla 4

Materiales, equipos y reactivos utilizados en la investigación

Materiales	Equipos	Marca	Reactivos
Buretas de 25 ml	pH-metro	ELICROM	Hidróxido de sodio 0,1N
Micropipeta	Refractómetro	Brixco	Fenoltaleína al 0,1% (ACS)
Cajas Petri	Balanza analítica	Mettler Toledo	Ftalato ácido de potasio (ACS)
Frascos autoclaves 200 ml	Baño maría	EBCHQG	Papa Dextrosa
Asa bacteriológica	Equipo de destilación		Agar (PDA TM)
	Autoclave	Tuttnauer	Plate Count Agar (PCA TM 544 500 mg)
	Cabina de flujo laminar	Biobase	
	Termómetro	Traceable	
	Estufa	Thermo Fisher	
	Incubadora	Mermmert	
	Alcoholímetro		

3.4.2. Descripción de la obtención del ácido acético de mucílago de cacao a partir del método de una fermentación mixta o en dos etapas y una fermentación combinada.

Recepción de la materia prima: Se realizó la recepción de la materia prima (mazorcas de cacao) (*Cacao Theobroma L.*) en la finca Pepa de Oro ubicada en el cantón Quinindé de la Provincia de Esmeraldas en el Km E20 de la vía a Sto. Domingo entrada al barrio Valle Alto

Selección de las mazorcas: De todas las mazorcas recogidas se clasificó las mazorcas que cumplieran con las características de una madurez adecuada para este proceso (rojizas), que no presentaran golpes ni presencia de plagas.

Limpieza: Una vez seleccionadas las mazorcas se realizó la limpieza y lavado con abundante agua potable.

Corte y extracción de los granos: Se procedió a realizar el corte con un cuchillo de acero inoxidable, en forma transversal y longitudinal para facilitar la extracción de los granos.

Escurrecimiento: El grano se colocó en un cernidor para que el líquido mucilaginoso se separara de la pepa.

Preparación del mosto: Se adicionó 150 ml de líquido mucilaginoso en un matraz Erlenmeyer de 250 ml y se preparó un inóculo diluyendo 1.5 g de levadura comercial del género *Saccharomyces cerevisiae*, por cada 150 ml de mucílago, en 20 ml de agua destilada.

Fermentación alcohólica: Al Erlenmeyer con el sustrato preparado se le colocó un tampón con un airlock, que contiene agua destilada para liberar CO₂ y evitar la entrada de aire. Se dejó en baño maría a una temperatura de 28° a 30°C. Mediante el burbujeo que se genera por la liberación del CO₂ se determinó el tiempo que llevó el proceso de fermentación alcohólica.

Obtención del extracto de la fermentación alcohólica y filtrado: Una vez concluida la fermentación alcohólica, se procedió a realizar los respectivos análisis y se realizó una filtración para continuar con el siguiente proceso de la obtención del ácido acético.

Fermentación acética: Se llevó mediante la adición de 1, 5% de bacterias acéticas obtenidas en el proceso de siembra y aislamiento de una cepa de un encurtido de vegetales, se procedió a colocar en el extracto alcohólico obtenido y se colocó una malla permitiendo la entrada de oxígeno, debido a que este proceso es de forma aerobia y se procedió a dejar nuevamente en baño maría con la misma temperatura, controlando los respectivos parámetros de temperatura, acidez y pH cada 24 horas para verificar el tiempo de producción del ácido acético y sus características finales del proceso.

Destilación: Se realizó con el equipo de destilación, para determinar los grados de alcohol presentes.

Envasado: Se embotelló el ácido acético obtenido en frascos previamente esterilizados con agua hervida para su respectivo almacenamiento.

Almacenamiento: Se almacenó el ácido acético en un lugar fresco y a temperatura ambiente.

La diferencia del proceso del método de la fermentación combinada se puede observar en los siguientes pasos:

Preparación del mosto: Se adicionó 200 ml de líquido mucilaginoso en un matraz Erlenmeyer con una capacidad de 250 ml, y se preparó un inóculo diluyendo 2 g de levadura comercial del género *Saccharomyces cerevisiae*, por cada 200 ml de mucílago, en 30 ml de agua destilada. Luego se tomó 2% de bacterias acéticas *Acetobacter Aceti* con un asa bacteriológica previamente esterilizada al rojo vivo por cada 200 ml mucílago, las cuales fueron obtenidas por una siembra y aislamiento a partir de un encurtido de vegetales en el laboratorio de la carrera.

Obtención del extracto alcohólico-acético: Una vez concluido el ciclo metabólico sinérgico, se obtuvo como resultado el ácido acético.

Filtración: Luego de haber obtenido el extracto alcohólico-acético, se realizó una filtración debido a los sedimentos que se forman al concluir el proceso de la fermentación.

