



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABÍ
MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

CARRERA DE AGROINDUSTRIA

**INFORME DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR
PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL**

MECANISMO: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

TEMA:

**EFFECTO DE LA CASCARILLA DE CACAO Y CEPAS DE
Saccharomyces spp EN LA CALIDAD DE UNA CERVEZA
ARTESANAL ESTILO PORTER**

AUTORES:

**JOSE DAVID BERMEO MENDOZA
ORLEY NEPTALY MERA MECIAS**

TUTOR:

ING. GUILBER ENRIQUE VERGARA VÉLEZ. Mgtr.

CALCETA, FEBRERO DE 2024

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

JOSÉ DAVID BERMEO MENDOZA con cédula de ciudadanía **1315818961** y **ORLEY NEPTALY MERA MECIAS** con cédula de ciudadanía **0953737251**, declaramos bajo juramento que el Trabajo de integración Curricular titulado: **EFFECTO DE LA CASCARILLA DE CACAO Y CEPAS DE *Saccharomyces spp* EN LA CALIDAD DE UNA CERVEZA ARTESANAL ESTILO PORTER** es de nuestra autoría, que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional y que hemos consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, concedo a favor de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos, conservando a nuestro favor todos los derechos patrimoniales de autor sobre la obra, en conformidad con el Artículo 114 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación.



ORLEY NEPTALY MERA MECIAS

CC. 0953737251



JOSE DAVID BERMEO MENDOZA

CC. 1315818961

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

JOSE DAVID BERMEO MENDOZA, con cédula de ciudadanía **1315818961** y **ORLEY NEPTALY MERA MECIAS** con cédula de ciudadanía **0953737251** autorizamos a la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López, la publicación en la biblioteca de la institución del Trabajo de Integración Curricular titulado: **EFFECTO DE LA CASCARILLA DE CACAO Y CEPAS DE *Saccharomyces spp* EN LA CALIDAD DE UNA CERVEZA ARTESANAL ESTILO PORTER**, cuyo contenido, ideas y criterios son de nuestra exclusiva responsabilidad y total autoría.



ORLEY NEPTALY MERA MECIAS

CC. 0953737251



JOSE DAVID BERMEO MENDOZA

CC. 1315818961

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR

ING. GUILBER ENRIQUE VERGARA VÉLEZ, Mgtr., certifica haber tutelado el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EFFECTO DE LA CASCARILLA DE CACAO Y CEPAS DE *Saccharomyces spp* EN LA CALIDAD DE UNA CERVEZA ARTESANAL ESTILO PORTER**, que ha sido desarrollada por **JOSÉ DAVID BERMEO MENDOZA** y **ORLEY NEPTALY MERA MECIAS**, previo a la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

**ING. GUILBER ENRIQUE
VERGARA VÉLEZ, Mgtr.**

CC. 1307843860

TUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

Los suscritos integrantes del tribunal correspondiente, declaramos que hemos **APROBADO** el Trabajo de Integración Curricular titulado: **EFFECTO DE LA CASCARILLA DE CACAO Y CEPAS DE *Saccharomyces spp* EN LA CALIDAD DE UNA CERVEZA ARTESANAL ESTILO PORTER**, que ha sido desarrollado por **JOSÉ DAVID BERMEO MENDOZA** y **ORLEY NEPTALY MERA MECIAS**, previa la obtención del título de Ingeniero Agroindustrial, de acuerdo al **REGLAMENTO DE LA UNIDAD DE INTEGRACIÓN CURRICULAR DE CARRERAS** de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López.

ING. DAVID WILFRIDO MOREIRA VERA,
PhD.

CC. 1306213750

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

ING. LUISA ANA ZAMBRANO
MENDOZA, Mgtr.

CC. 1314287697

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

ING. JULIO VINICIO SALTOS
SOLORZANO, PhD.

CC. 1308700622

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día;

A Dios por permitirme la oportunidad y darme fuerzas para alcanzar este logro el cual he luchado durante mi estadía universitaria.

A mis padres por todo el apoyo prestado durante esta trayectoria, especialmente a mi madre Francisca Trinidad Mendoza Gaón que con sacrificio y esfuerzos logró darme una buena educación, siendo parte fundamental para mi vida.

A mis abuelos y hermanos por siempre brindarme de su apoyo y estar presente en cada una de las etapas de mi vida, estando siempre de una u otra manera mostrándome ese amor de familia.

A mis compañeros de clases, quienes estuvieron presentes en cada momento, a los ingenieros de la carrera de Agroindustrias, a los técnicos de talleres, de laboratorios, a todos ellos les quedo eternamente agradecido por la ayuda brindada e impartida durante esta travesía, de no haber sido por aquellas personas este logro no hubiese sido posible.

JOSE DAVID BERMEO MENDOZA

AGRADECIMIENTO

A la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López que me dio la oportunidad de crecer como ser humano a través de una educación superior de calidad y en la cual he forjado mis conocimientos profesionales día a día;

A Dios por protegerme y bendecirme durante cada día transcurrido en mi etapa académica.

A mi padre Orley Tobías Mera Padilla y mi madre Jazmín Cecibel Mecías Salavarría, por ser quienes a la distancia siempre estuvieron presentes conmigo a pesar de las adversidades que ocurren en mi vida cotidiana, y sobre todo darme inspiración para levantarme cada mañana rumbo a clases.

A mi amada carrera Agroindustria, por ser mi segundo hogar, donde aprendí mucho no solamente lo académico, a conocer el verdadero valor de cada cosa y cada día me fascinaba llegar a las aulas.

A mis amigos, los cuales siempre fueron una segunda familia por estar cuando se los necesitaba.

ORLEY NEPTALY MERA MECIAS

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a Dios por darme la oportunidad de llegar al final de una nueva meta, sin él nada de esto sería posible.

A mi madre Francisca Mendoza dedico de manera incondicional este trabajo ya que fue parte fundamental durante este periodo, por brindarme cariño y ser el motor de motivación durante mucho tiempo, por ser el ejemplo de inspiración y demostrarme que con esfuerzo cualquier logro tiene menor fuerza de sacrificio.

Dedico todo este esfuerzo a la vida, a pesar de haber sido dura, injusta e indiferente me demostró muchas cosas, si buscas algo no lo pienses dos veces solo ve por ello, hay quienes vivirán toda una vida de arrepentimiento otros sabrán lo que es conseguir sus sueños, pero lo satisfactorio es procurar estar despierto cuando busques hacer realidad tus sueños, no se necesita tener ciertos privilegios, todos partimos de un mismo punto, otros tal vez con un poquito más de fortuna pero al final todo resultado es merecimiento, por último me siento satisfecho al saber que una de mis frases “el estudio es la única herramienta que permite cambiar tu destino” tiene sentido, aquí es donde aprendí la importancia del propósito de vida.

JOSE DAVID BERMEO MENDOZA

DEDICATORIA

A Dios por bendecirme y cuidarme cada día durante la trayectoria académica y permitirme estar vivo a pesar de las cosas de la vida. Dedico con todo mi amor esta tesis a mi madre Jazmín Cecibel Mecías Salavarría y mi padre Orley Tobías Mera Padilla por ser pilares fundamentales para no desistir nunca. A mi hermana Mayelly Tatiana Mera Mecías por darme ánimos siempre, a mi amada abuela Aida Margarita Salavarría Vera por siempre orar en mi nombre. Y de manera muy especial me dedico este trabajo como la meta alcanzada por la que un día empecé, por mi sacrificio y dedicación y jamás rendirme ante cualquier adversidad.

ORLEY NEPTALY MERA MECIAS

CONTENIDO GENERAL

DECLARACIÓN DE AUTORÍA.....	ii
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN	iii
CERTIFICACIÓN DEL TUTOR	iv
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
DEDICATORIA.....	ix
CONTENIDO DE TABLAS	xii
CONTENIDO DE FIGURAS	xii
CONTENIDO DE FÓRMULAS	xii
RESUMEN	xiii
PALABRAS CLAVE.....	xiii
ABSTRACT	xiv
KEYWORDS	xiv
CAPÍTULO I. ANTECEDENTES.....	1
1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	1
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	2
1.3. OBJETIVOS	4
1.3.1. OBJETIVO GENERAL	4
1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	4
1.4. HIPÓTESIS	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	5
2.1. CERVEZA	5
2.1.1. ESTILO PORTER	5
2.2. ADJUNTOS CERVECEROS	6
2.3. CASCARILLA DE CACAO.....	6
2.3.1. COMPOSICIÓN DE LA CASCARILLA DE CACAO	6
2.3.2. PROPIEDADES DE LA CASCARILLA DE CACAO	7
2.4. CEPAS DE <i>Saccharomyces spp</i>	8
2.4.1. LEVADURA (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	8
2.4.2. LEVADURA <i>SAFALE S-04</i>	8
2.4.3. LEVADURA <i>SAFBREW WB-06</i>	8
2.5. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DE LA CERVEZA ARTESANAL CON ADICIÓN DE SUBPRODUCTOS DE CACAO.....	9
2.5.1. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS	9

2.5.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.....	10
2.5.3. EVALUACIÓN SENSORIAL.....	11
CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO	13
3.1. UBICACIÓN	13
3.2. DURACIÓN	13
3.3. MÉTODOS	14
3.3.1. EXPERIMENTAL	14
3.4. TÉCNICAS	14
3.4.1. TÉCNICA DE LABORATORIO.....	14
3.4.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS.....	16
3.4.3. EVALUACIÓN SENSORIAL.....	16
3.5. FACTOR DE ESTUDIO	17
3.5.1. NIVELES.....	17
3.5.2. TRATAMIENTOS.....	17
3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL	18
3.7. UNIDAD EXPERIMENTAL	18
3.8. VARIABLES A MEDIR.....	19
3.9. MANEJO DEL EXPERIMENTO.....	19
3.9.1. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA LA ELABORACIÓN DE LA CERVEZA ARTESANAL	21
3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	22
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
4.1. INFLUENCIA DE LOS FACTORES DE ESTUDIO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA CERVEZA ARTESANAL.....	24
4.2. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LA CERVEZA ARTESANAL ESTILO PORTER.....	26
4.3. EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES SENSORIALES DE LA CERVEZA ARTESANAL.....	29
4.3.1. AROMA.....	29
4.3.2. SABOR	30
4.3.3. COLOR.....	31
4.3.4. AMARGOR	32
4.4. RECUENTO TOTAL DE MOHOS Y LEVADURAS	33
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	35
5.1. CONCLUSIONES.....	35
5.2. RECOMENDACIONES	35

BIBLIOGRAFÍA.....	36
ANEXOS.....	Error! Bookmark not defined.

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 2. 1. Composición de la cascarilla de cacao	6
Tabla 3. 1. Análisis microbiológicos para mohos y levaduras	16
Tabla 3. 2. Evaluación sensorial	16
Tabla 3. 3. Detalle de los tratamientos	17
Tabla 3. 4. ANOVA arreglo AxB	18
Tabla 3. 5. Formulación de cerveza artesanal tipo Porter	18
Tabla 4. 1. Análisis de las características fisicoquímicas de la cerveza artesanal en función del porcentaje de cascarilla de cacao (factor A)	24
Tabla 4. 2. Análisis de las características fisicoquímicas de la cerveza artesanal en función de las cepas <i>Saccharomyces spp</i> (factor B).....	25
Tabla 4. 3. Análisis de las características fisicoquímicas de la cerveza artesanal a través de la interacción de A y B	26
Tabla 4. 4. Resumen de prueba de hipótesis	29
Tabla 4. 5. Recuento microbiano	34

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 3. 1. Ubicación del campus politécnico	13
Figura 3. 2. Diagrama de proceso para la elaboración de la cerveza artesanal.....	20
Figura 4. 1. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes en la variable Aroma.....	30
Figura 4. 2. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes en la variable sabor	31
Figura 4. 3. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes en la variable color	32
Figura 4. 4. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes en la variable amargor	33

CONTENIDO DE FÓRMULAS

Ecuación 1. Determinación de acidez.....	14
Ecuación 2. Determinación de grados de alcohol.....	15
Ecuación 3. Determinación de densidad.....	15

RESUMEN

La presente investigación tuvo como propósito evaluar el efecto de la cascarilla de cacao y cepas de *Saccharomyces spp* en la calidad de una cerveza artesanal estilo Porter. Los porcentajes de cascarilla de cacao fueron 0.5%, 1.5% y 2.5% en relación a la malta, con dos tipos de cepas *Saccharomyces spp* que fueron levaduras *Safale S-04* y *Safbrew WB-06*, se empleó un arreglo bifactorial en DCA, obteniendo seis tratamientos con tres repeticiones, que dieron 18 unidades experimentales de 500 ml de cerveza artesanal. Se evaluaron parámetros fisicoquímicos (pH, acidez, grados de alcohol y densidad), microbiológicos (mohos y levaduras) y sensoriales (color, aroma, pureza del sabor y calidad de amargor). Se estableció que la adición de 0.5% de cascarilla de cacao influye significativamente en los grados de alcohol, mientras que la cepa *Safbrew WB-06* tuvo mayor incidencia en las propiedades de pH y densidad para la cerveza estilo Porter. Todos los tratamientos cumplieron con la norma NTE INEN 2262 a excepción de pH que reportó valores superiores de entre 5.04 (T6) y 5.57(T3), siendo el mejor tratamiento T6 (0.5% de cascarilla de cacao + 95% de malta + levadura *Safbrew WB-06*). En el recuento de mohos y levaduras se obtuvieron valores de 1.4×10^3 a 6.0×10^3 UP/mL que superan el límite permisible establecido en la NTE INEN 2262. La evaluación sensorial determinó que T4 mostró mayor aceptación en todos los atributos por parte de los catadores no entrenados. Por tanto, al interactuar 0.5% de cascarilla de cacao y levadura *Safbrew WB-06* presentó mejor características fisicoquímicas a la cerveza artesanal, siendo sensorialmente menos aceptable en comparación con el 2.5% de cascarilla de cacao y levadura *Safbrew WB-06* (T4).

PALABRAS CLAVE

Subproductos del cacao, levaduras, adjunto cervecero, bebida alcohólica.

ABSTRACT

The purpose of this research was to evaluate the effect of cocoa hulls and *Saccharomyces* spp strains on the quality of a Porterstyle craft beer. The percentages of cocoa hulls were 0.5%, 1.5% and 2.5% in relation to the malt, with two types of *Saccharomyces* spp strains that were Safale S-04 and Safbrew WB-06 yeasts, a bifactorial arrangement was used in DCA, obtaining six treatments with three repetitions, which gave 18 experimental units of 500 ml of craft beer. Physicochemical (pH, acidity, alcohol levels and density), microbiological (molds and yeasts) and sensory (color, aroma, purity of flavor and bitterness quality) parameters were evaluated. It was established that the addition of 0.5% of cocoa husk significantly influences the alcohol levels, while the Safbrew WB 06 strain had a greater impact on the pH and density properties for the Porter-style beer. All treatments complied with the NTE INEN 2262 standard except for pH, which reported higher values between 5.04 (T6) and 5.57 (T3), with the best treatment being T6 (0.5% cocoa husk + 95% malt + Safbrew yeast WB-06). In the count of molds and yeasts, values of 1.4×10^3 to 6.0×10^3 UP/mL were obtained, which exceed the permissible limit established in the NTE INEN 2262. The sensory evaluation determined that T4 showed greater acceptance in all attributes by untrained tasters. Therefore, when interacting 0.5% of cocoa hulls and Safbrew WB-06 yeast, it presented better physicochemical characteristics to the craft beer, being sensory less acceptable compared to 2.5% of cocoa hulls and Safbrew WB-06 yeast 06 (T4).

KEYWORDS

Cocoa by-products, yeasts, brewing adjunct, alcoholic beverages

CAPÍTULO I. ANTECEDENTES

1.1. PLANTEAMIENTO Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Ecuador es de los principales países productores de cacao, aunque su representación en el mercado con productos derivados de este fruto es muy baja. El país se ubica en octavo lugar a nivel mundial en la producción de diferentes variedades de cacao y se ubica como primero en el cultivo de cacao fino de aroma (Coronel, 2021). Álvarez y Quilumba (2018) mencionan que en el 2017 el país generó un estimado de 290 mil Toneladas de cacao, lo cual representa el 12% de residuo obtenido de la industrialización conocido como “cascarilla”; es decir, existen 34800 Toneladas de residuos que generalmente son desechados o utilizados para la elaboración de pienso de animales.