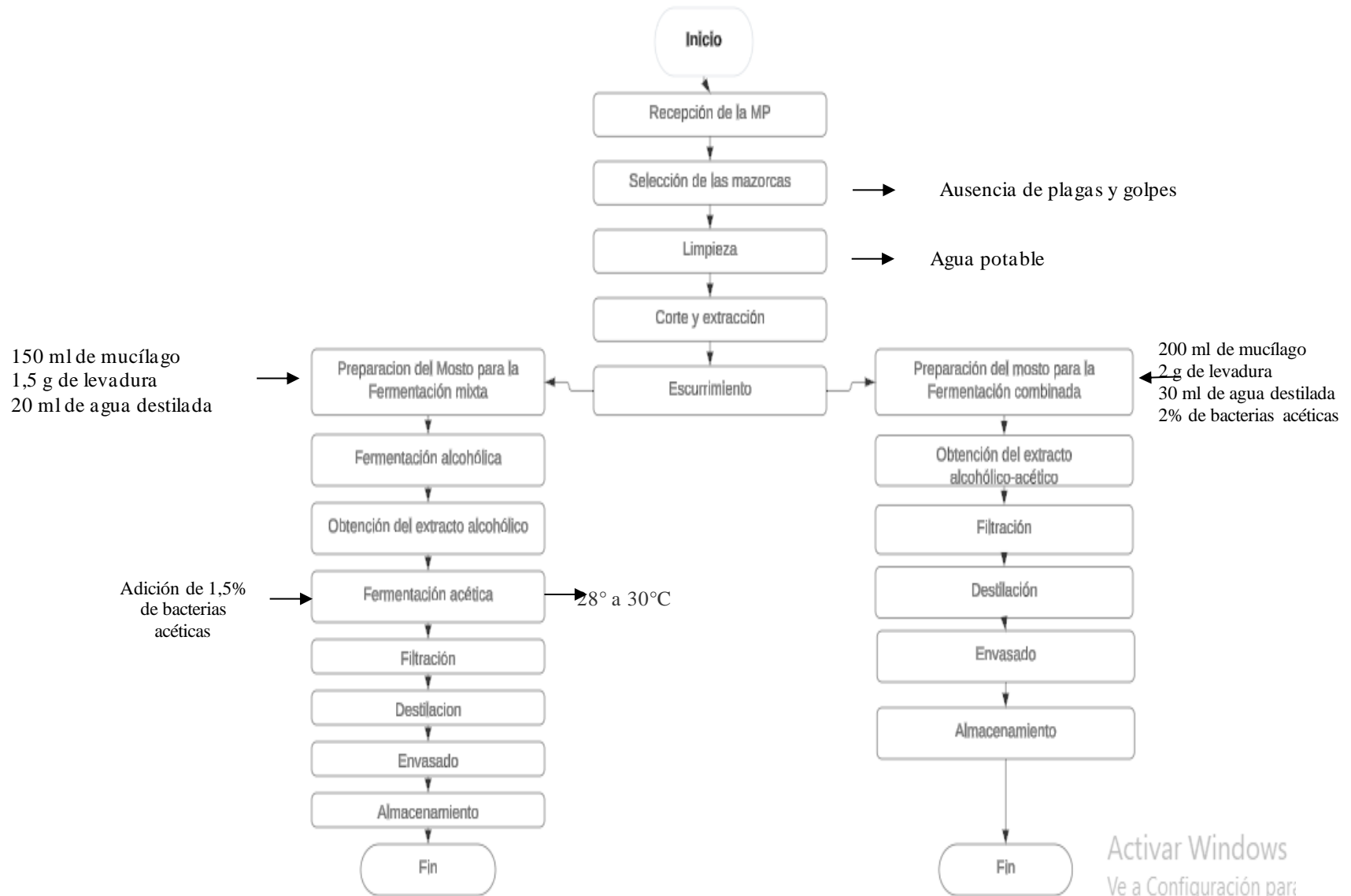
Destilación: Se realizó con el equipo de destilación, para determinar los grados de alcohol presentes.

Envasado: Se embotelló el ácido acético obtenido en frascos previamente esterilizados con agua hervida para su respectivo almacenamiento.

Almacenamiento: Se almacenó el ácido acético en un lugar fresco y a temperatura ambiente.

Figura 1

Diagrama de flujo del proceso de obtención del ácido acético



3.4.3. Análisis fisicoquímicos del ácido acético obtenido.

Los resultados obtenidos de los análisis para la caracterización fisicoquímica del vinagre fueron:

a. Determinación de pH

La determinación del pH se lo realizó mediante el método potenciométrico, se utilizó un pHmetro con electrodo donde se colocó en un vaso de precipitación 50 ml agua destilada para calibrar y luego en otro se colocó 10 ml la muestra para tomar la medición de la lectura, realizando las lecturas por triplicado.

b. Determinación de °Brix

Este análisis sirve para controlar el índice de refracción de la muestra, en si controlar los azúcares que se encuentran presentes en este caso en el líquido mucilaginoso al inicio y final de la fermentación alcohólica y acética. Para la determinación se utilizó un refractómetro, para ello se procedió a colocar una gota de la muestra y posteriormente tomar lectura de los °Brix.

c. Determinación de acidez total

Se determinó por volumetría de neutralización, utilizando NaOH 0,12 N y fenolftaleína, luego se diluyó 1 ml de la muestra con 50 ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer, se llenó la bureta con la solución previamente preparada (NaOH 0,12 N) y se añadió 3 gotas del indicador, posteriormente se procedió a agitar el Erlenmeyer hasta notar el vire del color a una tonalidad lila o fucsia y se anotó el valor gastado para realizar el respectivo cálculo.

c. Determinación de la acidez fija

Para la determinación se tomó una alícuota de 1 ml y se adicionó 50 ml de agua destilada, luego se evaporó las 2/3 partes por ebullición considerando la temperatura a la altura de la ciudad de Riobamba que es de 2,754 m s.n.m. y luego se adicionó agua destilada para volver a recuperar el volumen original. Este proceso se lo repitió por tres veces, finalmente se volvió a aforar a los 50 ml para proceder a titular y se anotó el valor gastado para realizar el respectivo cálculo.

d. Determinación de acidez volátil

Se cuantificó por la diferencia de cálculo de la acidez total y acidez fija

e. Determinación de los grados alcohólicos

Se utilizó un alcoholímetro en la escala de Gay-Lussac (% alcohol) a 20°C para verificar el porcentaje de alcohol presente en cada uno de los tratamientos. Previamente a este proceso se realizó una destilación simple.

3.4.4. Requisitos del vinagre

El vinagre debe cumplir con los requisitos indicados en la NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2296:2013 Primera revisión indicados en la Tabla 5.

Tabla 5

Requisitos para el vinagre

Requisito	Min.	Max.
Acidez total, (como ácido acético), %	4	6
Acidez fija, (como ácido acético), %	--	0,3
Acidez volátil, (como ácido acético), %	3,7	--
Alcohol etílico a 20°C, %	--	1,0
pH a 20°C	2,3	2,8

Nota. Tomado de NORMA TÉCNICA ECUATORIANA NTE INEN 2296:2013 Primera revisión.