Los residuos generados por el grano de la cascarilla de cacao, representan el mayor subproducto de la industria chocolatera. Ortega (2022), describe a la cascarilla de cacao como un material fibroso, de color marrón el cual posee el aroma característico del chocolate, este residuo además de ofrecer las características organolépticas, existe la presencia de azúcares reductores y compuestos fenólicos. Lo que permite el desarrollo de productos destinados al consumo humano convirtiéndose en una alternativa viable para agregar valor a todo este proceso (Soares et al., 2022).

Recientemente, la industria de la cerveza artesanal está en constante transformación debido a que existe una gran demanda de productos auténticos que aporten en las características sensoriales combinadas con beneficios para la salud, lo que se ha convertido en el foco de diversos estudios (Nunes et al., 2021). Es por ello, que la industria debe adaptarse a estos novedosos segmentos de mercado y buscar nuevas formulaciones y productos alimentarios innovadores ligados al destino consciente y sostenible de sus residuos (Cunha et al., 2023).

En la cerveza, uno de los parámetros que se evalúan son las propiedades fisicoquímicas, determinantes en la calidad y las características sensoriales cuyos defectos ocasiona rechazo por parte del consumidor (Ghasemi et al., 2012 citado

por Cedeño y Mendoza, 2016). Estudios recientes han empleado la cascarilla de cacao para la elaboración de cervezas, lo que ha influido en los parámetros fisicoquímicos, especialmente en el pH (Párraga y Zapata 2022 y Salazar et al., 2021) además, es importante escoger un estilo base adecuado para la mezcla de cerveza con cascarilla de cacao, como podría ser la cerveza Porter debido a que utiliza maltas tostadas en la elaboración (Salazar et al., 2021).

Los factores que inciden en las características aromáticas y sensoriales de la cerveza son el tipo de materia prima y los tipos de fermentación (Peralta, 2020), como la cepa de levadura utilizada para la fermentación que influyen en el perfil de aromas y sabores (Latorre et al., 2023). Las cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, son las más utilizadas, debido a que estas prefieren la fermentación de la glucosa frente a otros monosacáridos y disacáridos (Molla, 2022). En un trabajo de Paszkot et al. (2023) se demostró que las levaduras Safale S-04 utilizadas en cervezas oscuras presentaron variaciones en término de sabor, con una valoración ácida.

Castorena et al. (2020) mencionan que los cereales y las frutas se han incorporado al proceso de elaboración de la cerveza para variar las propiedades sensoriales, siendo la cáscara de cacao ampliamente utilizada en el diseño de una variedad de productos. No obstante, se ha limitado su estudio en las propiedades fisicoquímicas y microbiológicas de la cerveza artesanal estilo Porter. Con base a este contexto se plantea la siguiente interrogante:

¿Qué porcentaje de cascarilla de cacao y tipo de cepas de *Saccharomyces spp* influirá en las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de la cerveza artesanal estilo Porter?

1.2. JUSTIFICACIÓN

El presente trabajo pretende evaluar la influencia del porcentaje de cascarilla de cacao y tipo de cepas de *Saccharomyces spp* en las características fisicoquímicas, microbiológicas y organolépticas de la cerveza artesanal estilo Porter. Debido a que, los consumidores prefieren nuevos sabores de cerveza artesanal. Por ello, surge la necesidad de aprovechar los atributos (proteínas, carbohidratos, lípidos, vitamina C y compuestos fenólicos) de la cascarilla de cacao en la elaboración de

cerveza artesanal (Salazar et al., 2021), puesto que es necesario implementar soluciones y alternativas, en las cuales estos residuos tengan un valor agregado y aumente su uso dentro de la industria alimentaria (Ortega, 2022).

Rey y Cedeño (2022) mencionan que, la cascarilla presenta polifenoles con actividad biológica y antioxidante, lo que permite su uso potencial en la manufactura de los alimentos, su fuente de fibra y su alto contenido fenólico, lo convierten en un buen agente de prevención del cáncer y reduce el riesgo de padecer diabetes (Loza y Inga, 2018). La modificación de cervezas tradicionales mediante la adición de adjuntos puede agregar nuevas características sensoriales a la bebida y también aumentar los niveles de compuestos bioactivos (Castorena et al., 2020). Por ello, con el aprovechamiento de las bondades de la cascarilla de cacao en una cerveza artesanal estilo Porter permitirá ofrecer una bebida diferente a la tradicional que logre acaparar las necesidades y exigencias de los consumidores, que cada vez buscan productos saludables, nutritivos y novedosos.

En la elaboración de la cerveza artesanal, las levaduras *safbrew* WB-06 y la *safale* S-04 transforman los ingredientes del mosto en etanol y compuestos aromáticos como alcoholes, ésteres, y compuestos carbonilos (Albarracín, 2020), tales elementos intervienen en el aroma final de la cerveza (Rojo, 2018). Generalmente se emplea las del género *Saccharomyces*, por su producción eficiente de etanol, la ausencia de producción de toxinas (inocuidad) y la capacidad de llevar a cabo la fermentación alcohólica incluso en presencia de oxígeno, también produce compuestos de flavor, que aportan perfiles organolépticos deseables a la cerveza (Burini et al., 2021). Loviso y Libkind (2017) argumentan que, durante la fabricación de la cerveza, las levaduras, producen más de 500 compuestos químicos; estos pueden impactar tanto negativa como positivamente en las características organolépticas de la cerveza.

Por lo antes mencionado la presente investigación ofrecerá un aporte técnico-científico al sector agroindustrial sobre la elaboración de la cerveza artesanal estilo Porter con diferentes porcentajes de cascarilla de cacao y tipos de levaduras, lo que permitirá brindar un novedoso producto regido mediante el cumplimiento de las características fisicoquímicas y microbiológicas establecidas en la normativa INEN 2262 para garantizar la calidad y seguridad a los consumidores.

De igual manera, se pretende dar una alternativa de aprovechamiento a la cascarilla de cacao para mitigar el impacto ambiental con una propuesta innovadora a la industria cervecera, también para disminuir la tasa de desempleo, puesto que resulta un gran reto, debido a que existen pocos experimentos de cerveza con el cacao y/o sus derivados que se desarrollen adecuadamente (Rojas y Uribe, 2021). No obstante, con un idóneo estudio permitirá llevar adelante una idea de negocio con posibilidad de crecimiento productivo y económico (Rodríguez, 2016), mismo que aportará en el desarrollo de la matriz productiva del país.

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de la cascarilla de cacao y cepas de *Saccharomyces spp* en la calidad de una cerveza artesanal estilo Porter.

1.3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la influencia de los porcentajes de cascarilla de cacao y cepas sobre las propiedades fisicoquímicas (pH, acidez, grados de alcohol y densidad) de la cerveza artesanal estilo Porter.
- Analizar la interacción del porcentaje de cascarilla y cepas de *Saccharomyces spp* en las propiedades fisicoquímicas (pH, acidez, grados de alcohol y densidad) y microbiológicas (mohos y levaduras) de la cerveza artesanal estilo Porter.
- Valorar las propiedades sensoriales de la cerveza artesanal mediante catadores no entrenados.

1.4. HIPÓTESIS

Al menos uno de los porcentajes de cascarilla de cacao y cepas de *Saccharomyces spp* tienen efecto fisicoquímico, microbiológico y sensorial en la calidad nutricional de una cerveza artesanal estilo Porter.

CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1. CERVEZA

Es una bebida de mediano grado alcohólico cuya elaboración es a partir de la fermentación del mosto de cebada u otros cereales junto con agua, transformándose en azúcar; sometidos a un proceso de cocción con la adición de levadura y lúpulo que darán el aspecto gaseoso lo cual determinará ciertas propiedades organolépticas correspondiente de la cerveza (INEN, 2013).

Por otro lado, Gómez (2021) manifiesta que la cerveza es una bebida resultante de la fermentación alcohólica, la cual es preparada a base de azúcares obtenidos de cereales y otros granos, especialmente es elaborado a partir de malta y trigo, que a su vez también se le adiciona lúpulo en su preparación para personalizar el sabor y la fermentación es producida por la presencia de levadura del género *Saccharomyces*. Respecto a Mendoza et al. (2022) mencionan que la composición de una cerveza se encuentra entre el 88 y 95% de agua, por lo que atribuye cualidades sensoriales, dado que su dureza y pureza son claves para la calidad final de una cerveza.

2.1.1. ESTILO PORTER

Castellanos y Sossa, (2022) expresaron que los diferentes tipos de cerveza se caracterizan por su color y grado de fermentación al final de su proceso de producción. El estilo Porter llegó con la Revolución Industrial y se desarrolló por primera vez en Londres en 1722. Es una cerveza de alta fermentación, de color oscuro y con un sabor muy intenso, elaborada con malta muy tostada, es seca y tiene una graduación alcohólica entre 4,5% y 5,5%. Este estilo de cerveza en Inglaterra pasó por un período de declive que casi desapareció, pero en los últimos años, ha florecido en países como Estados Unidos, Alemania y Dinamarca.

Respecto al autor antes mencionado, la cerveza de estilo Porter se elaboraba con cierta intensidad en sus características, empezó a conocerse como “stout porter”.

que en inglés significa corpulento o sólido, según se hacían más fuertes se les conocía como Extra stout Porter, Imperial stout o Double stout.

2.2. ADJUNTOS CERVECEROS

Los adjuntos son aquellas materias primas que sustituyen parcialmente a la malta, o al extracto de malta en la elaboración de cerveza. Su empleo no podrá ser en su conjunto superior al 45% en relación al extracto primitivo (Monroy, 2019). La NTE INEN 2262 (2013) establece que los adjuntos cerveceros son ingredientes malteados o no malteados, que aportan extracto al proceso en reemplazo parcial de la malta sin afectar la calidad de la cerveza, estos pueden ser adjuntos crudos y modificados como jarabes (soluciones de azúcares) o azúcares obtenidos industrialmente por procesos enzimáticos a partir de una fuente de almidón

2.3. CASCARILLA DE CACAO

Se obtiene al extraer la almendra, y esta biomasa residual generalmente se vende como abono agrícola. Se compone de una lignina celulósica, especialmente rica en fibra dietética 18 – 60%. La cascarilla de cacao es tradicionalmente utilizada en jardinería como materia prima en mantillo, debido a su larga descomposición actuando como una base de formación de humus (Orozco, 2021).

2.3.1. COMPOSICIÓN DE LA CASCARILLA DE CACAO

En el 2008; la European Food Safety Authority (EFSA) elaboró un resumen de los reportes obtenidos en diferentes estudios sobre la composición química de las materias primas derivadas del fruto del árbol de cacao. En la tabla 2.1 se puede observar la composición aproximada de la cascarilla de grano de cacao en base seca (EFSA, 2008).

Tabla 2. 1. Composición de la cascarilla de cacao

Composición	Valores (%)
Humedad	4.9 - 12.0
Proteína cruda	13.2 - 20.1
Fibra cruda	9.3 - 20.5

Componentes del extracto éter	1.9 - 22.0
Extracto de nitrógeno libre	40.2 - 52.2
Cenizas	6.0 - 10.8

Fuente. Datos tomados de EFSA (2008)

Rey y Cedeño (2022) manifiestan que, la cascarilla de cacao aporta macronutrientes como proteínas, carbohidratos, lípidos y micronutrientes como vitaminas y minerales. Como residuo agroindustrial coexiste como una fuente de energía baja ya que exhibe niveles de energía absorbible mínimas a 2500 Kcal/Kg; resultando la fibra para la alimentación de los animales. La cascarilla de cacao está formada especialmente por proteínas, minerales y carbohidratos complejos dirigidos por fibras en compuestos lignocelulolíticos; estos últimos contienen celulosas, hemicelulosa y lignina polímeros que son difíciles de atacar por acción enzimática.

2.3.2. PROPIEDADES DE LA CASCARILLA DE CACAO

Posee antioxidantes que se encuentran por encima del té verde, su valioso contenido en cromo ayuda a descender de peso, al igual que su proporción de magnesio que se domina anandamida, una sustancia descubierta únicamente en el cacao y en el chocolate, sistematizando la glucosa y el colesterol (Rey & Cedeño, 2022). Por otra parte, Guamán, (2021) expresa que la cascarilla de cacao puede ser usada para la ingesta de animales, fertilización de plantas y como fuente principal de biodigestores, su uso se debe a la composición química de la cascarilla dado que nutricionalmente aporta con macronutrientes (proteínas, carbohidratos y lípidos) y micronutrientes (vitaminas y minerales).

Sin embargo, Carpio et al., (2018) mencionan que, para transformar el cacao, una de las posibles alternativas del uso de estos residuos puede reflejarse en ganancias y de esta manera no solo contribuir a la disminución de contaminación en el medio ambiente o la explotación de recursos sino también a su economía, ampliando y fomentando el uso de compuestos que son poco aprovechados en la actualidad.

2.4. CEPAS DE *Saccharomyces spp*

2.4.1. LEVADURA (*Saccharomyces cerevisiae*)

Siendo un organismo eucariótico, se trata de un hongo microscópico unicelular que transforma los glúcidos y los aminoácidos en alcohol y dióxido de carbono. Hay muchas especies y se las clasifica de acuerdo con las características de su forma celular, de la reproducción, de su fisiología y de su hábitat. Sus hábitats naturales son variados (en simbiosis o como parásitos). La característica interesante, es su habilidad para metabolizar azúcares. Además, contienen diecisiete vitaminas, todas del grupo B, catorce minerales y 46% de proteínas. Su crecimiento es viable a temperaturas entre 0°C y 50°C, pero generalmente ocurre entre 25°C y 30°C ya que este es un rango óptimo para su crecimiento (Herrera, 2019).

Su reproducción es asexual y se lleva a cabo por gemación también conocida como fisión binaria, donde una pequeña célula se desprende de la célula adulta para convertirse en levadura por sí misma o por reproducción sexual a través de la formación de esporas que en su proceso de crecimiento tienden a formar colonias en el medio donde se encuentren y a su vez, tienen la capacidad de desarrollarse y reproducirse en medios ácidos, es por esto que un rango óptimo de pH para las levaduras se encuentra entre 4.5 y 6.5 aproximadamente, pero cabe aclarar que en su mayoría las levaduras resisten un pH entre 3 y 10 (Herrera, 2019).

2.4.2. LEVADURA SAFALE S-04

Cepa Ale Inglesa seleccionada por su rápida capacidad fermentativa y por formar un sedimento compacto al final de la fermentación, ayudando a mejorar la claridad de la cerveza. Recomendada para la producción de un amplio rango de Ale y especialmente adaptadas para acondicionamiento en barriles y fermentación en tanques cilíndrico - cónicos (Fermentis, 2015).

2.4.3. LEVADURA SAFBREW WB-06

Es una *Saccharomyces cerevisiae* variedad diastaticus y se caracteriza particularmente por su alta atenuación. Siendo una levadura de especialidad,

seleccionada para fermentaciones de cervezas de trigo. Produce notas sutiles de ésteres y fenoles (POF +) típicos de las cervezas de trigo. Permite elaborar cervezas con un perfil de alta “drinkability” y presenta una gran capacidad de mantenerse en suspensión durante la fermentación (Distrines, 2022).

2.5. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS DE LA CERVEZA ARTESANAL CON ADICIÓN DE SUBPRODUCTOS DE CACAO

Arias y Quintero (2020) describen a la cerveza como una bebida alcohólica compleja, porque su sabor final depende del impacto que tengan los ingredientes y variables. Diversos trabajos han utilizado los subproductos que se generan del cacao, como Ortega (2022) que aprovechó la cascarilla de cacao para la elaboración de cerveza artesanal y obtuvo valores entre 2.6 a 3.3% de alcohol y pH de 4.15 a 4.22. Mientras que Torres (2021) en su investigación de elaboración de cerveza en base de harina de residuos agroindustriales de cacao obtuvo un valor de grado alcohólico de 3%, pH de 3.62 y acidez de 0.27%. Soria (2017) en su trabajo de diseño de un proceso industrial para la elaboración de cerveza artesanal a base de cebada (*hordeum vulgare*) y cacao de fino aroma (*Theobroma Cacao*) presentaron en densidad de 1.006 g/cm³, contenido alcohólico de 7%, acidez 0.27%, pH 3.7 y contenido de hierro de 0.19 mg/dm³. Peralta (2020) evaluó el efecto sensorial de la aplicación de nibs de cacao y café tostado en la elaboración de cerveza artesanal y presentó en el contenido de alcohol un valor de 4.6%, acidez 0.12% y pH de 4.

2.5.1. PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS

- **pH:** Expresa la concentración de iones de Hidrógeno disueltos en una solución, la cual sirve para la medición del grado de alcalinidad o acidez de esta. El agua afecta principalmente al valor de pH en el proceso productivo de la cerveza, puesto que constituye alrededor del 95% en peso del producto final. Desde que se emplea agua para la maceración, muchas veces se emplean tratamientos para lograr valores específicos de pH, de entre 6.5-7, dado que valores más altos provocaría problemas en la conversión enzimática esperada durante el macerado. Sin importar su estilo los valores

que oscilan en la cerveza final se encuentran entre 4.2 y 4.3 (Galeano y Ramirez, 2022).

- **Acidez:** La acidez en cervezas es la proveniente de la preparación de los mostos de cebada y/u otros cereales y del proceso de fermentación que forma parte del procedimiento de fabricación de esta bebida (ASSAL, 2010).
- **Grados de alcohol:** Es el porcentaje en volumen de alcohol etílico contenido en una bebida alcohólica, referido a 20° C durante su medición (Norma técnica obligatoria nicaragüense de bebidas fermentadas. cervezas, 2006).
- **Densidad:** El rango de densidades finales en cervecería se encuentra entre 0.997 – 1.040 g/ml dependiendo del tipo de material utilizado. Además, la densidad está vinculada con la cantidad de alcohol producida en la cerveza indicando si la fermentación se ha dado de forma satisfactoria (Rodríguez, 2015).

2.5.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

- **Mohos:** Son microorganismos aerobios mesófilos filamentosos que crecen en la superficie del agar micológico, se desarrollan generalmente en forma plana o esponjosa (INEN 1529-10, 2013). Los mohos pueden formar toxinas, llamadas micotoxinas, sobre algunos alimentos provocando alteraciones en el producto, generalmente a los alimentos ácidos (INEN 1529-10,1998).
- **Levaduras:** Son microorganismos aerobios mesófilos que se desarrollan a 25°C usando un medio de agar micológico; desarrolla colonias redondas mate o brillante que crecen en la superficie del medio. Su tamaño supera al de las bacterias; al igual que los mohos, causan alteraciones de los productos alimenticios, especialmente los ácidos y presión osmótica elevada (INEN 1529-10, 2013).
- **Recuento de mohos y levaduras viables:** Es la determinación del número de colonias típicas de levaduras y mohos que se desarrollan a partir de un gramo o centímetro cúbico de muestra, en un medio adecuado e incubado entre 22°C y 25°C (INEN 1529-10, 2013).

2.5.3. EVALUACIÓN SENSORIAL

Las pruebas sensoriales se dividen en test de aceptación o preferencia sobre algún tipo de producto teniendo en cuenta el criterio de los catadores, normalmente los catadores corresponden a calificadores no entrenados donde se toma en cuenta la descripción de preferencia, de modo que se evalúa sobre los gustos (Sánchez y Albarracín, 2010).

El análisis sensorial es la disciplina científica que utiliza el sistema sensorial humano (visión, gusto, olfato y tacto) para evaluar productos de consumo (alimentos, bebidas). Esta disciplina requiere del uso de personas como herramientas de medición que evalúan los productos formando "paneles de evaluadores". Por lo tanto, el desafío del análisis sensorial es convertir las respuestas humanas en datos objetivos que puedan procesarse fácilmente estadísticamente (Carduza et al., 2016).

Por otro lado, el mismo autor menciona que la variabilidad inherente a las respuestas humanas conduce a la necesidad de contar con un equipo de evaluadores en lugar de una sola persona. El análisis sensorial considera tanto la evaluación objetiva como subjetiva de un producto, describe las diferencias en la intensidad de ciertas características de un producto y, a su vez, puede dividirse en pruebas discriminativas y descriptivas.

Olor

Se puede intensificar el aroma de la cerveza gracias al agregado de lúpulo. Existen lúpulos que solo se utilizan para proporcionar un mejor aroma, ya que son muy aromáticos y baja concentración de amargo y sabor (Carvajal & Insuasti, 2010).

Color

Los compuestos responsables del color en las cervezas son: melanoidinas, productos de caramelización y pirólisis, polifenoles oxidados, riboflavina, carotenoides, antocianinas, clorofilas y sus productos de oxidación, así como también catalizadores de la oxidación como son los iones metálicos (Suárez, 2013). Siendo las melanoidinas la fuente primaria de color. Estos compuestos poseen un

espectro de color que va desde el amarillo al ámbar, se generan por reacciones de pardeamiento no enzimático (reacciones de Maillard) durante el tratamiento térmico del malteado, la cocción, etc.

Sabor

El lúpulo también otorga sabor a la cerveza, existen variedades de lúpulo que se utilizan solo para dar sabor, porque son muy pobres en cuanto a poder de amargo y aroma (Carvajal & Insuasti, 2010).

Amargor

La intensidad y la calidad varían mucho según el estilo, en algunos estilos casi no se nota, mientras que en otros la intensidad de amargor es muy alta. La causa de amargor, es resultado de la solución de los iso- α -ácidos de los lúpulos en el mosto durante la cocción. La intensidad y la calidad del amargor se manipulan a través de la elección de la variedad de los lúpulos, el contenido de α -ácidos o a veces la cantidad de β -ácidos oxidados que se cree que dan un tipo de amargor suave, la duración de la cocción de los lúpulos, y el contenido mineral del licor (Suárez, 2013).

CAPÍTULO III. DESARROLLO METODOLÓGICO

3.1. UBICACIÓN

Esta investigación se desarrolló en las instalaciones del taller de frutas y hortalizas, laboratorios de bromatología y microbiología (pruebas fisicoquímicas y microbiológicas) de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López (Figura 3.1.) ubicada en el sitio el Limón en la ciudad de Calceta, cantón Bolívar provincia de Manabí-Ecuador con las siguientes coordenadas: Latitud 0°49'38" sur; longitud 80°11'13" oeste, con una altitud de 22 m.s.n.m. (Google Earth, 2020).

Figura 3. 1. Ubicación del campus politécnico



Fuente. (Google Earth, 2020)

3.2. DURACIÓN

La ejecución del trabajo de investigación curricular tuvo una duración de 24 semanas, la cual inició en el mes de abril del 2023, luego de que la planificación del proyecto fue aprobada.

3.3. MÉTODOS

3.3.1. EXPERIMENTAL

Se realizó una investigación de tipo experimental donde se evaluó la relación de cascarilla de cacao en la elaboración de una cerveza artesanal estilo Porter, teniendo en cuenta las variables dependientes que son las características fisicoquímicas: pH, acidez, grados de alcohol, densidad; características organolépticas, color, olor, sabor, amargor y espuma, y características microbiológicas: mohos y levadura.

3.4. TÉCNICAS

3.4.1. TÉCNICA DE LABORATORIO

Análisis fisicoquímicos: Las técnicas que se desarrollaron son las siguientes:

- **DETERMINACIÓN DEL PH**

Se realizó mediante el método potenciométrico establecido por la NTE INEN 2262 (2013), haciendo uso de un potenciómetro marca Milwaukee.

- **DETERMINACIÓN DE ACIDEZ**

De acuerdo con la norma NTE INEN 2262 (2013) se utilizó la fórmula 1:

$$\% \text{ácido láctico} = \frac{N * V \text{NaOH} * 0,09}{Pm} * 100 \quad [1]$$

Donde:

N = hidróxido de sodio 0,1 N (Normalidad)

V(NaOH) = volumen consumido de hidróxido de sodio a 0,1 N

Pm = peso de muestra

0,09 = Factor predominante en peso equivalente de ácido láctico

- **DETERMINACIÓN DE GRADOS DE ALCOHOL**

Para la determinación de los grados alcohólicos de la cerveza artesanal se utilizó la fórmula descrita por Tucumbí (2022):

$$\% \text{ de alcohol} = \text{gravedad inicial} - \text{gravedad final} * 131.2 \quad [2]$$

Dentro de la metodología para la determinación de los grados de alcohol de la cerveza artesanal, se tomaron los grados °brix inicial y final de la cerveza, luego de eso se transformó los °brix a densidad mediante la aplicación Cerveza artesanal - Calculador (ver anexo 20). Para lograr determinar los grados de alcohol final se aplicó la siguiente fórmula matemática descrita anteriormente.

Estos análisis se los realizaron al producto de mayor aceptación los cuales cumplen con los requisitos establecidos según en la Norma INEN 2262: Bebidas alcohólicas cervezas.

- **DETERMINACIÓN DE DENSIDAD**

Se realizaron según la metodología señalada por la norma NTE INEN 349 (1978), utilizando un picnómetro marca Pyrex.

$$\rho_r = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \quad [3]$$

Donde:

m3 = peso del picnómetro con muestra

m2 = peso del picnómetro con agua destilada

m1 = peso del picnómetro vacío

3.4.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS

Se determinaron según el método de ensayo expuesto por la Norma Técnica Ecuatoriana INEN 2262 (2013), para levaduras y mohos (Ver tabla 3.1).

Tabla 3. 1. Análisis microbiológicos para mohos y levaduras

REQUISITOS	UNIDAD	Cerveza no pasteurizada		MÉTODO DE ENSAYO
		MÍNIMO	MÁXIMO	
Mohos y levaduras	UP/cm ³	-	50	NTE INEN 1529-10

Fuente. Norma INEN 2262

3.4.3. EVALUACIÓN SENSORIAL

Se la efectuó mediante una prueba afectiva a un grupo determinado de catadores no entrenados, evaluando las características de aroma, pureza del sabor, color y calidad del amargor mediante una escala hedónica (Ver tabla 3.2).

Tabla 3. 2. Evaluación sensorial

CATEGORÍA	1 Me gusta mucho	2 Me gusta	3 Ni me gusta ni me disgusta	4 Me desagrada	5 Me desagrada mucho
Aroma					
Sabor					
Color					
Amargor					

Fuente. Los autores

3.5. FACTOR DE ESTUDIO

FACTOR A: los porcentajes de cascarilla de cacao en relación a la malta en la elaboración de la cerveza artesanal.

FACTOR B: tipos de cepas *Saccharomyces spp*

3.5.1. NIVELES

Monroy (2019) argumenta que los adjuntos no deben superar el 45% en relación al extracto primitivo para la elaboración de la cerveza. Por lo tanto, para el factor A, los porcentajes de cascarilla de cacao en relación a la malta se utilizaron los siguientes niveles:

- a_1 : 0.5%
- a_2 : 1.5%
- a_3 : 2.5%

Para el factor B, Cepas *Saccharomyces spp* se emplearon lo siguiente:

- b_1 : Levadura *Safale S-04*
- b_2 : Levadura *Safbrew WB-06*

3.5.2. TRATAMIENTOS

En la tabla 3.3 se evidencia la relación adquirida de los diferentes niveles de cada factor obteniendo un total de seis tratamientos.

Tabla 3. 3. Detalle de los tratamientos

TRATAMIENTOS	DESCRIPCIÓN
T ₁	0,5% de cascarilla de cacao + 95% de malta + levadura <i>Safale S-04</i>
T ₂	1,5% de cascarilla de cacao + 85% de malta + levadura <i>Safale S-04</i>
T ₃	2,5% de cascarilla de cacao + 75% de malta + levadura <i>Safale S-04</i>
T ₄	2,5% de cascarilla de cacao + 75% de malta + levadura <i>Safbrew S-06</i>
T ₅	1,5% de cascarilla de cacao + 85% de malta + levadura <i>Safbrew S-06</i>
T ₆	0,5% de cascarilla de cacao + 95% de malta + levadura <i>Safbrew S-06</i>

Levadura Safale S-04	0,19	0,95	0,19	0,95	0,19	0,95	-	-	-	-	-	-
Levadura Safbrew WB-06	-	-	-	-	-	-	0,19	0,95	0,19	0,95	0,19	0,95
Carragenina	0,03	0,15	0,03	0,15	0,03	0,15	0,03	0,15	0,03	0,15	0,03	0,15
Total	100	500	100	500	100	500	100	500	100	500	100	500

Fuente. Los autores.

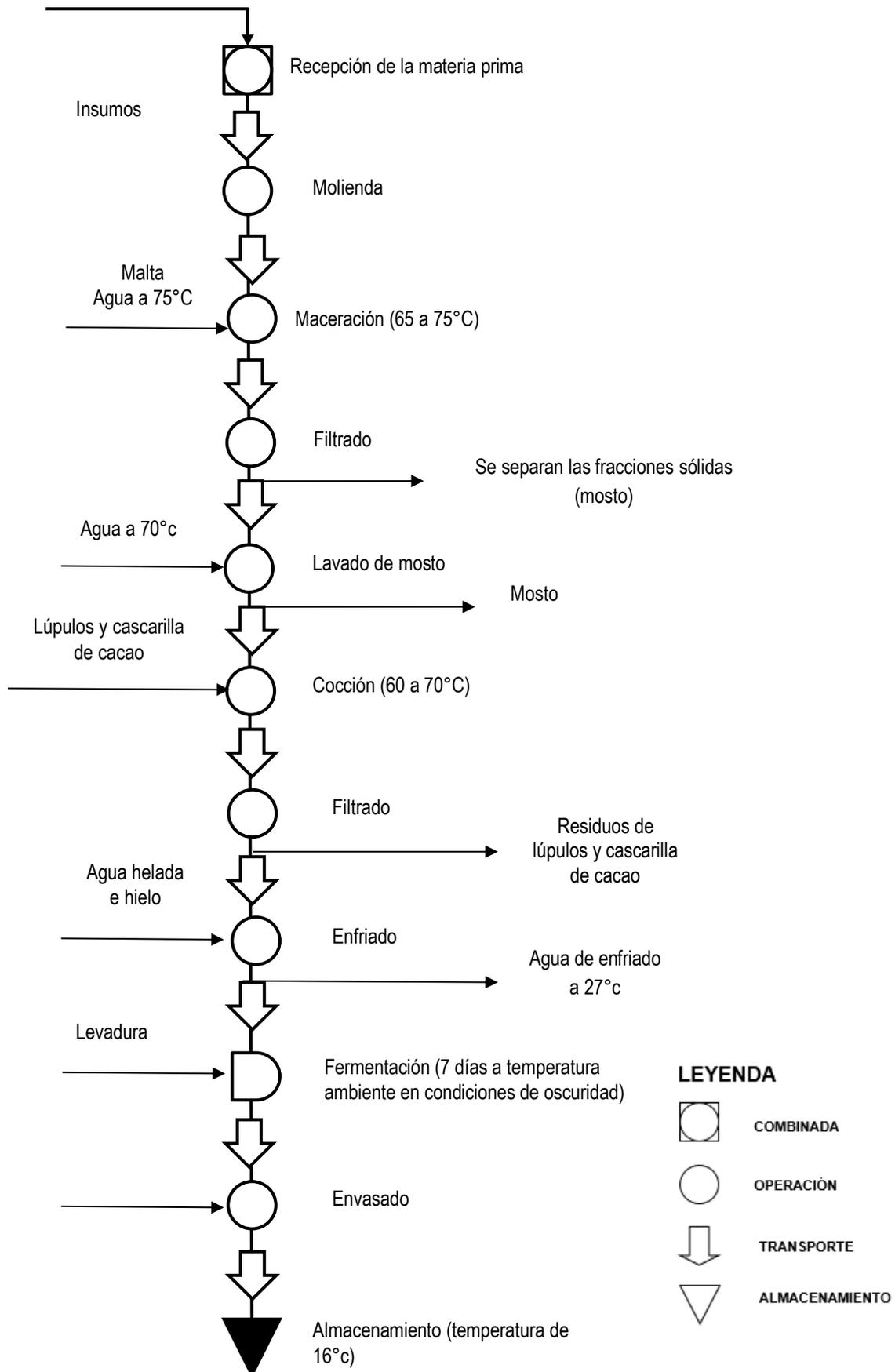
3.8. VARIABLES A MEDIR

- Propiedades fisicoquímicas (pH, acidez, grados de alcohol y densidad)
- Análisis microbiológicos (mohos y levaduras)
- Análisis sensoriales mediante catadores no entrenados (color, aroma, pureza del sabor y calidad del amargor).

3.9. MANEJO DEL EXPERIMENTO

Para el cumplimiento de los objetivos planteados, iniciando con la fabricación de la cerveza artesanal con cascarilla de cacao, se elaboró un diagrama de proceso (Figura 3.2).

Figura 3. 2. Diagrama de proceso para la elaboración de la cerveza artesanal.



3.9.1. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA LA ELABORACIÓN DE LA CERVEZA ARTESANAL

Recepción: Como materia prima se utilizaron los siguientes insumos: kit de cerveza, cascarilla de cacao y agua potable (marca All Natural) dentro del área de trabajo, de acuerdo a lo establecido en el real decreto 678:2016 (Boletín Oficial del Estado [BOE], 2016), para posteriormente realizar las siguientes operaciones:

Molienda: se procedió a moler el grano malteado con ayuda de un molino manual tradicional (marca Corona), en esta operación se prioriza romper el cereal para facilitar la hidratación, no puede ser excesiva ni tampoco que haya granos enteros, debido a que cualquier fase puede complicar la elaboración del producto.