3.4.5. Obtención de las bacterias acéticas para utilización como inóculo

Siembra de las Bacterias Ácido Acéticas

Se realizó una siembra a partir del líquido de un encurtido debido a que este producto es elaborado con vinagre y es donde se encuentran las BAA, el procedimiento se realizó en 6 cajas Petri en un medio de cultivo selectivo Agar PCA aplicando la técnica de sembrado por estrías con ayuda de un hisopo previamente esterilizado y se dejó incubar a una temperatura de 32 °C por 24 a 48 horas.

Aislamiento de las BAA

Luego de haber transcurrido las 48 horas de incubación se procedió a preparar nuevamente el medio de cultivo en otras 6 cajas Petri y con ayuda de una asa bacteriológica esterilizada al rojo vivo en un mechero de alcohol y se tomó muestras de cada una de las cajas donde se realizó la siembra y se aplicó la técnica de siembra por estrías sin dañar el agar, realizando el procedimiento en cada una de las cajas, luego se volvió a incubar con un tiempo de 48 horas, para luego poder ser utilizadas en la fermentación acética.

3.4.6. Preparación del vino o sustrato de mucílago de cacao para la fermentación acética

Luego de haber obtenido el sustrato del mucílago de cacao y haber comprobado que la fermentación alcohólica ha terminado, se procedió a realizar una filtración y luego con un asa o un hisopo se colocó las bacterias acéticas obtenidas en el sustrato para que se lleve a cabo la fermentación acética en condiciones aerobias, controlando los parámetros de temperatura, pH y acidez.

3.4.7. Análisis del cálculo de rendimiento del ácido acético

Para calcular el rendimiento, se aplicó la siguiente fórmula

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{ml de vinagre luego de filtrar}}{\text{ml de mucílago}} * 100$$

3.5. Procesamiento de datos

Los datos obtenidos de la experimentación fueron evaluados mediante el software estadístico SPSS, donde se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para comparar las medias de las repeticiones por cada tratamiento con un nivel de significancia $P < 0,05$ y Test TUKEY, para determinar las diferencias significativas que existen entre los grupos de los análisis.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.Resultados y discusión

4.1.1. Resultados del análisis químico del mucílago de cacao

En la Tabla 6 se muestran la media de 3 muestras con 3 repeticiones obtenidas de los análisis realizados.

Tabla 6

Caracterización del mucílago de cacao

Variantes	Parámetro	Resultados
R1	pH	3,35
	°Brix	14
R2	pH	3,4
	°Brix	15
R3	pH	3,45
	°Brix	12

En la Tabla 6 de la caracterización del mucílago de cacao, se pueden observar los valores obtenidos para iniciar la fermentación de cada muestra, donde se realizaron análisis de pH y °Brix para conocer si las muestras se encontraban en condiciones de ser sometidas a un proceso de fermentación, dando un resultado las medias de las 3 muestras de mucílago de cacao un rango de 3,35 a 3,45 y para la cantidad de azúcares presentes un rango de 12 a 14°Brix. Zambrano (2023) en su investigación “Elaboración de vino artesanal utilizando el mucílago de cacao CCN51 como materia prima principal”, los valores con los cual inició la fermentación para el vino tuvieron un rango de 3,40 a 3,43 para el pH y valores de 13 a 16 en cuanto a los °Brix.

4.1.2. Resultados de los parámetros físicos del ácido acético de mucílago de cacao

Se obtuvo el ácido acético del mucílago de cacao por el proceso de una fermentación mixta y una fermentación combinada de levaduras y bacterias. El resultado de los análisis físicos con sus respectivas medias se los observa en el análisis exploratorio de datos.

Análisis exploratorio de datos.

En cada una de las tablas se muestran las medias de los análisis realizados por cada tratamiento, para los cuales se realizaron 3 repeticiones respectivamente, el porcentaje de acidez esta expresado como gramos litro de ácido acético.

Para los datos obtenidos de los análisis de cada tratamiento, se aplicó un análisis estadístico ANOVA con un nivel de significancia $\alpha= 0,05$ y un test Tukey bajo las siguientes hipótesis:

H₁: Existe diferencia entre los datos en cuanto a los días de fermentación.

H₀: No existe diferencia entre los datos en cuanto a los días de fermentación.

Tabla 7
ANOVA de los Tratamientos

Factor	Suma de Cuadrados	Media Cuadrática	F	Sig.
pH	4,427	0,738	81,789	0,000
ACIDEZ_FIJA	0,610	0,102	1,473	0,257
ACIDEZ_VOLATIL	22,415	3,736	3,765	0,000
ACIDEZ_TOTAL	21,556	3,593	51,318	0,000

Nota. F- Representa el tamaño de varianza- Sig. (Significancia): Representa la probabilidad (p-valor)

En la Tabla 7 del análisis ANOVA que se realizó para el T1. De acuerdo al análisis estadístico de los cuatro parámetros analizados, luego de la producción de ácido acético se observa que existen diferencias significativas de los datos, en cuanto a los análisis de pH, acidez volátil y acidez total, esto debido a que se denota que el valor de $p < 0.05$ lo que quiere decir que se acepta la hipótesis alternativa y se rechaza la hipótesis nula, por el contrario, no existen diferencias significativas en cuanto al parámetro de la acidez fija debido a que $p > 0,257$.