Maceración: En esta etapa la malta molida se puso en contacto con el agua, para que las enzimas degraden los azúcares y proteínas de la malta en forma solubles, originando el líquido que se va a fermentar, denominado mosto. Para ello, se calentó el agua en una olla de acero inoxidable hasta alcanzar una temperatura de 75 °C, posteriormente se le añadió la malta triturada (kit Porter de la empresa BEERLAND) la cual fue embolsada en tela de lienzo para evitar la separación de partículas o sólidos que luego puedan sedimentarse y se agitó constantemente con una cuchara durante una hora hasta reducir la temperatura a 65 °C para así obtener los azúcares fermentables. Al pasar la hora se incrementó la temperatura a 75 °C con el fin de culminar la actividad enzimática.

Filtrado: Las fracciones sólidas fueron separadas de la cebada por medio de un colador y tela de lienzo, luego de realizar la maceración y haber embolsado la cebada se retiró el mosto al igual del filtrado para separar partículas sólidas que puedan provocar una sedimentación.

Lavado de mosto: Luego del filtrado se realizó un lavado del mosto con agua potable (marca All Natural) a una temperatura de 72 a 75 °C, el cual se removió por 5 minutos, filtrando y uniendo el extracto resultante.

Cocción: Los tratamientos fueron calentados hasta llegar a los 85°C y se le agregó el lúpulo y la cascarilla en proporciones según lo detallado en la tabla 3.4, luego se calentó durante una hora y cinco minutos.

Filtrado: Los residuos de lúpulos y cascarilla de cacao son separadas con colador y tela de lienzo para después efectuar la etapa del enfriado.

Enfriado: Cada recipiente se lo sometió a un choque térmico en un recipiente con agua fría y hielo hasta llegar a una temperatura de 20 °C.

Fermentación: Para activar la levadura se añadió 1,8 gramos en 24 ml de agua para cada tratamiento y se removió por 1 minuto para obtener una solución uniforme, el mosto también fue removido antes de la adición de la levadura para su oxigenación. Después de agregar la levadura, se dejó la cerveza durante 14 - 15 días a temperatura ambiente (aprox. 24°C) y en condiciones de oscuridad en envases de plástico de cuatro litros (Ver anexo 6).

Carbonatación y envasado: Se agregó ocho gramos de azúcar por litro, luego se envasó en botellas ámbar esterilizadas de 250 a 300 ml, después se procedió a efectuar el sellado a los envases con tapas tipo corona (Ver anexo 7). Posteriormente, los envases se mantienen a una temperatura de 16-21°C (deben definir porque no se puede oscilar) para reactivar la levadura y de esta manera producir CO₂, por lo que ocurre una segunda fermentación.

Almacenamiento: Se almacenaron las cervezas en el cuarto frío ubicado en el taller agroindustrial de frutas y vegetales de la ESPAM MFL a $4 \pm 2^\circ\text{C}$.

3.10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de esta investigación se analizaron en los programas estadísticos SPSS 21 e InfoStat/libre versión 2020. En el programa SPSS se verificó la distribución de los datos sobre la variable respuesta a través de los supuestos de ANOVA (Shapiro-Wilk, Test de Levene). Se encontró en Shapiro-Wilk que las variables de pH, acidez y densidad no cumplieron los supuestos ($p \leq 0.05$) por lo tanto, los resultados fueron evaluados mediante la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. Mientras que el parámetro grados de alcohol en el Test de Levene se cumplieron los supuestos ($p \geq 0.05$), por lo que se sometieron los datos en la prueba de Tukey (Ver anexo 13). Con el programa InfoStat se analizaron cada factor de estudio (porcentaje de cascarilla de cacao y cepas *Saccharomyces spp*)

frente a las variables dependientes (pH, acidez, densidad y grados de alcohol) para detectar los niveles y tratamientos que difieren entre sí.

CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. INFLUENCIA DE LOS FACTORES DE ESTUDIO SOBRE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA CERVEZA ARTESANAL

En la tabla 4.1 se representa los resultados de las medias en relación a los porcentajes de cascarilla sobre los parámetros pH, acidez, densidad y grados de alcohol.

Tabla 4. 1. Análisis de las características fisicoquímicas de la cerveza artesanal en función del porcentaje de cascarilla de cacao (factor A).

Porcentaje de Cascarilla de cacao (%)	pH	Acidez (%)	Densidad (g/ml)	Grados de alcohol (%)
2.5	5.38±0.20	0.23±0.03	1.00±0.0023	3.48±0.06 ^c
1.5	5.29±0.18	0.30±0.08	1.00±0.0040	4.00±0.06 ^b
0.5	5.29±0.27	0.25±0.03	1.00±0.01	4.50±0.06 ^a
P_valor	0.260	0.76	0.998	0.00

Medias con letras distintas presentan diferencias estadísticas

El análisis grados de alcohol presentó diferencias estadísticamente significativas (p-valor < 0.05) en comparación con las variables pH, acidez y densidad quienes no evidenciaron diferencias entre sí (p-valor > 0.05) (Ver anexo 14), por lo tanto, la adición de la cascarilla representa variabilidad en los grados de alcohol, encontrándose en el rango de valores aceptados por la norma NTE INEN 2262.

Con la adición de 1.5% y 0.5% de cascarilla de cacao se obtuvieron valores de 4% y 4.50% de alcohol, los cuales son los más idóneos en esta investigación, debido a que en cervezas de estilo Porter establece un rango entre 4 a 9.5% (Programa de Certificación de Juez de Cerveza [BJCP], 2015 citado por Pérez, 2019), siendo mejor la adición de 0.5% de cascarilla de cacao debido a que representa el menor porcentaje de adición y se encuentra dentro del rango establecido por el BJCP. Ortega (2022) obtuvo porcentajes de alcohol entre 2.6 a 3.3% con el uso parcial de la cascarilla de cacao (0, 25, 50, 75 y 100%), cuya adición no evidenció una diferencia significativa en la cerveza.

Torres (2021) en su investigación de elaboración de cerveza a base de harina de residuos agroindustriales de cacao obtuvo 3% de alcohol, cuyo contenido no es muy alto en relación a lo obtenido en esta investigación (3.48, 4 y 4.5%).

La tabla 4.2 muestra las diferencias estadísticas (p -valor < 0.05) entre el pH y la densidad al agregar las cepas *Safale_S04* y *Safbrew_S06* sobre la cerveza artesanal estilo Porter; los grados de alcohol y acidez no muestran variabilidad con respecto a la adición de las cepas (Ver anexo 15).

Tabla 4. 2. Análisis de las características fisicoquímicas de la cerveza artesanal en función de las cepas *Saccharomyces* spp (factor B)

Cepas	pH	Acidez (%)	Densidad g/ml)	Grados de alcohol (%)
Safale_S04	5.52±0.06 ^b	0.26±0.08	1.01±0.0039 ^a	3.98±0.16
Safbrew_S06	5.12±0.07 ^a	0.25±0.03	1.00±0.00093 ^b	4.00±0.16
P_valor	0.00	0.648	0.00	0.719

Medias con letras distintas presentan diferencias estadísticas

En el presente estudio, al incorporar levadura *Safale S-04* se obtuvo un alto valor de pH con 5.52 a comparación de la levadura *Safbrew WB-06* que presentó un valor de 5.12, siendo ambos superiores a lo establecido en la NTE INEN 2262 (2013) cuyo pH en las cervezas debe oscilar entre 3.5 (mín) y 4.8 (máx.). No obstante, los valores de esta investigación están acorde a lo reglamentado en el Boletín Oficial del Estado [Real Decreto] 678 (2016) que establece un valor de pH para cervezas inferior o igual a 5.5.

Albarracín (2020) argumenta que valores de pH mayor a 5 indican que las levaduras se encuentran en fase de crecimiento celular y no en fermentación alcohólica, este último permite generar metabolitos como CO₂ que pueden disminuir el pH del medio a valores menores de 4. Es de vital importancia que la levadura mantenga un pH intracelular constante durante el crecimiento para que las enzimas de las células funcionen, cuando el pH extracelular se desvía demasiado del rango óptimo (5.0 a 5.5), se desactivan las enzimas y la célula de levadura no podrá crecer ni producir etanol de manera eficiente (Narendranath et al., 2005).

Con respecto al parámetro densidad, en la tabla 4.2, se presentaron diferencias estadísticas significativas, la cepa S_04 obtuvo una densidad de 1.01 g/ml mientras que la cepa WB_06 un valor de 1.00 g/ml. Las cepas de Safale_S04 y Safbrew_S06 no difieren en la acidez y los grados de alcohol, pero sí varían en el pH y en la densidad por lo que se considera a la Safbrew_S06 como la mejor, debido a que la diferencia entre los resultados de las densidades fue igual a 0.01.

Vanegas y Vera (2019) que al incorporar cebada obtuvieron valores de 1.031 g/ml y al adicionar quinua obtuvo 1.037 g/ml. La densidad final consistente de la cerveza debe estar aproximadamente entre 1.006 y 1.030 g/mL (Gigliarelli 2016 citado por Tirado y Zalazar, 2018). Torres y Bohòrquez (2017) citado por Monroy (2019) argumentan que la densidad está relacionada con la cantidad de alcohol producido en la cerveza e indica si la fermentación ha tenido lugar en forma satisfactoria, por lo tanto, la densidad es el primer parámetro a considerar al hacer una cerveza.

4.2. CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LA CERVEZA ARTESANAL ESTILO PORTER

En la tabla 4.3 se presentan los resultados de las propiedades fisicoquímicas (pH, acidez, grados de alcohol y densidad) evaluados a la cerveza artesanal estilo Porter, cuya interacción A*B presentan diferencias estadísticas significativas (Ver anexo 16).

Tabla 4. 3. Análisis de las características fisicoquímicas de la cerveza artesanal a través de la interacción de A y B

Tratamientos	Parámetros fisicoquímicos			
	pH	Acidez (%)	Densidad (g/ml)	Grados de alcohol (%)
T1	5.54±0.01 ^{cd}	0.28±0.03 ^b	1.01±0.01 ^a	4.46±0.09 ^{ab}
T2	5.45±0.03 ^{bcd}	0.31±0.12 ^b	1.01±0.0015 ^a	4.06±0.09 ^{bc}
T3	5.57±0.02 ^d	0.20±0.02 ^a	1.00±0.0017 ^{ab}	3.50±0.09 ^{de}
T4	5.20±0.04 ^{abc}	0.25±0.0 ^{ab}	1.00±0.00058 ^{ab}	3.45±0.09 ^e
T5	5.13±0.02 ^{ab}	0.28±0.02 ^b	1.00±0.0012 ^b	3.93±0.09 ^{cd}
T6	5.04±0.02 ^a	0.23±0.02 ^{ab}	1.00±0.0012 ^b	4.55±0.09 ^a
p-valor	0.006	0.046	0.025	0.0001

Medias con letras iguales corresponde a tratamientos estadísticamente similares.

Medias con letras distintas son tratamientos que presentan diferencias estadísticas.

En la variable pH se presentaron diferencias significativas ($p_{\text{valor}} < 0.05$) en los tratamientos cuya estimación de pH fluctúan entre 5.04 a 5.57. Los valores de esta investigación son superiores a los reportado por Segobia (2022) que obtuvo en pH de 4.27 a 4.61. Suarez et al. (2016) y Albán et al. (2019) mencionan que para el crecimiento de la *Saccharomyces cerevisiae* el pH más favorable se encuentra entre 4.4 - 5.0, siendo el pH 4.5 el adecuado para su crecimiento óptimo. Por otro lado, Silva et al. (2022) reportó valores de pH entre 4.27 a 4.92. En el presente estudio, el tratamiento T6 (0.5% de cascarilla de cacao + 95% de malta + levadura *Safbrew S-06*) presenta un valor ligeramente moderado al evidenciar pH de 5.04.

El aumento del pH en la cerveza puede causar problemas en reacciones como la sacarificación, debido a que provoca deficiencia en la actividad enzimática, lo que limita la disponibilidad de azúcares e intensifica el amargor (Guzmán et al. 2019), mientras que valores bajos de pH exhibe un efecto sinérgico con las propiedades antimicrobianas aportadas por los compuestos del lúpulo, por lo que a menor pH se incrementa la actividad antimicrobiana (Lataza et al., 2020).

Con respecto al parámetro acidez, la interacción A*B presentaron diferencias estadísticas significativas ($P_{\text{valor}} < 0.05$). En esta investigación, todos los tratamientos cumplen con la NTE INEN 2262 que establece un valor máximo 0.3%. Panda et al. (2015) mencionan que el incremento de la acidez en la cerveza se debe a una serie de conversiones que ocurren en el medio, las levaduras responsables del proceso fermentativo tienen la función de excretar nucleótidos, ácidos orgánicos y dióxido de carbono, lo cual aumenta la acidez de la cerveza.

Castañeda et al. (2018) en su estudio de 4 formulaciones de cerveza con adición de quinua presentaron valores entre 0.15-0.16% de acidez. De acuerdo con Galarza (2018) evidenció 0.37% de acidez en la cerveza. Mientras que Pilligua et al. (2021) en la evaluación de la utilización de mucílago de cacao para la elaboración de cerveza artesanal obtuvo un valor de 0.26%. Segobia (2022) evaluó la adición de centeno en la formulación de cerveza artesanal Belgian Pale Ale tuvo resultados de acidez entre 0.27-0.36%, sin embargo, rangos mínimamente superiores no implican un riesgo en la salud de los consumidores, pero en exceso afecta la calidad de la cerveza.

De acuerdo al análisis de densidad, se mostró diferencia estadística significativa al emplear diversos porcentajes de cascarilla de cacao en correlación con los tipos de cepas *Saccharomyces spp* adquiriendo valores entre 1.000-1.01g/mL, evidenciando que los tratamientos T1 y T2 cumplen con lo establecido en la norma oficial Mexicana NOM-199-SCFI (2017) en la cual menciona que la densidad se debe encontrar en un rango de 1.01 g/cm³ a 1.045 g/cm³. Mientras que, Soria (2017) en su trabajo de diseño de un proceso industrial para la elaboración de cerveza artesanal a base de cebada (*hordeum vulgare*) y cacao de fino aroma (*Theobroma Cacao*) donde la densidad es de 1.006 g/cm³ siendo similar a los resultados de esta investigación.

La variable grados de alcohol evidenció diferencias significativas (p-valor<0.05) entre los tratamientos, sin embargo, todos se mantuvieron dentro del rango establecido en la NTE INEN 2262 que sugiere un mínimo de 1% y un máximo de 10% de contenido alcohólico. Sin embargo, son ligeramente inferiores a lo obtenido por Pilligua et al. (2021) que reportó 5.3% de contenido alcohólico en una cerveza artesanal con adición de mucílago de cacao. Wilson (2019) señala que el contenido alcohólico de las cervezas estilo Porter varía, pero no supera el 6% por volumen. Pilla y Vinci (2012) argumentan que las cervezas estilo Porter reportan pocas cantidades de alcohol, debido a que se obtienen con maltas torrefactas (tostadas) y por tanto con poca capacidad de fermentación es imposible transformar una parte importante de azúcares en alcohol.

En el presente trabajo de investigación, se establece que todos los tratamientos cumplen con la NTE INEN 2262 en las propiedades de acidez y grados de alcohol, a excepción de pH que supera el límite permitido, mientras que, en el parámetro de densidad, los tratamientos T1 y T2 están acorde a la norma oficial mexicana NOM-199-SCFI.

De acuerdo con los parámetros fisicoquímicos evaluados a la cerveza artesanal se evidenció que el tratamiento T6 (0.5% de cascarilla de cacao + 95% de malta + levadura *Safbrew S-06*) fue el mejor debido a que presentó menor pH (5.04±0.02) y mayor porcentaje de alcohol (4.55±0.09).

4.3. EVALUACIÓN DE LAS PROPIEDADES SENSORIALES DE LA CERVEZA ARTESANAL

En la tabla 4.4 se evidencian los datos analizados para las propiedades organolépticas (aroma, sabor, color, y amargor) a través de la prueba no paramétrica Kruskal Wallis de muestras independientes, la cual muestra que existe diferencia estadística significativa con respecto a las cuatro categorías sensoriales ($\text{Sig} < 0.05$). La calidad de la cerveza hace referencia al cumplimiento y la consistencia de las especificaciones o propiedades sensoriales que definen un concreto estilo, sumado a la ausencia de sabores indeseables. Además, el consumidor experto y devoto de la cerveza artesanal busca que sea auténtica, bien hecha, singular, atractiva y confiable (Guerberoff et al., 2020).