Comparación de los resultados de medias obtenidos en los análisis de cada tratamiento A

Tabla 8

Resultados de medias de pH por tratamiento

Tratamientos experimentales		Días									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fermentación Mixta	T1				2.93	2.73	2.5	2.34			
	T3				2.86	2.76					
Fermentación Combinada	T5				3.33	3.27	2.47				
	T2	3.56	3.47	2.95	2.87	2.85	2.75	2.65	2.54	2.47	2.36
Fermentación Combinada	T4	3.68	3.16	2.64	2.48	2.35					
	T6	3.5	3.42	3.37	3.34	3.25	2.72	2.51			

En la Tabla 8 se muestran los resultados de las medias obtenidas por el análisis del pH, donde se evidencia cada tratamiento con sus respectivas repeticiones, se pueden observar las diferencias que existen con relación a los días de fermentación acética, para el T1 y T6 al finalizar la fermentación acética lo hacen con 7 días obteniendo de esta forma un valor de 2,34 a diferencia del T6 obtuvo un valor de 2.51 existiendo una diferencia 0,17 para los tratamientos, también se puede evidenciar que el T3 y T4 de igual manera al finalizar poseen la misma cantidad de días de fermentación y se obtuvieron valores los siguientes valores de 2,76 y 2,35 con una diferencia de 0,41 y finalmente el T2 el cual tuvo 10 días y el T5 con 6 días de fermentación el valor al concluir la fermentación acética fue de 2,36 para T2 y 2,47 para T5, lo que significa que existe una variabilidad de datos en los seis tratamientos y los valores obtenidos nos da un resultado que el pH del vinagre se encuentra dentro de los requisitos de la normativa Ecuatoriana NTE INEN 2296:13.

Tabla 9

Resultado de medias de Acidez Total por tratamiento

Tratamientos experimentales		Días									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fermentación Mixta	T1				1.6	2.12	2.81	3.98	3.96		
	T3				4.28	4.97	4.97				
	T5				3.68	4.24	4.96	4.95			
Fermentación Combinada	T2	0.28	0.65	0.98	1.85	2.83	3.20	3.47	3.75	4.12	4.14
	T4	1.99	3.02	4.13	5.04	6.63	6.60				
Fermentación Combinada	T6	1.09	1.45	2.15	2.86	3.47	4.73	4.77			

La Tabla 9 muestran los resultados de las medias obtenidas por las réplicas de cada tratamiento para el análisis de la acidez total, en las cuales se pueden evidenciar que existen unidades experimentales que cuentan con más días de fermentación que otras unidades, al observar los valores se puede contemplar la diferencia que existe entre los datos por los días de fermentación acética que presentan los tratamientos, también se analiza que los valores

obtenidos se encuentran dentro de la normativa ecuatoriana NTE INEN 2296:2013 para los requisitos del vinagre debido a que los valores de rango de referencia para la acidez total son de (4-6 g/l) expresado en ácido acético.

Tabla 10

Resultado de medias de Acidez Fija por tratamiento

	Tratamientos experimentales	Días									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fermentación	T1					0.35	0.38	0.33			
Mixta	T3					1.41					
	T5					1.42	1.38				
Fermentación	T2	0.07	0.3	0.47	1.08	1.84	1.95	1.91	2.02	1.46	0.46
Combinada	T4	0.34	0.43	0.99	2.43	3.21					
	T6	0.04	0.12	0.26	0.78	1.3	1.44	1.53			

La Tabla 10 muestra los resultados de las medias de cada tratamiento por días en relación al análisis de la acidez fija, donde se muestran que grupos difieren entre sí con respecto a los días de la fermentación acética por cada método de obtención planteado, donde se comparó cada uno de los días de la fermentación de los tratamientos, se puede evidenciar que existe variabilidad de los datos y en la prueba ANOVA se observa que existe una diferencia altamente significativa en los datos debido a que el valor de F es 1,473 y su valor de p es mayor a 0,05, se puede concluir que se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa.

Tabla 11

Resultado de medias de Acidez Volátil por tratamiento

	Tratamientos experimentales	Días									
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Fermentación	T1					1.38	2.46	3.72			
Mixta	T3					3.66					
	T5					2.4	3.6				
Fermentación	T2	0.18	0.3	0.48	0.72	0.96	1.2	1.44	1.68	2.4	3.6
Combinada	T4	1.56	1.74	2.7	3.6	3.72					
	T6	1.02	1.14	1.32	1.5	1.98	2.52	3.72			

En la Tabla 11 se encuentran los resultados de las medias, con respecto al análisis de la acidez volátil, se pueden observar que existe una variabilidad de los datos correspondiente a los días de fermentación acética para la obtención del ácido acético y se puede observar que desde el día 5 al 7 se produce la mayor producción de acidez volátil para los T1 y T6, en cuanto a los T3 y T4 el aumento se evidencia en el día 4 y 5, a diferencia del T2 su producción se nota desde el día 8 como empieza a ascender la acción de las bacterias acéticas, al obtener un valor estable durante varios días se puede concluir que el proceso de la fermentación acética ha concluido.

Determinación del rendimiento del ácido acético

Tabla 12

Resultado de los rendimientos obtenidos para cada uno de los tratamientos

Tratamientos	ml de ácido acético filtrado	ml de mucílago	%Rendimiento
T1	120 ml	150 ml	80%
T2	125 ml	150 ml	83.33%
T3	185ml	200 ml	92.5 %
T4	180 ml	200 ml	90%
T5	220 ml	250 ml	88 %
T6	215 ml	250 ml	86%

En la Tabla 12 se pueden evidenciar los resultados que se obtuvo en relación al rendimiento de las seis unidades experimentales luego de haber realizado un proceso de filtración del vinagre, donde se muestra que existe un porcentaje del 92.5% para el T3, siguiéndole el T4 con un 90% , T5 con un 88%, luego el T6 con 86% y finalmente el T2 con 83,33%, y T1 con 80% de rendimiento, debido a que los valores que se obtuvo después de la filtración se debe a que en el papel filtro al momento de pasar quedan sedimentos que menoran los ml del frasco.

Determinación del porcentaje de alcohol

Tabla 13

Porcentaje de alcohol del ácido acético obtenido en los seis tratamientos

TRATAMIENTOS	DÍAS	%ALCOHOL
T1	7	2
T2	10	1
T3	5	5
T4	5	0,5
T5	6	8
T6	7	0,8

Al concluir la fermentación acética, se realizó el proceso de una destilación simple donde se evidenció que los resultados con mayor contenido de grados alcohólicos fueron para el T5 el cual se realizó bajo el método de una fermentación combinada y tuvo un tiempo de 6 días para obtener el ácido acético, a mayor tiempo se obtiene mayor contenido de alcohol en la muestra, el T1 obtuvo un porcentaje de 2% de alcohol, esto debido a que se realizó por el método de una fermentación mixta, el tipo de mucílago que se utilizó fue fresco y su tiempo de fermentación fue de 10 días. Según (Goya, 2013) quien menciona en su proyecto de investigación a Chauvet, dice que el vino se transforma en vinagre cuando su contenido de alcohol llega a un valor 1°g/l

o 0.8 g/l, sin embargo, al observar los valores de la tabla 15 en los T3, T1 y T5 poseen valores con un grado alcohólico superior a los T1, T4 y T6, esto quiere decir el proceso fermentativo aún no ha concluido en su totalidad.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- El proceso de la fermentación alcohólica tuvo una duración de 3 a 4 días a una temperatura de 28° a 30° C mediante el inóculo de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, posteriormente se utilizó el sustrato para poder iniciar la fermentación acética, donde se adicionó las bacterias acéticas del género *Acetobacter aceti*, efectuándose una fermentación de forma aerobia, controlando los parámetros de temperatura, acidez y pH cada 24 horas hasta que se observó que los valores se mantenían constantemente, llegando a la conclusión que el proceso fermentativo había finalizado.
- Los resultados mostraron que al aplicar el método de una fermentación conjunta de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* con la bacteria *Acetobacter aceti*, existe una mayor producción de ácido acético que la fermentación mixta o individual, esto se debe a que la combinación de estos dos procesos biológicos, es más eficiente que un proceso individual, ya que las bacterias acéticas convierten de forma rápida y eficiente el etanol, que por acción de las levaduras se ha convertido el azúcar presente en el mucílago de cacao en etanol, lo que permite que se lleve a cabo una producción más eficaz, de forma rápida y con un mayor rendimiento de ácido acético.
- La optimización de los dos métodos de fermentación bacteriana para obtención del ácido acético a partir del inóculo de levaduras y bacterias acéticas muestra que las condiciones óptimas para llevar a cabo la fermentación debe poseer un valor de 15°Brix como concentración del sustrato y una temperatura de 28° a 30°C, en un tiempo aproximado de 7 días para el método conjunto y de 4 días para la fermentación alcohólica y 6 para la fermentación acética, siendo así un tiempo de 10 días para el método mixto, de esta forma se evidencia que el T2 cumple en cuanto a los parámetros que se encuentran en la normativa Ecuatoriana NTE INEN 2296:2013 para los requisitos del vinagre.
- Mediante la determinación de los parámetros fisicoquímicos propios de la fermentación (Acidez total, acidez fija, acidez volátil, pH, °Brix), se observó una variabilidad de los datos en cuanto a los valores de los días de fermentación que presentaba cada tratamiento, también se obtuvo un valor de rendimiento del 92.5 % para el tercer tratamiento y un 80% para el primer tratamiento, concluyendo que el mejor tratamiento que más rindió luego de la filtración fue el T3 debido a que obtuvo una mayor producción en cuanto al vinagre obtenido, ya que al realizar una fermentación combinada se minimiza la pérdida de los sustratos.

5.2.Recomendaciones

- Elegir mazorcas de cacao de buena calidad, maduras y sin presencia de plagas.
- Mantener la temperatura de fermentación óptima para las bacterias acéticas entre 25 a 30°C.
- Controlar periódicamente los parámetros de la fermentación acética para poder llevar un registro adecuado de los valores y ver como varían con las horas y que tiempo se tarda en completar su proceso de fermentación.
- Brindar campañas que concienticen los beneficios nutricionales que posee el mucílago de cacao.
- Desarrollar capacitaciones acerca del manejo del cultivo del cacao por medio de técnicas que ayuden a diversificar y potencializar los derivados del mucílago del cacao en las industrias para disminuir el desperdicio y darle un valor agregado.

BIBLIOGRAFÍA

- Díaz, L. (2010). *La Observación*. México: Departamento de Publicaciones.
- Fundación Wikimedia. (30 de Mayo de 2022). *Fermentación acética*. Obtenido de Wikipedia:
https://es.wikipedia.org/wiki/Fermentaci%C3%B3n_ac%C3%A9tica
- Acuña, C. (2020). El cacao en la Costa ecuatoriana: estudio de su dimensión cultural y económica. *Revista Internacional De administración*, 59-83.
- Agrícola, F. E. (2019). El cultivo del Cacao. *Infocafes*, 1-12.
- Alaniz, E. (Agosto de 2013). “*Producción de postres y vinagres a partir de exudado de cacao en la cooperativa de servicios múltiples “Ríos de agua viva, 21 de Junio, municipio Rancho Grande Matagalpa”*”. Obtenido de Universidad Nacional de Ingeniería:
<https://avdiaz.files.wordpress.com/2012/08/protocolo-cacao.pdf>
- Álvarez, D. O. (15 de Julio de 2021). Obtenido de concepto: <https://concepto.de/fermentacion/>
- Bantu Group. (30 de Marzo de 2020). *Blog oficial de Bantu*. Obtenido de Blog oficial de Bantu:
<https://www.bantugroup.com/blog/etapas-del-procesamiento-y-analisis-de-datos#:~:text=De%20forma%20general%2C%20el%20procesamiento,la%20usar%C3%A1n%20seg%C3%BAn%20sus%20necesidades.>
- Cabrera, O. (2022). Obtención de vino y vinagre a partir del mucílago de cacao (*Theobroma Cacao L.*) CCN-51. *Revista UTCiencia*, 89-98.
- Cardenas, Y., & Laguna, L. (2015). *Rendimiento de alcohol de mucílago de Cacao (Theobroma cacao l.) de los clones CCN-51 e IMC-67 con el uso de levadura comercial (Saccharomyces cerevisae meyen ex e.c. hansen)*. Obtenido de Universidad Nacional de Ucayaly Pucallpa Perú: <http://repositorio.unu.edu.pe/handle/UNU/3922>