Tabla 4. 4. Resumen de prueba de hipótesis

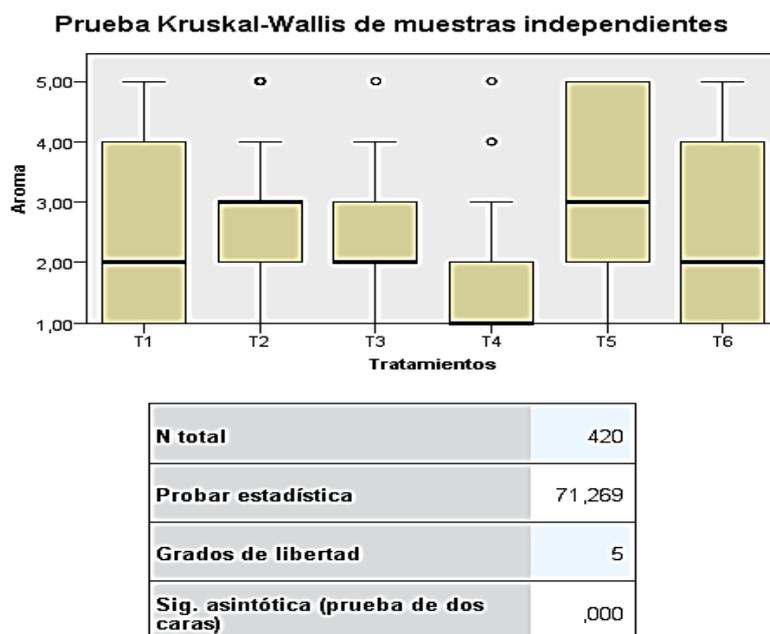
Resumen de prueba de hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de Aroma es la misma entre las categorías de Tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0.000	Rechazar la hipótesis nula.
2	La distribución de Sabor es la misma entre las categorías de Tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0.000	Rechazar la hipótesis nula.
3	La distribución de Color es la misma entre las categorías de Tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0.000	Rechazar la hipótesis nula.
4	La distribución de Amargor es la misma entre las categorías de Tratamientos.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	0.000	Rechazar la hipótesis nula.

Se muestran las significancias asintóticas. El nivel de significancia es 0.05.

4.3.1. AROMA

En la figura 4.3 se observa que el tratamiento con mayor aceptación fue T4 (2.5% de cascarilla de cacao + 75% de malta + levadura *Safbrew S-06*), con una categorización de 1 que es equivalente a “me gusta mucho”, mientras que T5 (1.5% de cascarilla de cacao + 85% de malta + levadura *Safbrew S-06*) tuvo menor calificación de parte de los catadores no entrenados.

Figura 4. 1. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes en la variable Aroma.



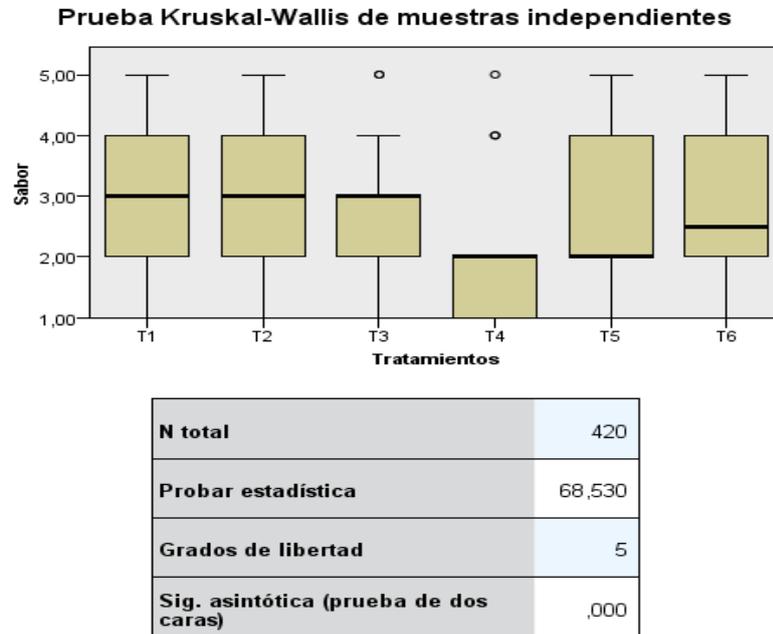
1. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

En el estudio de Peralta (2020) la evaluación sensorial del aroma de cerveza artesanal con café tostado y nibs de cacao dio como resultado que el tratamiento T1 registró el aroma con la mayor preferencia sensorial con una media estadística de 3.23. El aroma es una de las características con mayor relevancia, resultante de cualquier proceso de fermentación. Las materias primas y las especies de levaduras que se utilizan definen en gran parte el aroma final (Muñoz y Aria, 2020).

4.3.2. SABOR

En la figura 4.2 se evidencia los resultados de la prueba de Kruskal Wallis, siendo el tratamiento T4 el de mejor ponderación en la categoría sabor que es equivalente a “me gusta” en comparación de los tratamientos T1 y T2 que obtuvieron menor aceptación. En la investigación de Galarza (2018) el parámetro sabor, cambió de acuerdo al tipo de cepa empleada, adquiriendo ponderaciones entre el 2.9 y el 3.7, debido a que las levaduras tienen incidencia en el sabor y el aroma porque promueven la formación de ésteres y fenoles, también absorben ciertas cantidades de ácidos iso-alfa, responsables del amargor de la cerveza (Albert, 2013 citado por Galarza, 2018).

Figura 4. 2. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes en la variable sabor



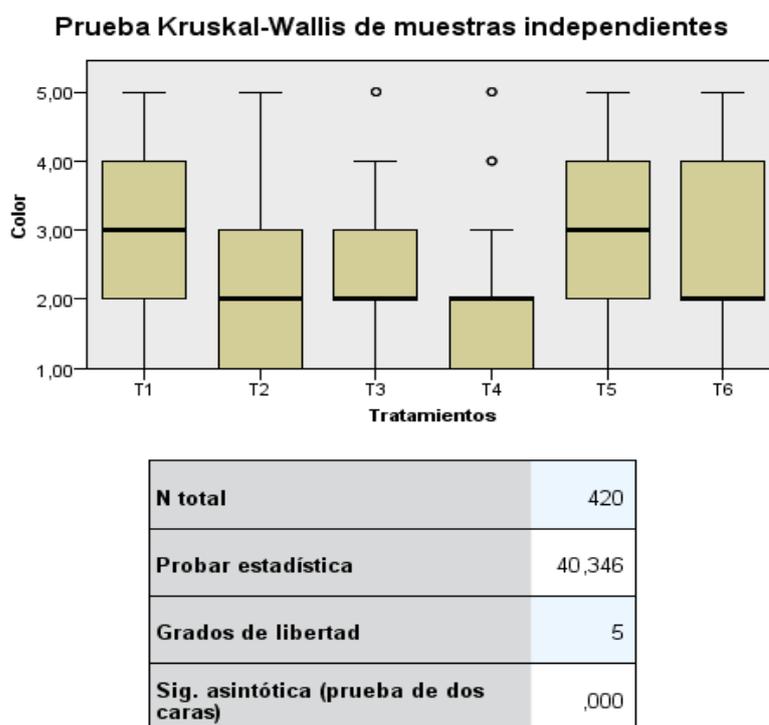
1. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

Los resultados del atributo sabor en el estudio realizado por Pilligua et al. (2021) demuestran que el mejor tratamiento fue el T1 (1% mucílago de cacao-99% mosto), mientras que los de baja aceptación fueron el testigo (100% mosto) y el tratamiento T3 (7% mucílago de cacao-93% mosto). Las levaduras, durante el proceso de elaboración de cerveza, producen más de 500 compuestos químicos; estos pueden impactar tanto negativa como positivamente en las características organolépticas de la cerveza. Durante la producción de cerveza, junto con la formación de dióxido de carbono y etanol, se origina una amplia variedad de compuestos de vital importancia conocido como flavor (sabor y aroma) de la cerveza (Loviso y Libkind, 2017).

4.3.3. COLOR

En la figura 4.3 se observa que en la variable color, el tratamiento T4 (2.5% de cascarilla de cacao + 75% de malta + levadura *Safbrew S-06*) obtuvo una ponderación de 2 (me gusta) y presentó medias diferentes al resto de los tratamientos.

Figura 4. 3. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes en la variable color



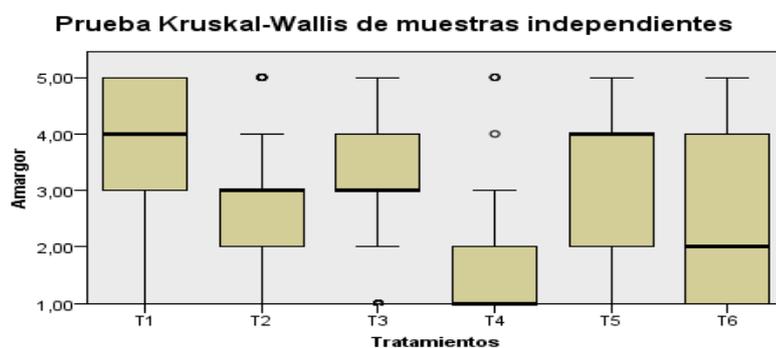
Koren et al. (2020) mencionan que el color del producto final es debido principalmente por los granos ya sean horneados o tostados, mientras que el segundo aspecto contribuyente es la oxidación de polifenoles procedentes de la malta y el lúpulo durante el almacenamiento y envejecimiento. A su vez Castro et al. (2021) menciona que las maltas tostadas exhiben sabores y colores que solo pueden desarrollarse a altas temperaturas, como el chocolate o el café, pero el proceso también puede modificarse para desarrollar color con un sabor mínimo.

4.3.4. AMARGOR

En la figura 4.4 se observa que, en el parámetro de amargor, T4 (2.5% de cascarilla de cacao + 75% de malta + levadura *Safbrew S-06*) obtuvo mayor aceptación por parte de los catadores no entrenados al evidenciar una calificación de 1 que es equivalente a “me gusta mucho”. De acuerdo a Goncalves et al. (2023) el elemento principal que hace que la cerveza sea amarga es el lúpulo, ya sea en la diversidad y cantidad de sus compuestos, que a su vez dependen del tiempo de adición del lúpulo y condiciones de preparación, este posee metabolitos secundarios que se

transforman en componentes aromatizantes (α -humulona y β -cariofileno) y amargos (α -ácidos, β -ácidos y xantohumol). Otros factores que pueden afectar el amargor en el proceso de la elaboración de la cerveza, es el comportamiento de la levadura, el pH del mosto y la temperatura de fermentación (Liguori et al., 2021).

Figura 4. 4. Prueba de Kruskal-Wallis para muestras independientes en la variable amargor



N total	420
Probar estadística	106,835
Grados de libertad	5
Sig. asintótica (prueba de dos caras)	,000

1. Las estadísticas de prueba se ajustan para empates.

De acuerdo a los resultados del análisis sensorial de los parámetros de aroma, sabor, color, amargor de la cerveza artesanal de estilo Porter se considera como el mejor tratamiento el T4 (2.5% de cascarilla de cacao + 75% de malta + levadura *Safbrew S-06*) al presentar la mayor aceptación organoléptica por parte de los catadores no entrenados.

4.4. RECUENTO TOTAL DE MOHOS Y LEVADURAS

En la tabla 4.5 se muestran los resultados del recuento de microorganismos de mohos y levaduras de la cerveza artesanal estilo Porter, cuyos valores superan el límite permisible establecido en la NTE INEN 2262 que recomienda como máximo 50 UP/mL para cerveza no pasteurizada. El recuento de mohos y levaduras de cada corrida experimental fueron variados debido a que no se sometieron a un proceso de pasteurización. Milani y Silva (2022) mencionan que las cervezas artesanales no se pasteurizan para que las propiedades originales de la cerveza producida se conserven hasta el consumo y necesitan almacenarse en frío y distribuirse.

Tabla 4. 5. Recuento microbiano

Tratamientos	Unidad	Recuento total de Mohos y levaduras
T1R1		4.2×10^3
T1R2		1.0×10^3
T2R1		3.2×10^5
T3R1		1.7×10^4
T3R3	UP/mL	2.2×10^4
T4R1		1.4×10^5
T5R1		9.2×10^5
T6R1		1.0×10^6
T6R3		1.2×10^6

El tratamiento T1 presenta valores similares al trabajo de Barreto (2021) que evidenció en recuento de mohos y levaduras de 1.4×10^3 a 6.0×10^3 UP/mL en una cerveza artesanal tipo IPA. Latorre et al. (2023) mencionan que ocho de cada diez fábricas de cerveza artesanal de la Patagonia Andina Argentina presentaron problemas de contaminación, lo que sugiere que la presencia de bacterias y levaduras es un problema común en estas micro cervecerías.

Los contaminantes microbiológicos que pueden deteriorar la cerveza, proveniente de fuentes primarias que se derivan de las materias primas y el equipo de elaboración, mientras que los contaminantes secundarios se introducen en el producto final durante el embotellado, enlatado o embarrilado, causando alteraciones como mal sabor y turbidez en la bebida artesanal (Ciont, et al., 2022). En el presente trabajo de investigación la alteración visual de turbidez no se observó en el producto final.

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Los porcentajes de cascarilla de cacao no influyeron en el pH, densidad y acidez, mientras que para los grados de alcohol la dosis de 0.5% representó el mejor porcentaje de adición. Las cepas *Safale_S04* y *Safbrew_S06* mostraron diferencias significativas en el pH y la densidad, siendo la cepa *Safbrew_S06* la mejor para la elaboración de cerveza artesanal estilo Porter.
- Todos los tratamientos cumplen con la NTE INEN 2262 en las propiedades de acidez y grados de alcohol, a excepción de pH que supera el límite permitido, mientras que, en el parámetro de densidad, los tratamientos T1 y T2 están acorde a la norma oficial mexicana NOM-199-SCFI, por lo tanto, se establece que T6 (0.5% de cascarilla de cacao + 95% de malta + levadura *Safbrew S-06*) es el mejor tratamiento para este tipo de cerveza artesanal. En el recuento total de mohos y levaduras de la cerveza artesanal estilo Porter supera el límite permisible establecido en la NTE INEN 2262.
- El tratamiento T4 (2.5% de cascarilla de cacao + 75% de malta + levadura *Safbrew S-06*) obtuvo mayor aceptación en los atributos aroma, sabor, color y amargor por parte de los catadores no entrenados.

5.2. RECOMENDACIONES

- Estudiar diferentes porcentajes de cascarilla de cacao y tipos de cepas *Saccharomyces spp.* para evaluar el comportamiento que presenta la cerveza artesanal en otros estilos.
- Estimar el costo de producción y el porcentaje de rentabilidad del tratamiento T4 y T6 para evaluar la factibilidad de la cerveza artesanal estilo Porter.
- Evaluar otros requisitos fisicoquímicos como carbonatación, contenido de zinc, hierro, cobre, plomo y arsénico, así como el número de microorganismos aerobios mesófilos (R.E.P).

BIBLIOGRAFÍA

- Albán, A. Carrasco, R. Castillo, C. Mena, C. Tafur, A. (2019). *Diseño del proceso productivo de cerveza artesanal de miel para la empresa D' Calidad. Trabajo de investigación*.
https://pirhua.udep.edu.pe/bitstream/handle/11042/4283/PYT_Informe_Final_Proyecto_Cerveza_miel.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Albarracín, K. (2020). *Estudio de parámetros para la propagación de las cepas de levadura cervecera Saccharomyces cerevisiae y Saccharomyces carlsbergensis para la fabricación de cerveza artesanal*. [Tesis de maestría. Univ. Politécnica de madrid].
https://oa.upm.es/63464/1/TFM_KATY_ALBARRACIN_TORRES.pdf
- Álvarez, K., & Quilumba, F. (2018). *Universidad De Guayaquil Facultad de Ingeniería Química Carrera Licenciatura en Gastronomía TEMA: Aprovechamiento de la cascarilla de cacao (Theobroma cacao L.)*.
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/35658/1/TESIS%20Gs.%20262%20-%20Aprovechamiento%20cascarilla%20de%20cacao.pdf>
- Arias, S., & Quintero, D. (2020). *Evaluación de condiciones de fabricación y calidad sensorial de cerveza artesanal tipo lager*. Obtenido de https://jci.uniautonoma.edu.co/2020/2020_1.pdf
- ASSAL. (2010). *Acidez Total En Cerveza*. Retrieved December 6, 2022, <https://www.assal.gov.ar/assa/documentacion/236cervezas-acidez-total.pdf>
- Barreto, J. (2021). *Efectos fisicoquímicos y sensoriales del arroz malteado y pulpa de maracuyá como sustitutos parciales de cebada en cerveza artesanal tipo IPA*. [Tesis de grado. ESPAM MFL. Calceta-Manabi].
<https://repositorio.espam.edu.ec/xmlui/bitstream/handle/42000/1564/TTAI31D.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Boletín Oficial del Estado Real Decreto 678 (2016). *Norma de calidad de la cerveza y de las bebidas de malta*.
<https://laadministraciondiala.inap.es/noticia.asp?id=1160630>
- Burini, J. Eizaguirre, J. Loviso, C. y Libkind, D. (2021). Levaduras no convencionales como herramientas de innovación y diferenciación en la producción de cerveza. *Revista Argentina de Microbiología*, 53(4), 359-377. DOI: 10.1016/j.ram.2021.01.003
- Carduza, F., Champredonde, M., & Casablanca, F. (2016). Paneles de evaluación sensorial en la identificación y caracterización de alimentos típicos. Aprendizajes a partir de la construcción de la IG del Salame de Colonia Caroya, Argentina. *Revista Iberoamericana de Viticultura, Agroindustria y Ruralidad*. <https://www.redalyc.org/pdf/4695/469546449003.pdf>
- Carpio, E., Campo, M., & Matute, L. (2018). *Caracterización físico-química de la cascarilla de Theobroma cacao L, variedades Nacional y CCN-51*.
<https://investigacion.utmachala.edu.ec/proceedings/index.php/utmach/articloe/view/309/253>

- Carvajal, L & Insuasti, M. (2010). *Elaboración de cerveza artesanal utilizando cebada (Hordeum Vulgare) y yuca (Manihot Esculenta Crantz)*. <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/642/1/03%20AGI%20256%20TESIS.pdf>
- Castañeda, R. Andrade, M. Arguello, y Vernaza, M. (2018). Efecto de la adición de quinua (*Chenopodium quinoa wild*) malteada y sin maltear en la elaboración de cerveza tipo Ale a base de cebada (*Hordeum vulgare*) malteada. *Enfoque UTE*, 9 (2), 15-26. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.v9n2.302>
- Castellanos, J., & Sossa, C. (2022). *Industria cervecera colombiana: un análisis desde su comercio internacional*. <https://revistas.uniagustiniana.edu.co/index.php/expresiones/article/view/200/211>
- Castorena, J. Juárez, V. Cano, M. Santiago, V. López, O. (2020). Caracterización Físico-química de Cerveza Artesanal con Adjunto de Maíz Azul y Derivados de Caña de Azúcar. *Conciencia Tecnológica*, 60. <https://www.redalyc.org/journal/944/94465715001/94465715001.pdf>
- Castro, L. Affonso, A. y Lehman, R. (2021). Impacto de las maltas especiales en las características del mosto y la cerveza. *Fermentación*, 7 (3), 137. MDPI AG. Obtenido de <http://dx.doi.org/10.3390/fermentation7030137>
- Cedeño, G y Mendoza, J. (2016). *Evaluación fisicoquímica y sensorial de cerveza artesanal tipo ale con almidón de papa como adjunto y especias* [Ingeniero agroindustrial. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López]. <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/552/1/TAI109.pdf>
- Ciont, C. Epuran, A. Kerezsi, A. Coldea, T. Mudura, E. Pasqualone, A. Zhao, H. Suharoschi, R. Vriesekoop, F. Pop, O. (2022). Beer Safety: New Challenges and Future Trends within Craft and Large-Scale Production. *Foods*. 11(17). 10.3390/foods11172693
- Coronel, Z. (2021). *Universidad Técnica Estatal De Quevedo Facultad Ciencias Pecuarias*. Repositorio UTEQ. <https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/6137/1/T-UTEQ-113.pdf>
- Cunha, A. Lopes, N. Barcia, M. Sautter, C. Ballús, C. Producción y caracterización de cervezas artesanales con diferentes adiciones de frutos nativos y residuos agroindustriales: *una revisión*. *Ciência Rural, Santa Maria*. 53(9). <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20220194>
- Distrines. (2022). *SafAle WB-06*. Insumos de Cerveza. Retrieved December 6, 2022, from <https://distrines.com/levaduras/39/safale-wb-06>
- EFSA. (2008). *La teobromina como indeseable sustancias en la alimentación animal 1 Opinión científica del Panel sobre Contaminantes en la cadena alimenticia*. <https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.2903/j.efsa.2008.725>
- Fermentis. (2015). *SafAle S-04 - Insumos de Cerveza*. [distrines.com. https://distrines.com/levaduras/37/safale-s-04](https://distrines.com/levaduras/37/safale-s-04)

- Galarza, A. (2018). *Elaboración de cerveza amber ale de alta fermentación saborizada y aromatizada con frutas y plantas aromáticas ecuatorianas*. [Ingeniería Química, Universidad Central de Ecuador]. <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15790/1/T-UCE-0008-CQU-015.pdf>
- Gómez, N. (2021). *Universidad Técnica Del Norte*. Universidad Técnica Del Norte. <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/10955/2/03%20EIA%20514%20TRABAJO%20GRADO.pdf>
- Gonçalves, L. Jesus, M. Brandão, E. Magalhães, P. Mateus, N. Freitas, V. Soares, S. (2023). Interactions between Beer Compounds and Human Salivary Proteins: Insights toward Astringency and Bitterness Perception. *Molecules*. 28(6). 10.3390/molecules28062522.
- Google Earth. (2020). *Ubicación geográfica de la Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López*. Retrieved 12, 2, 2022, from <https://www.google.com/>
- Guamán, C. (2021). *La harina de cascarilla de cacao en la alimentación de cuyes*. Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/16268/1/17T01683.pdf>
- Guerberoff, G. Marchesino, M. López, P. y Olmedo, R. (2020). El perfil sensorial de la cerveza como criterio de calidad y aceptación. *Nexo Agropecuario*, 8(1), 52-59.
- Guzmán, F. Soto, A. López, P. y Román, A. (2019). Valuation and use of a new variety of barley for brewing craft beer. *Ingeniería Agrícola y Biosistema*, 1(1), 81–95. 10.5154/r.inagbi.2018.01.001
- Herrera, J. (2019). *Evaluación De Perfiles Fermentativos Para La Elaboración De Cerveza Artesanal Por Levaduras Nativas Nichole Andrea Amaya Jimenez*. <https://repositorio.uamerica.edu.co/bitstream/20.500.11839/7724/1/6132157-2019-2-IQ.pdf>
- INEN. (1978). *Norma Técnica Ecuatoriana Bebidas Alcohólicas Determinación De La Densidad Relativa INEN 349 1978-03*. Servicio Ecuatoriano de Normalización [INEN.https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/NTE_INEN_349.pdf](https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/NTE_INEN_349.pdf)
- INEN. (2013). *NTE INEN 2262*. Servicio Ecuatoriano de Normalización INEN. https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_2262-1.pdf
- INEN 2262. (2013). *Control microbiológico de los alimentos. mohos y levaduras viables. Recuentos en placa por siembra en profundidad*. <https://es.scribd.com/document/488093112/1529-10-1R-MOHOS-Y-LEVADURAS-VIABLES-pdf>
- INEN 1529-10. (1998). *Control microbiológico de los alimentos. mohos y levaduras viables. Recuentos en placa por siembra en profundidad*. <https://ia801900.us.archive.org/5/items/ec.nte.1529.10.1998/ec.nte.1529.10.1998.pdf>
- Jara, E., Álvarez, A., Lefranc, R., & Navarro, A. (2007). *Cerveza Artesanal “Rein Bier”*.

https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/52967801/CERVEZA_ARTESANAL_REIN_BIER-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1668909234&Signature=aSRkHxequhTd2ePO4fGIPhD~IV2W7hP2dSYdBKCGEAhQJfabHsHVibybyYoSeiWbSxAZfAyLR05xOyCkYSYAG9ixok4QvCXnGE6mTxSoA4OKkP2nYRkb3BXq-Ws~mkC4h

- Koren, D. Hegyesné, B. Kun-Farkas, G. (2020). ¿Cómo determinar objetivamente el color de la cerveza?. *J Food Sci Technol.* 57, 1183–1189. <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04237-4>
- Lataza, M. Sosa, G. Y Benítez, E. (2020). *Evaluación de la Calidad Fisicoquímica y Microbiológica de Cervezas Artesanales en la Provincia del Chaco.* <https://n9.cl/0q1my>
- Latorre, M. Bruzone, C. Garcia, V. Libkind, D. (2023). Contaminantes microbianos en cervezas artesanales embotelladas de la Patagonia Andina Argentina, *Revista Argentina de Microbiología*, 55 (1). 88-99. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2022.05.006>.
- Liguori, L. De Francesco, G. Orilio, P. Perretti, G. Albanese, D. (2021). Influence of malt composition on the quality of a top fermented beer. *J Food Sci Technol.* 58(6), 2295-2303. 10.1007/s13197-020-04740-8.
- Loviso, C. y Libkind, D. (2017). Síntesis y regulación de compuestos del aroma y el sabor derivados de la levadura en la cerveza: ésteres. *Revista Argentina de microbiología.* <https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.11.006>
- Loza, R., & Inga, E. (2018). Elaboración de una bebida funcional a partir de la cascarrilla de cacao (theobroma cacao L.). Repositorio Institucional UNDAC. Retrieved December 8, 2022, from http://repositorio.undac.edu.pe/bitstream/undac/593/1/T026_46895047_T.pdf
- Mendoza, J., Pihuave, L., & Velásquez, M. (2022). *Análisis comparativo del valor nutricional de la cerveza artesanal y cerveza industrial.* Obtenido de file:///C:/Users/USER-CUBICULO/Downloads/Dialnet-AnalisisComparativoDelValorNutricionalDeLaCervezaA-8374921.pdf
- Milani, E. y Silva, F. (2022). Pasteurización de cerveza por tecnologías no térmicas. *Front. Food. Sci. Technol.* 1. <https://doi.org/10.3389/frfst.2021.798676>
- Molla, E. (2022). Papel de la respuesta retrógrada de levadura en la regulación del metabolismo durante fermentaciones de alimentos. <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/188359/Molla%20-%20Papel%20de%20la%20respuesta%20retrograda%20de%20levadura%20en%20la%20regulacion%20del%20metabolismo%20durante%20fer....pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Monroy, M. (2019). "Evaluación de parámetros fisicoquímicos en una cerveza utilizando triticale como adjunto (X. *Triticosecale Wittmack*)" [Ingeniero Agrónomo Industrial, Universidad Autónoma Del Estado De México]. <https://n9.cl/7knte>

- Muñoz, D. y Arias, S. (2020). Evaluación de condiciones de fabricación y calidad sensorial de cerveza artesanal tipo lager. *Journal de Ciencia e Ingeniería*, 12, 1-12. DOI:10.46571/JCI.2020.1.1
- Narendranath NV, Power R. Relationship between pH and medium dissolved solids in terms of growth and metabolism of lactobacilli and *Saccharomyces cerevisiae* during ethanol production. *Appl Environ Microbiol.* 71(5):2239-43. 10.1128/AEM.71.5.2239-2243.2005
- NORMA Oficial Mexicana NOM-199-SCFI (2017). *Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba.* https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5502882&fecha=30/10/2017#gsc.tab=0
- Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense De Bebidas Fermentadas. Cervezas. (2006). *Norma Técnica Obligatoria Nicaragüense De Bebidas Fermentadas. Cervezas. Especificaciones.* Asamblea Nacional de Nicaragua. <http://legislacion.asamblea.gob.ni/Normaweb.nsf/0/28CDFCF6A1727DFE062575E7005A515D?OpenDocument>
- Nunes, R. Galvan, D. Effting, L. Moreira, M. Yamashita, F. Toledo, M. Spinosa, W. (2021). Effects of adding spices with antioxidants compounds in red ale style craft beer: A simplex-centroid mixture design approach. *Food Chemistry.* 365. 130478. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130478>
- Orozco, J. (2021). *Aprovechamiento y transformación de la cáscara de cacao.* <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/40165/jnorozcoc.pdf?sequence=3&isAllowed=y>
- Ortega, D. (2022). *Aprovechamiento de la cascarilla de cacao (Theobroma Cacao L.) para la elaboración de cerveza artesanal* [Ingeniero Agroindustrial, Universidad De San Buenaventura Cali]. <https://bibliotecadigital.usb.edu.co/server/api/core/bitstreams/dea6d99e-372b-47cb-aabd-db66d07f8f16/content>
- Panda, Sandeep K.; Panda, Smita H.; Swain, Manas R.; Ray, Ramesh C.; Kayitesi, Eugenie (2015). Anthocyanin-Rich Sweet Potato (*Solanum tuberosum* L.) Beer: Technology, Biochemical and Sensory Evaluation. *Journal of Food Processing and Preservation*, 39(6), 3040–3049. doi:10.1111/jfpp.12569
- Párraga, J y Zapata, C. (2022). *Evaluación de cerveza artesanal tipo ale con dos tipos de lúpulo y uso de mucílago de cacao (Theobroma cacao L.) como sustituto parcial de la levadura* [Tesis Ingeniero Agroindustrial, Unidad Técnica Estatal De Quevedo]. <https://repositorio.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/e09d0eb5-4052-450a-8e14-7b7d0482e285/content>
- Paszkot, J. Gasiński, A. Kawa-Rygielska, J. (2023). Evaluation of volatile compound profiles and sensory properties of dark and pale beers fermented by different strains of brewing yeast. *Sci Rep.* 10.1038/s41598-023-33246-4.
- Peralta, L. (2020). *Efecto sensorial de la aplicación de nibs de cacao y café tostado en la elaboración de cerveza artesanal* [Ingeniera Agrícola mención

Agroindustrial, Universidad Agraria del Ecuador]. <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/PERALTA%20BUSTAMANTE%20LINDA%20ISABEL.pd>

- Pérez, K. (2019). *Desarrollo de una herramienta para la calificación de la susceptibilidad a la contaminación microbiana en cervezas artesanales*. [Tesis de maestría. Univ. Autónoma de Madrid. España]. <https://libros.uam.es/tfm/catalog/download/1024/1858/1952?inline=1>
- Pilla, S. y Vinci, G. (2012). *Cervezas de todo el mundo*. Vecchi Ediciones S.A. Barcelona. https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=yM2D5x8crlsC&oi=fnd&pg=PT481&dq=contenido+alcoholico+de+la+cerveza+estilo+porter.&ots=w8tdKJzZZ2&sig=pvvUzErU7jv7S9695x9uc_jj7s0#v=onepage&q=contenido%20alcoholico%20de%20la%20cerveza%20estilo%20porter.&f=false
- Pilligua, R. Barre, R. Mendoza, A. Lavayen, E. y Mero Robert. (2021). Influencia del mucílago de cacao (*Theobroma cacao*) en las características fisicoquímicas de la cerveza artesanal. *Revista ESPAM CIENCIA*, 12(1), 25-32. https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v12i1.234
- Rey, G & Cedeño, H. (2022). *Influencia de la cascarilla de cacao y edulcorante natural en el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de una infusión*. <https://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/42000/1690/1/TTAI34D.pdf>
- Rodríguez, A. M. (2016). *La importancia del emprendimiento en la educación media en Colombia*. Bogotá: Universidad Militar Nueva Granada, Facultad de ciencias económicas.
- Rojas, E. y Uribe, J. (2021). *Estudio de prefactibilidad para la fabricación y comercialización de cerveza artesanal a base de la cascarilla del cacao* [Universidad Antonio Nariño]. <https://n9.cl/g7rfa>
- Rojo, L. (2018). *Elaboración De Cerveza Artesanal A Partir De Subproductos De Cereal*. <https://uvadoc.uva.es/bitstream/handle/10324/37444/TFM-L470.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Salazar, D. Chumpitaz, G. Alvarez, E. y Huayta, F. (2021). Efecto de la utilización de cascarilla de cacao en el perfil sensorial de una cerveza artesanal tipo Ale estilo Stout. *LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education, and Technology*, 2-7. https://www.laccei.org/LACCEI2021-VirtualEdition/full_papers/FP400.pdf
- Sánchez, I., & Albarracín, W. (2010). *View of Análisis sensorial en carne*. Revistas UdeA. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/rccp/article/view/324566/20781789>
- Segobia, S. (2022). Evaluación de la adición de centeno (*Secale cereale*) en la formulación de cerveza artesanal Belgian Pale Ale. *Enfoque UTE*.13(3). 14-28. <https://doi.org/10.29019/enfoqueute.830>
- Silva S, Oliveira, C. Oliveira, R. Almeida, R. Pinho C. (2022). Propiedades fisicoquímicas y actividad antioxidante de cervezas artesanales portuguesas