- CEPAL. (07 de Julio de 2015). *Diagnóstico de la Cadena Productiva del Cacao en el Ecuador*.
Obtenido de vicepresidencia.gob: <https://www.vicepresidencia.gob.ec/wp-content/uploads/2015/07/Resumen-Cadena-de-Cacao-rev.pdf>
- Chicaiza, P., & LÓPEZ, A. (2020). *Inmovilización microbiana en alginato de calcio para la producción de vinagre a partir del mucílago de cacao*. Obtenido de Universidad de Guayaquil: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/50329/1/BINGQ-IQ-20P20.pdf>
- Contreras, R. (29 de Septiembre de 2019). Obtenido de La Guia: <https://biologia.laguia2000.com/bioquimica/fermentacion-acetica>
- Corpus, P. (02 de Diciembre de 2022). *Con Que Se Fermenta La Cerveza?* Obtenido de Hamburguesa callejera: <https://www.streetburger.pe/hamburguesas/con-que-se-fermenta-la-cerveza.html>
- Damian, P. J., & Villar, M. M. (2019). "Aprovechamiento del jugo del mucílago de cacao (Theobroma cacao L.) en la elaboración de productos Agroindustriales (Néctar, Vino y Vinagre)". Obtenido de Universidad Nacional Hermilio Valdizan: <https://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13080/5459/TAI00157D22.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Dumble. (20 de Noviembre de 2013). *Cacao morfología y taxonomía*. Obtenido de Blogspot-Agroindustria: <http://fiai-pe.blogspot.com/2013/11/cacao-morfologia-y-taxonomia.html>
- Dussap , G., & Poughon, L. (2017). Microbiología de la Fermentación Alcohólica. *ScienceDirect*, 263-279.
- Equipo editorial. (01 de Diciembre de 2021). "*Experimentación científica*". Obtenido de Concepto.de.: <https://concepto.de/experimentacion-cientifica/>

- Equipo editorial, Etecé. (31 de Agosto de 2022). *"Investigación experimental"*. Obtenido de Concepto.de.: <https://www.ejemplos.co/investigacion-experimental/>
- Gamboa, S. (23 de Septiembre de 2019). Obtenido de FOOD & WINE: <https://foodandwineespanol.com/mucilago-la-parte-mas-olvidada-del-cacao/>
- García, A. P. (2021). La cadena de producción del Cacao en Ecuador: Resiliencia en los diferentes actores de la producción. *Novasineria*, 2631-2654.
- García, S. (2013). *Optimización y Aprovechamiento del residuo(exudado del mucílago) de la almendra frescadel cacao (Theobroma Cacao l.) CCN51 en la elaboración de vinagre*. Obtenido de Universidad Tecnológica Equinoccial: https://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/5003/1/51206_1.pdf
- Garzón. (11 de Octubre de 2018). *Fermentación alcohólica: qué es y cómo afecta al vino*. Obtenido de bodegagarzon.com: <https://bodegagarzon.com/es/blog/fermentacion-alcoholica/>
- Goya, J. (2013). *"Obtención de una bebida alcohólica a partir de mucílago de cacao,*. Obtenido de Universidad Técnica Estatal de Quevedo: <https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/ac003d6c-b61a-4f18-85dd-674c7d510d22/content>
- Grupo PCC. (26 de Octubre de 2021). *Ácido acético: propiedades y aplicaciones únicas*. Obtenido de Portal de producto: <https://www.products.pcc.eu/es/blog/acido-acetico-propiedades-y-aplicaciones-unicas/>
- Guerrero, G. (2018). El Cacao ecuatoriano Su historia empezó antes del siglo XV. *revistalideres.ec*, 20-25.
- INEN. (2013). *INEN*. Obtenido de <https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/2296.pdf>

- Largo, S., & Yugcha, J. (2016). *Elaboración de Néctar Natural de Cacao a Partir del Mucílago*.
Obtenido de Escuela Superior Politécnica Del Litoral: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.dspace.espol.edu.ec/retrieve/ffbe1067-bd1c-4262-b23a-2c50594f41dc/D-CD88256.pdf
- LibGuides. (09 de Junio de 2022). *La mejor práctica para la Búsqueda Bibliográfica*. Obtenido de IFIS: https://ifis.libguides.com/spanish_best_practice/busqueda_bibliografica
- Loor, R., & Fouet, O. (2019). Rastreado los ancestros nativos de la población moderna de *Theobroma cacao* L. en Ecuador. *SpringerLink*, 421-433.
- Luna Calderón , T. (14 de Septiembre de 2018). *Producción de etanol a partir del mucílago de cacao (Theobroma)*. Obtenido de UTMACH: http://repositorio.utmachala.edu.ec/bitstream/48000/13283/1/T-2739_LUNA%20CALDER%c3%93N%20TANIA%20ANNABEL.pdf
- Luzuriaga, D. (2013). *Extracción y Aprovechamiento del Mucílago de cacao (Theobroma cacao) como materia prima en la elaboración de vino* . Obtenido de Universidad Tecnológica Equinoccial: https://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/4930/1/47745_1.pdf
- Manrique, M. (2017). *Evaluación de parámetros fisicoquímicos de un shampoo pediculicida conteniendo ácido acético como agente no tóxico*. Obtenido de Universidad Nacional de San Agustín: https://1library.co/document/q7wlpnz-evaluacion-parametros-fisicoquimicos-shampoo-pediculicida-conteniendo-acetico-toxico.html
- Marchatic. (16 de Junio de 2019). *Función de ácido acético » Usos y beneficios*. Obtenido de Marchatic,S.L.U: https://www.acidoacetico.org/funcion/
- Marquéz, A. (Julio de 2015). *Análisis de los niveles de desperdicio del mucílago de cacao y su aprovechamiento como alternativa de biocombustible*. Obtenido de UNEMI: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://repositorio.unemi.edu.ec/bitstre

am/123456789/1770/1/An%C3%A1lisis%20de%20los%20niveles%20de%20desperdi
cio%20del%20muc%C3%ADlago%20de%20cacao%20y%20su%20aprovechamiento
%20como%20alternativa%20de%2

Martinez, S. (Noviembre de 2020). *“Optimización de un proceso de fermentación artesanal para elaboración de vinagre y estudio del inóculo empleado (Madre del vinagre)”*.

Obtenido de Universidad Autónoma de Puebla:

<https://repositorioinstitucional.buap.mx/server/api/core/bitstreams/e64a4640-9a3e-4a18-87d2-ec2f5c8315e0/content>

Muller, A. (Agosto de 2019). *Elaboración de Vinagre a partir de Vino de Arándano*. Obtenido

de Universidad Austral de Chile:

<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fam958e/doc/fam958e.pdf>

Muller, P. (2005). *Elaboración de Vinagre a partir de Vino de Arándano (Vaccinium corymbosum L.)*. Obtenido de Universidad Austral de Chile: chrome-

extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fam958e/doc/fam958e.pdf>

Nasam. (2013). *fertilizando el progreso*. Obtenido de NASAM:

<http://www.nasmartin.com/cacao/>

Ondarse Álvarez, D. (15 de Julio de 2021). *Fermentación*. Obtenido de Concepto.de:

<https://concepto.de/fermentacion/>

Ortega, C. (2022). *Investigación cuantitativa. Qué es y cómo realizarla*. Obtenido de Question

Pro: <https://www.questionpro.com/blog/es/que-es-la-investigacion-cuantitativa/>

Ortiz, K., & Álvarez, R. (2015). Efecto del vertimiento de subproductos del beneficio de cacao (theobroma cacao l.) Sobre algunas propiedades químicas y biológicas en los suelos de

una finca cacaotera, municipio de yaguará (huila, colombia). *Boletín Científico Centro de Museos Museo de Historia Natural*, 65-84.

Pablo, A. (11 de Agosto de 2019). Obtenido de <http://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13080/5459/TAI00157D22.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

Pájaro-Escobar, H. (2018). Caracterización Físicoquímica y Microbiológica de un Vino de Frutas a base de Tamarindo (*Tamarindus indica* L.) y Carambola (*Averrhoa carambola* L.). *Scielo*, 22-29.

Paredes, J. (15 de Junio de 2016). Obtenido de Dspace: <https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/25266/1/tesis.pdf>

Pirra, M., & Santucci, E. (2022). *Producción de ácido acético por carbonilación de metanol*. Obtenido de Universidad Tecnológica Nacional: https://ria.utn.edu.ar/bitstream/handle/20.500.12272/6068/Produccion%20de%20acido%20acetico%20por%20carbonilacion%20de%20metanol_Pirra_Santucci_V27.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Pizarro, A. (Mayo de 2020). Obtenido de AUCH: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fap695o/sources/fap695o.pdf>

Quintana , L., & García , A. (2021). *Evaluación integral de la calidad sensorial del Cacao*. Bogotá D.C: Editorial UNAD. Obtenido de Escuela de Ciencias Agrícolas, Pecuarias y de Medio Ambiente -ECAPMA: <https://hemeroteca.unad.edu.co/index.php/book/article/view/4852/4570>

Quizhpi, E. (2016). *Caracterización del mucilago de cacao ccn 51 mediante espectrofotometría uv-visible y absorción atómica” caso: ecuador-zona 6*. Obtenido de Universidad de Cuenca-Escuela de Ingeniería Química: chrome-

extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/25266/1/tesis.pdf

Reyes, K. (Diciembre de 2015). *Cuantificación de vinagre obtenido de cáscara de piña por medio de fermentación alcohólica y acética, y su incidencia en la productividad, en una empresa guatemalteca*. Obtenido de Universidad de San Carlos de Guatemala: <http://www.repositorio.usac.edu.gt/4722/1/KARLA%20ANABELLA%20REYES.pdf>

Rivera, C. (2013). *Efecto de una cepa de bacteria acética nativa sobre la*. Obtenido de Universidad de Chile: [https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/152674/Efecto-de-una-cepa-de-bacteria-acetica-nativa-sobre-la-composicion-fenolica-de-vinagres-obtenidos-a-partir-de-vino-blanco-y-tinto.pdf?sequence=1#:~:text=Bacterias%20Ac%C3%A9ticas,-Las%20bacterias%](https://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/152674/Efecto-de-una-cepa-de-bacteria-acetica-nativa-sobre-la-composicion-fenolica-de-vinagres-obtenidos-a-partir-de-vino-blanco-y-tinto.pdf?sequence=1#:~:text=Bacterias%20Ac%C3%A9ticas,-Las%20bacterias%20)

Rodríguez, R. (2021). Valoración de baba de cacao (mucílago) no utilizada. *Revista Científica Ciencia Y Tecnología*, 21-32.

Sanchez , A. (Junio de 2016). *Modelado del proceso de extracción de ácido acético con recuperación de disolvente orgánico*. Obtenido de UPM: chrome-extension://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://oa.upm.es/42845/1/TFG_ANA_SANCHEZ_LEVOSO.pdf

Sánchez Olaya, D., Rodríguez Pérez, W., Castro Rojas, D., & Trujillo Trujillo, E. (2019). Respuesta agronómica de mucilago de cacao (*Theobroma cacao* L.) en cultivo de maíz (*Zea mays* L.). *SciELO - Scientific Electronic Library Online*.