- y materias primas. *Moléculas*. 27(22).
<https://doi.org/10.3390/molecules27228007>
- Torres, F. (2021). *Elaboración de cerveza en base de harina de residuos agroindustriales de cacao* [Tesis Ingeniero Bioquímico, Universidad Técnica de Ambato].
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/32128/1/BQ%20261.pdf>
- Soares, F. Rocha, S. Lamounier, M. Reis, R. Avelar, L. Santos, P. Souza, J. Carvalho, I. Oliveira, C. (2022). Impact of using cocoa bean shell powder as a substitute for wheat flour on some of chocolate cake properties. *Food Chemistry*. 381. 132215. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.132215>
- Soria, J. (2017). *Diseño de un proceso industrial para la elaboración de cerveza artesanal a base de cebada (hordeum vulgare) y cacao de fino aroma (theobroma cacao)*. [Ingeniero químico. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo].
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/6593/1/96T00387.PDF>
- Suárez, C. Garrido, N. y Guevara, C. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, 50(1), 20-28.
<https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420004.pdf>
- Suárez, M. (2013). "Cerveza: Componentes Y Propiedades".
https://digibuo.uniovi.es/dspace/bitstream/handle/10651/19093/TFM_?sequence=8
- Teneda, W., Guamán, M., & Oyaque, S. (2019). Exploración de la intención de consumo de la Cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) como infusión: caso Tungurahua-Ecuador*. *Revista Javeriana*. <https://n9.cl/j936g>
- Tirado, J. y Zalazar, G. (2018). *Banano (Cavendish gigante) De rechazo como sustitución parcial de cebada en la calidad fisicoquímica y sensorial de la cerveza artesanal* [Ingeniero Agroindustrial, Escuela Superior Politécnica Agropecuaria De Manabí Manuel Félix López].
<https://repositorio.esPAM.edu.ec/bitstream/42000/892/1/TTA111.pdf>
- Tucumbi, C. (2022). *Diseño de un proceso de elaboración de cerveza artesanal tipo Lambic sabor a capulí (Prunus serotina var. capuli (Cav.) McVaugh)* [e Ingeniero en Alimentos, Universidad Técnica De Ambato].
<https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/35867/1/AL%20846.pdf>
- Vanegas, G. y Vera, Y. (2019). "Efecto de la utilización de dos cereales *hordeum vulgare* (cebada), *chenopodium quinoa* (quinua) y tres fuentes de almidón *manihot esculenta* (yuca), *colocasia esculenta* (malanga) e *ipomoea batatas* (camote), en la elaboración de cerveza artesanal. [Ingeniera agroindustrial. Universidad Técnica Estatal de Quevedo].
<https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/3694/3/T-UTEQ-0078.pdf>
- Wilson, M. (2019). Leñador o Ruinas Continentales. *Fiordo editorial*. Argentina.
<https://www.google.com.ec/books/edition/Le%C3%B1ador/zYLhDwAAQBAJ?hl=es&gbpv=1>

ANEXOS

ANEXO 1. Kit de elaboración de la cerveza**ANEXO 2. Cascarilla de cacao**

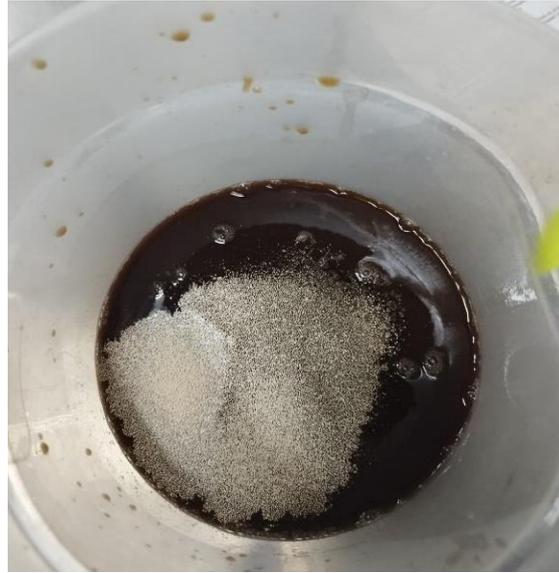
ANEXO 3. Proceso de elaboración





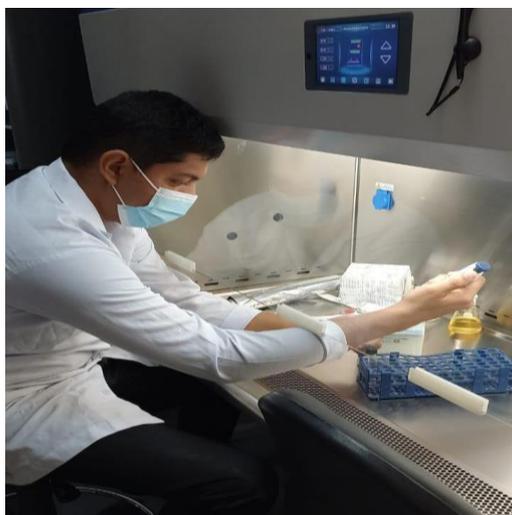
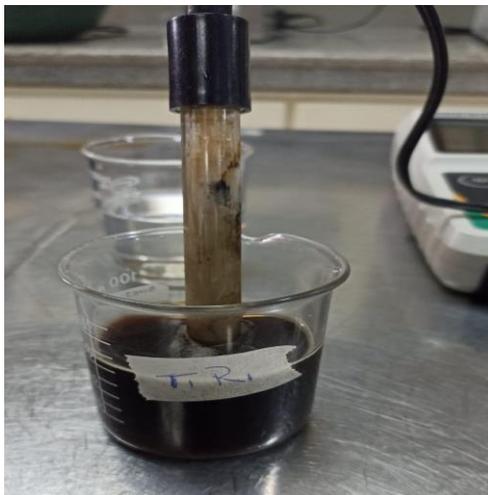
ANEXO 4. Medición de densidad inicial

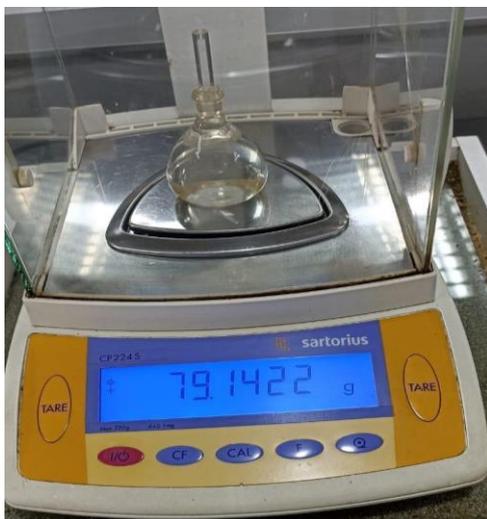


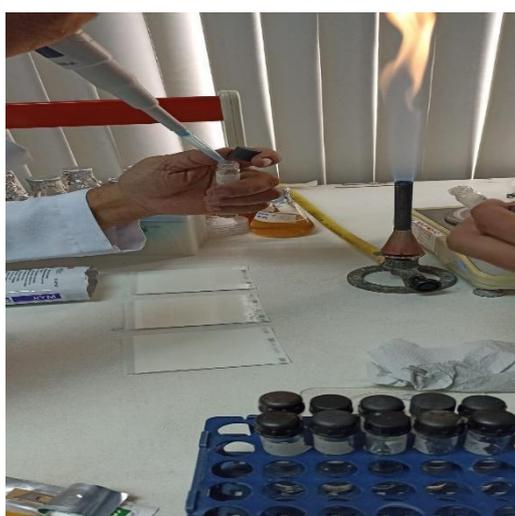
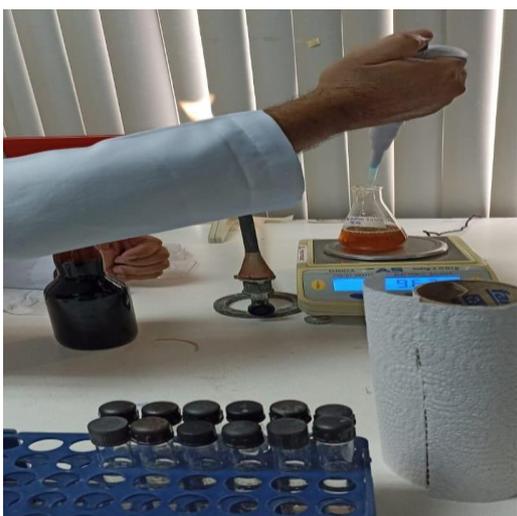
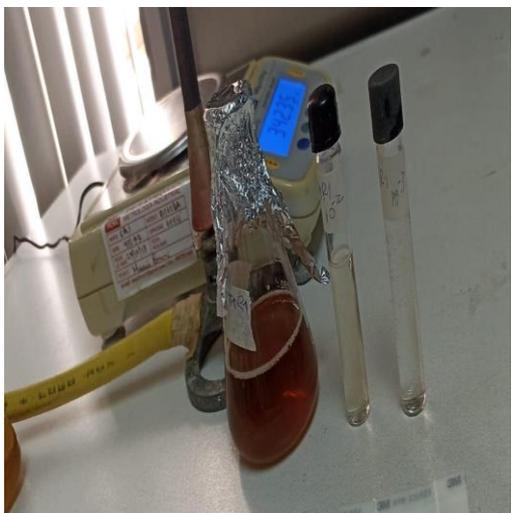
ANEXO 5. Activación de la levadura**ANEXO 6. Fermentación**

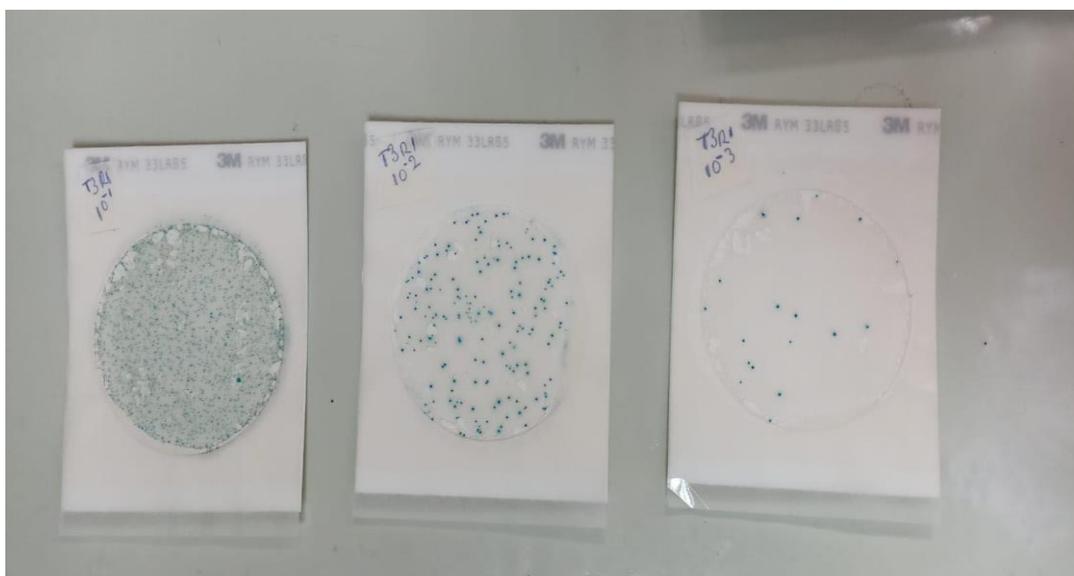
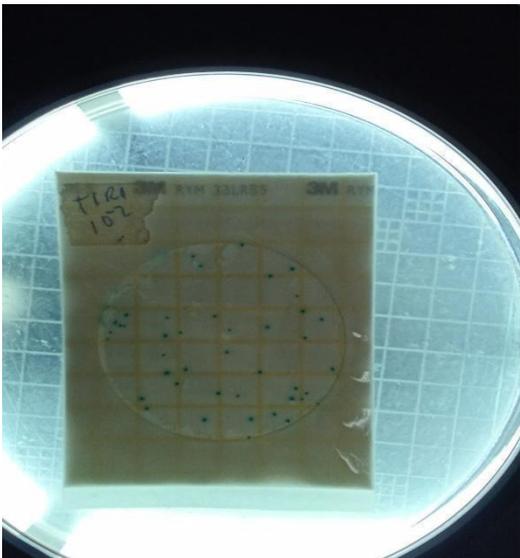
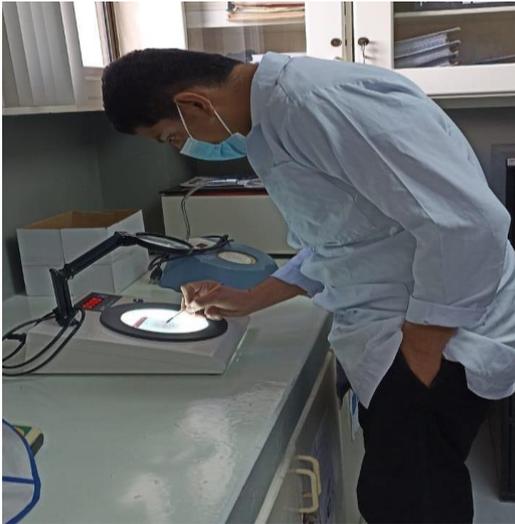
ANEXO 7. Proceso de envasado y sellado

ANEXO 8. Análisis fisicoquímicos (pH, acidez, densidad)





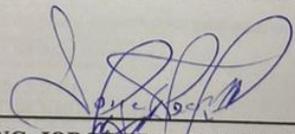
ANEXO 9. Análisis microbiológicos



ANEXO 10. Resultados de análisis fisicoquímicos

	
ESCAMMFL ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABI MANUEL FÉLIX LÓPEZ	
ESCUOLA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE MANABI "MANUEL FÉLIX LÓPEZ" LABORATORIOS DE BROMATOLOGÍA ÁREA AGROINDUSTRIAL	
ESTUDIANTES:	BERMEO MENDOZA JOSE DAVID MERA MECIAS ORLEY NEPTALY
DIRECCIÓN:	CALCETA
FECHA DE REALIZACIÓN DE LOS ANALISIS:	15 DE MAYO DEL 2023
FECHA DE ENTREGA DE LOS RESULTADOS:	15 DE MAYO DEL 2023
MUESTRAS ENVIADAS	18

TRATAMIENTOS	EFECTO DE LA CASCARILLA DE CACAO Y CEPAS DE <i>Saccharomyces spp</i> EN LA CALIDAD DE UNA CERVEZA ARTESANAL ESTILO PORTER				
	RÉPLICAS	pH	% ACIDEZ	DENSIDAD (g/ml)	% GRADOS DE ALCOHOL
T1	R1	5,55	0,24	1,012	4,32
	R2	5,54	0,29	1,012	4,46
	R3	5,53	0,30	1,001	4,59
T2	R1	5,48	0,45	1,005	4,19
	R2	5,44	0,24	1,008	4,19
	R3	5,43	0,24	1,007	3,80
T3	R1	5,58	0,21	1,005	3,54
	R2	5,57	0,21	1,002	3,67
	R3	5,55	0,18	1,005	3,28
T4	R1	5,24	0,27	1,000	3,54
	R2	5,16	0,24	1,000	3,41
	R3	5,19	0,24	1,001	3,41
T5	R1	5,14	0,27	0,999	3,93
	R2	5,11	0,30	0,999	3,80
	R3	5,14	0,27	1,001	4,06
T6	R1	5,04	0,21	0,999	4,46
	R2	5,03	0,24	1,001	4,46
	R3	5,06	0,24	0,999	4,72


 ING. JORGE YECA DELGADO

TÉCNICO DEL LABORATORIO DE BROMATOLOGÍA



ANEXO 11. Resultados de análisis microbiológicos

República del Ecuador



**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE
MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ**



Página 1 de 2

REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS		PÁGINA 1 DE 2	
CLIENTE:	Bermeo Mendoza José David Mera Mecías Orley Neptaly	Nº DE ANÁLISIS:	9
DIRECCIÓN:	Campus Politécnico el Limón	Fecha de recibido:	15/05/2023
TELEFONO:	0967890989	Fecha de análisis:	15/05/2023
NOMBRE DE LA MUESTRA:	"Cerveza Artesanal"	Fecha de reporte:	17/05/2023
CANTIDAD RECIBIDA:	9	Fecha de muestreo:	15/05/2023
TIPO DE ENVASE:	Botella de vidrio de 330 mL de capacidad	Método de muestreo:	N/A
OBSERVACIONES:	El laboratorio no se responsabiliza por la recolección y el traslado de las muestras.	Responsables del muestreo:	N/A
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad		

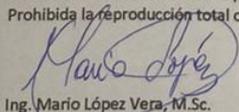
Tabla 1. Valores recomendados para determinar la aceptabilidad de parámetro microbiológico utilizado como índice de calidad y seguridad para la cerveza no pasteurizada, según las directrices proporcionadas por las Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2262: 2003-03.