Sociedad Anonima Inmonte. (18 de Mayo de 2023). *Del Monte Ag*. Obtenido de producción de cacao en Ecuador y su impacto económico: <https://delmonteag.com.ec/produccion-de-cacao-en-ecuador-y-su-impacto-economico/>

- Suárez, C., Garrido, A., & Guevara, C. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *ICIDCA*, 20-28.
- Theme By SKT Themes. (02 de Diciembre de 2022). *Qué es la fermentación y cómo se hace*. Obtenido de Hamburguesa callejera: <https://www.streetburger.pe/hamburguesas/con-que-se-fermenta-la-cerveza.html>
- Torres, M. (29 de Noviembre de 2017). *Fermentación acética*. Obtenido de Industrias de alimentos-nutrición: <https://alimentos.blogia.com/2007/112901-fermentaci-n-ac-tica.php>
- Uriarte, J. (29 de Septiembre de 2022). *Ácido acético*. Obtenido de Humanidades.com: <https://humanidades.com/acido-acetico/>.
- Vallejo Torres, C. (2016). Utilización del mucílago de cacao, tipo nacional y. *Revista Espamciencia*, 1-8.
- Vargas, M. (20 de Mayo de 2020). *Dinámica agroindustrial del sector cacaotero del Ecuador I*. Obtenido de produccioncientificaluz.org: <https://produccioncientificaluz.org/index.php/rvg/article/view/33168/34828>
- Vázquez, D. &. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *Scielo*.
- Vera, E. (2020). Elaboración de vinagre de vino a partir del mucílago y exudado de cacao criollo (*Theobroma Cacao L.*). *Revista Científica "INGENIAR"*, 2-3. Obtenido de <https://journalingeniar.org/index.php/ingeniar/article/view/4/10>
- Villagómez, S., & Argüello, F. (2013). *Optimización y aprovechamiento del residuo (exudado del mucílago) de la almendra fresca del cacao (theobroma cacao l.) Ccn51 en la elaboración de vinagre*. Obtenido de Universidad Tecnológica Equinoccial.: <https://revistas.ute.edu.ec/index.php/tsafiqui/article/view/256/260>

Villanueva, D., & Villar, M. (2019). Obtenido de <https://repositorio.unheval.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13080/5459/TAI00157D22.pdf?sequence=3&isAllowed=y>

Zarrillo, S. (2018). El uso y domesticación de *Theobroma cacao* durante el Holoceno medio en la alta Amazonía. *Naturaleza Ecología y Evolución*, 1879-1888.

ANEXOS

Proceso de recolección y extracción del mucílago de cacao



Recolección y Selección de las mazorcas



Lavado y Corte de las mazorcas



Extracción del mucílago de cacao



Obtención del mucílago de cacao

Preparación del mosto



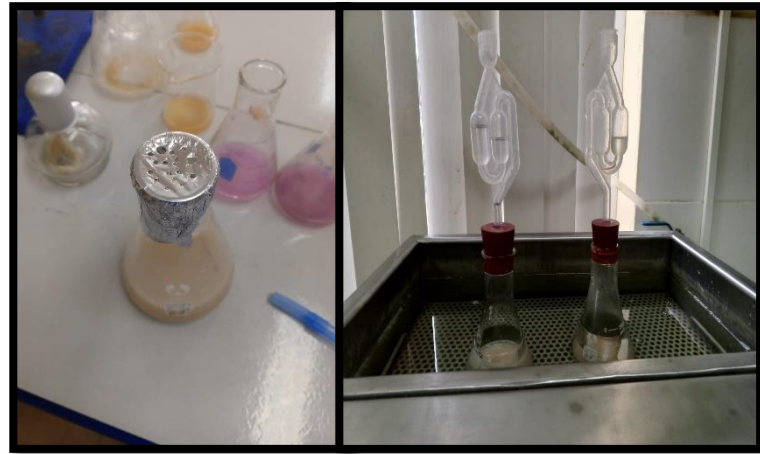
Inoculación de la levadura



Mosto preparado para la fermentación alcohólica



Mosto preparado para la fermentación
acética



Inicio de fermentación aerobia y anaerobia

Proceso de obtención de las BAA



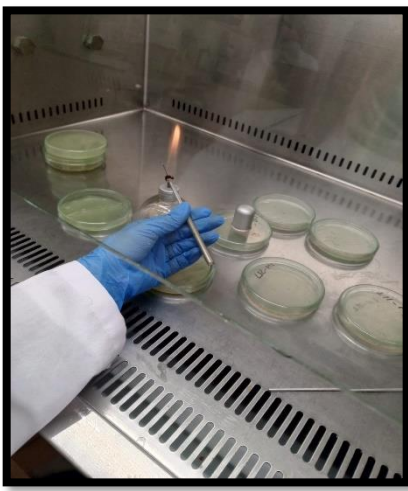
Materiales utilizados para la siembra



Agar PCA utilizado



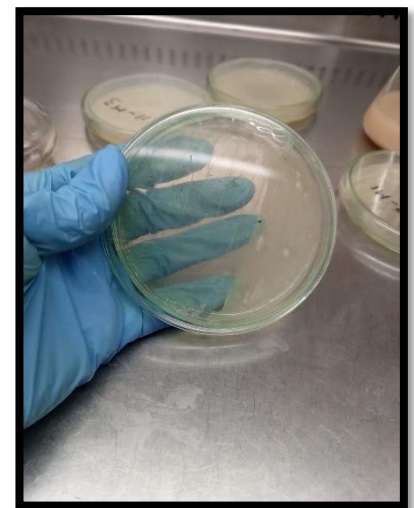
Preparación del Agar



Esterilización del asa bacteriológ



Incubación de la cepa sembrada

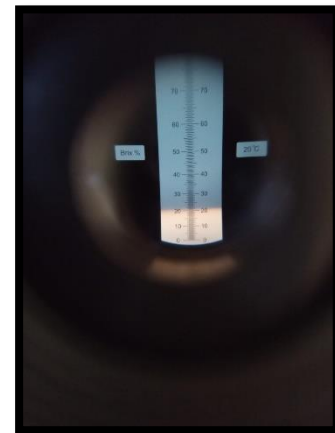


Obtención de la BAA

Análisis realizados en el laboratorio de la carrera



Toma del pH antes y después



Análisis de los °Brix



Análisis de la acidez por el método de titulación



Destilación del vinagre



Toma de los grados alcohólicos



Toma de la T° al momento de la destilación



Pesaje del NaOH



Pesaje del Ftalato ácido de potasio