Parámetro	Valores de guía recomendados (UPC / mL)			Potencialmente nocivo
	Satisfactorio	Aceptable	Insatisfactorio	
Recuento total de hongos y levaduras	<50	50	≥50	-

Tabla 2. Resultados de parámetro microbiológico de cerveza artesanal.

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	PRUEBAS SOLICITADAS	UNIDAD	RESULTADOS	MÉTODO DE ENSAYO
T1R1	Recuento total de hongos y levaduras	UPC/mL	4.2x10 ³	AOAC 997.02
T2R1	Recuento total de hongos y levaduras	UPC/mL	3.2x10 ⁵	
T3R1	Recuento total de hongos y levaduras	UPC/mL	1.7x10 ⁴	
T4R1	Recuento total de hongos y levaduras	UPC/mL	1.4x10 ⁵	
T5R1	Recuento total de hongos y levaduras	UPC/mL	9.2x10 ⁵	

Nota:
Resultados validos únicamente para las muestras analizadas y no para otros productos de la misma procedencia.
Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.



Ing. Mario López Vera, M.Sc.
TÉCNICO-LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL ÁREA AGROINDUSTRIAL



**Cátedra de
AGROINDUSTRIA**
LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA
ÁREA AGROINDUSTRIAL

Oficinas Centrales
Calle 10 de agosto y Granda Centeno
Telfs.: (05) 2685 134/156
rectorado@espam.edu.ec

Campus Politécnico
Sitio el Limón, Calcuta
Telfs.: (05) 3028904/3028838
www.espam.edu.ec

República del Ecuador


**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA AGROPECUARIA DE
MANABÍ MANUEL FÉLIX LÓPEZ**

REPORTE DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE ALIMENTOS

Página 2 de 2

CLIENTE:	Bermeo Mendoza José David Mera Mecías Orley Neptaly	Nº DE ANÁLISIS:	9
DIRECCIÓN:	Campus Politécnico el Limón	Fecha de recibido:	15/05/2023
TELEFONO:	0967890989	Fecha de análisis:	15/05/2023
NOMBRE DE LA MUESTRA:	"Cerveza Artesanal"	Fecha de reporte:	17/05/2023
CANTIDAD RECIBIDA:	9	Fecha de muestreo:	15/05/2023
TIPO DE ENVASE:	Botella de vidrio de 330 mL de capacidad	Método de muestreo:	N/A
OBSERVACIONES:	El laboratorio no se responsabiliza por la recolección y el traslado de las muestras.	Responsables del muestreo:	N/A
OBJETIVO DEL MUESTREO:	Control de calidad		

Tabla 1. Valores recomendados para determinar la aceptabilidad de parámetro microbiológico utilizado como índice de calidad y seguridad para la cerveza no pasteurizada, según las directrices proporcionadas por las Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 2262: 2003-03.

Parámetro	Valores de guía recomendados (UPC /mL)			
	Satisfactorio	Aceptable	Insatisfactorio	Potencialmente nocivo
Recuento total de hongos y levaduras	<50	50	≥50	-

Tabla 2. Resultados de parámetro microbiológico de cerveza artesanal.

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	PRUEBAS SOLICITADAS	UNIDAD	RESULTADOS	MÉTODO DE ENSAYO
T6R1	Recuento total de hongos y levaduras	UPC/mL	1.0x10 ⁶	AOAC 997.02
T1R2	Recuento total de hongos y levaduras	UPC/mL	1.0x10 ³	
T3R3	Recuento total de hongos y levaduras	UPC/mL	2.2x10 ⁴	
T6R3	Recuento total de hongos y levaduras	UPC/mL	1.2x10 ⁶	

Nota:

Resultados validos únicamente para las muestras analizadas y no para otros productos de la misma procedencia. Prohibida la reproducción total o parcial de este informe.

Ing. Mario López Vera, M.Sc.

TÉCNICO LAB. DE MICROBIOLOGÍA AMBIENTAL ÁREA AGROINDUSTRIAL

Oficinas Centrales
Calle 10 de agosto y Granda Centeno
Telfs.: (05) 2685 134/156
rectorado@espm.edu.ec

Campus Politécnico
Sitio el Limón, Calceta
Telfs.: (05) 3028904/3028838
www.espm.edu.ec

ANEXO 12. Tabla hedónica pruebas sensoriales

CATEGORÍA	PUNTUACIÓN				
	1	2	3	4	5
	Me gusta mucho	Me gusta	Ni me gusta ni me disgusta	Me desagrada	Me desagrada mucho
Aroma					
Pureza del sabor					
Color					
Calidad del amargor					

Anexo 13. Prueba de los supuestos de ANOVA

	Shapiro-Wilk			Levene
	Estadístico	gl	Sig.	Sig.
pH	,849	18	,008	-
Acidez	,781	18	,001	-
Densidad	,844	18	,007	-
Grados_de_alcohol	,944	18	,334	,399

Anexo 14. Medias del factor A

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	%Cascarilla de cacao	N	Medias	D.E.	C	H	p
Acidez	0.5	6	0.25	0.03	0.93	4.82	0.0757
Acidez	1.5	6	0.30	0.08			
Acidez	2.5	6	0.23	0.03			

Variable	%Cascarilla de cacao	N	Medias	D.E.	C	H	p
pH	0.5	6	5.29	0.27	1.00	2.69	0.2602
pH	1.5	6	5.29	0.18			
pH	2.5	6	5.38	0.20			

Variable	%Cascarilla de cacao	N	Medias	D.E.	C	H	p
Densidad	0.5	6	1.00	0.01	0.97	2.9E-03	0.9985
Densidad	1.5	6	1.00	4.0E-03			
Densidad	2.5	6	1.00	2.3E-03			

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Grados de alcohol	18	0.90	0.89	3.81

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3.16	2	1.58	68.31	<0.0001
%Cascarilla de cacao	3.16	2	1.58	68.31	<0.0001
Error	0.35	15	0.02		
Total	3.51	17			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.22815

Error: 0.0231 gl: 15

%Cascarilla de cacao	Medias	n	E.E.
2.5	3.48	6	0.06 A
1.5	4.00	6	0.06 B
0.5	4.50	6	0.06 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 15. Medias del factor B

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Cepas	N	Medias	D.E.	C	H	p
Acidez	Safale S-04	9	0.26	0.08	0.93	0.19	0.7104
Acidez	Safbrew S-06	9	0.25	0.03			

Variable	Cepas	N	Medias	D.E.	C	H	p
pH	Safale S-04	9	5.52	0.06	1.00	12.79	<0.0001
pH	Safbrew S-06	9	5.12	0.07			

Trat.	Ranks
Safbrew S-06	5.00 A
Safale S-04	14.00 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Variable	Cepas	N	Medias	D.E.	C	H	p
Densidad	Safale S-04	9	1.01	3.9E-03	0.97	11.86	0.0002
Densidad	Safbrew S-06	9	1.00	9.3E-04			

Trat.	Ranks
Safbrew S-06	5.17 A
Safale S-04	13.83 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Grados de alcohol	18	9.9E-04	0.00	11.73

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3.5E-03	1	3.5E-03	0.02	0.9014
Cepas	3.5E-03	1	3.5E-03	0.02	0.9014
Error	3.51	16	0.22		
Total	3.51	17			

Test: Tukey Alfa=0.05 DMS=0.46780

Error: 0.2191 gl: 16

Cepas	Medias	n	E.E.
Safbrew S-06	3.98	9	0.16 A
Safale S-04	4.00	9	0.16 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 16. Medias de los tratamientos

Prueba de Kruskal Wallis

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	C	H	p
Acidez	T1	3	0.28	0.03	0.93	10.53	0.0460
Acidez	T2	3	0.31	0.12			
Acidez	T3	3	0.20	0.02			
Acidez	T4	3	0.25	0.02			
Acidez	T5	3	0.28	0.02			
Acidez	T6	3	0.23	0.02			

Trat.	Ranks
T3	2.33 A
T6	6.33 A B
T4	9.67 A B
T2	11.33 B
T1	13.17 B
T5	14.17 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	C	H	p
pH	T1	3	5.54	0.01	1.00	16.48	0.0055
pH	T2	3	5.45	0.03			
pH	T3	3	5.57	0.02			
pH	T4	3	5.20	0.04			
pH	T5	3	5.13	0.02			
pH	T6	3	5.04	0.02			

Trat.	Ranks
T6	2.00 A
T5	5.00 A B
T4	8.00 A B C
T2	11.00 B C D
T1	14.17 C D
T3	16.83 D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Variable	Tratamiento	N	Medias	D.E.	C	H	p
Densidad	T1	3	1.01	0.01	0.97	12.50	0.0249
Densidad	T2	3	1.01	1.5E-03			
Densidad	T3	3	1.00	1.7E-03			
Densidad	T4	3	1.00	5.8E-04			
Densidad	T5	3	1.00	1.2E-03			
Densidad	T6	3	1.00	1.2E-03			

Trat.	Ranks
T5	4.50 A
T6	4.50 A
T4	6.50 A B
T3	12.33 A B
T1	14.50 B
T2	14.67 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	3.20	5	0.64	25.05	<0.0001
Tratamiento	3.20	5	0.64	25.05	<0.0001
Error	0.31	12	0.03		
Total	3.51	17			

Test:Tukey Alfa=0.05 DMS=0.43857

Error: 0.0256 gl: 12

Tratamiento	Medias	n	E.E.
T4	3.45	3	0.09 A
T3	3.50	3	0.09 A B
T5	3.93	3	0.09 B C
T2	4.06	3	0.09 C D
T1	4.46	3	0.09 D E
T6	4.55	3	0.09 E

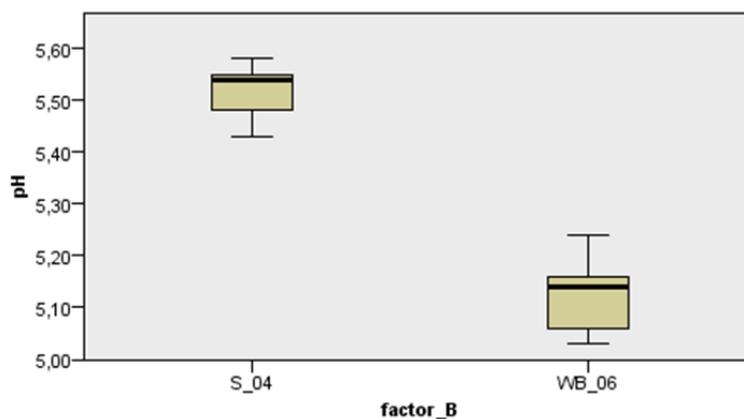
Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$)

Anexo 17. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para la variable pH

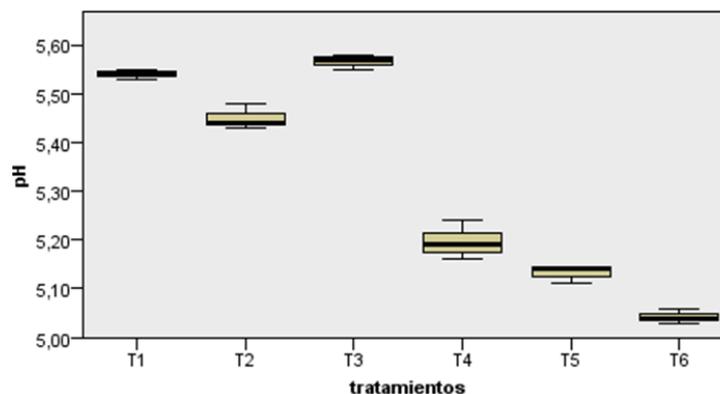
Resumen de prueba de Hipótesis

	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de pH es la misma entre las categorías de factor_A.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.260	Retener hipótesis nula
2	La distribución de pH es la misma entre las categorías de factor_B.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.000	Rechazar hipótesis nula
3	La distribución de pH es la misma entre las categorías de tratamientos	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.006	Rechazar hipótesis nula

Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes



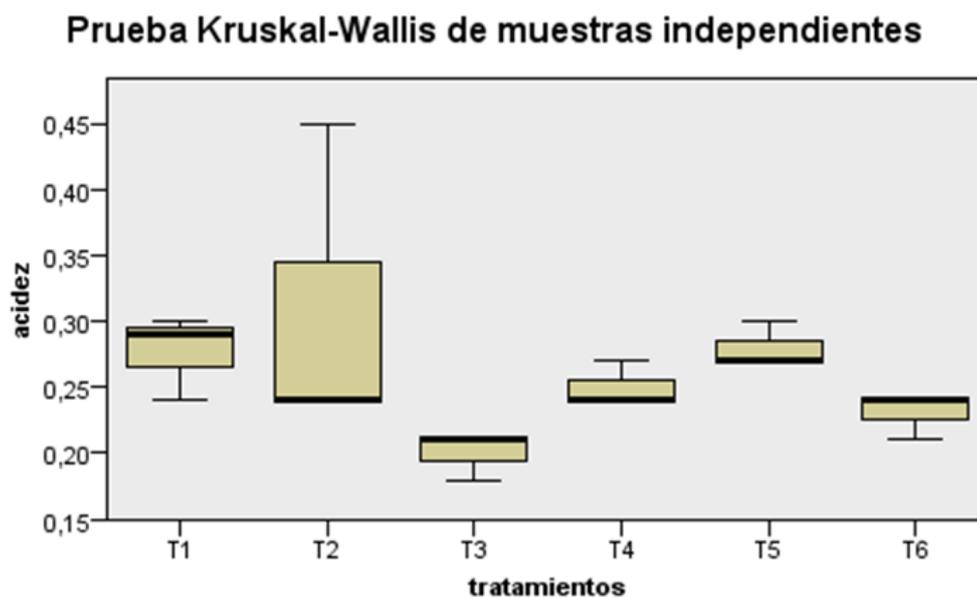
Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes



Anexo 18. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para la variable acidez

Resumen de prueba de Hipótesis

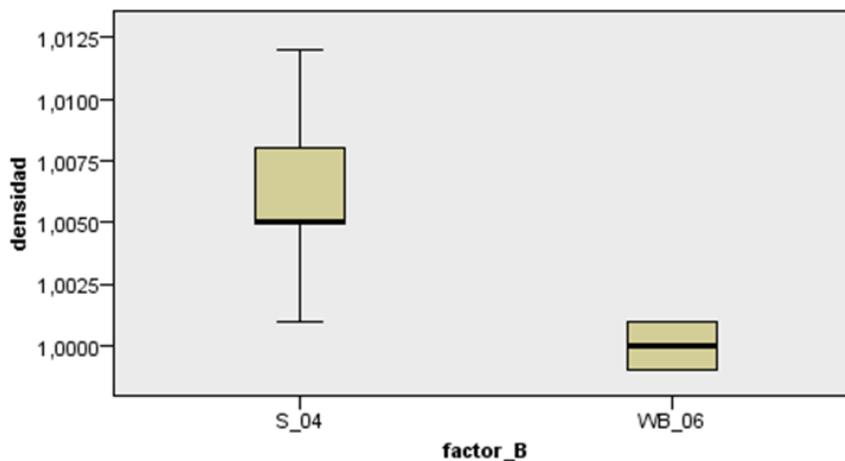
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de acidez es la misma entre las categorías de factor A.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.076	Retener hipótesis nula
2	La distribución de acidez es la misma entre las categorías de factor B.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.648	Retener hipótesis nula
3	La distribución de acidez es la misma entre las categorías de tratamientos	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.046	Rechazar hipótesis nula



Anexo 19. Prueba no paramétrica de Kruskal Wallis para la variable densidad

Resumen de prueba de Hipótesis				
	Hipótesis nula	Test	Sig.	Decisión
1	La distribución de densidad es la misma entre las categorías de factor A.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.998	Retener hipótesis nula
2	La distribución de densidad es la misma entre las categorías de factor B.	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.000	Rechazar hipótesis nula
3	La distribución de densidad es la misma entre las categorías de tratamientos	Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes	.025	Rechazar hipótesis nula

Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes



Prueba Kruskal-Wallis de muestras independientes

