



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO



FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

**“APROVECHAMIENTO DE RESIDUOS AGROINDUSTRIALES,
CASCARILLA DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) VARIEDAD ARRIBA Y
CCN51 PARA LA ELABORACIÓN DE UNA INFUSIÓN”**

Trabajo de Graduación. Modalidad: Trabajo estructurado de Manera Independiente (TEMI). Presentado como requisito previo a la obtención del Título de Ingeniero en Alimentos otorgado por la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Este estudio es parte del Proyecto “Mejoramiento del Proceso de Fermentación del Cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Nacional y CCN51”, auspiciado por la Universidad Técnica de Ambato (Aprobado con resolución 1150-CU-P-2012).

Autor: Claudia Alexandra Tapia Yáñez

Tutor: Ing. William Fabián Teneda Llerena

Ambato – Ecuador

2015

APROBACIÓN DEL TUTOR

Ing. William Fabián Teneda Llerena

Siendo el Tutor del Trabajo de Investigación (Graduación), Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI) bajo el tema: “Aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Arriba y CCN51 para la elaboración de una infusión”, realizado por la egresada Claudia Alexandra Tapia Yáñez; tengo a bien afirmar que el estudio es idóneo y reúne los requisitos de un trabajo de graduación de la carrera de Ingeniería en Alimentos; y la señorita egresada posee los méritos académicos suficientes para ser sometida a la evaluación del Jurado Examinador que será designado por el Honorable Consejo Directivo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Ambato, Mayo del 2015

Ing. William Fabián Teneda Llerena
TUTOR DE TESIS

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido del Trabajo de investigación (Graduación), Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI): “Aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Arriba y CCN51 para la elaboración de una infusión”, corresponde exclusivamente a Claudia Alexandra Tapia Yáñez y como patrimonio intelectual a la Universidad Técnica de Ambato.

Claudia Alexandra Tapia Yáñez

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

Los miembros del Tribunal de Grado aprueban el presente Trabajo de graduación de acuerdo a las disposiciones emitidas por la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, Mayo del 2015

Para constancia firman:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

A quienes con su amor y ejemplo han sido puntuales en mi vida:

A ti padre creador DIOS por darme salud, sabiduría y fortaleza necesaria para seguir siempre adelante, teniendo la oportunidad de culminar con una de mis metas primordiales.

A mis Padres Eduardo y Fanny quienes son pilares fundamentales en mi vida. Gracias por su amor, sacrificio, paciencia., siempre me motivaron y guiaron por el camino del bien, como resultados a todas sus enseñanzas, lograron que este sueño se haga realidad. Gracias.

A mi esposo Xavier se lo dedico con todo mi amor al brindarme de su apoyo incondicional en los momentos más críticos por los que cursé, gracias por el simple hecho de estar a mi lado.

A mi hijo Martin por ser la fuente de mi motivación e inspiración, que con sus palabras de aliento no me dejaba decaer “mami suerte en todo lo que hagas”, me llenabas de tu luz, tu paciencia, tu amor y sinceridad, eres genial. Simplemente te amo.

A mis hermanos Blady, Eri, Paty, Jhon, por cada palabra de aliento, gracias por brindarme de su ayuda cuando más los necesitaba.

AGRADECIMIENTO

Diosito gracias por un minuto, una hora, un día, una semana de vida. Gracias por permitirme ser feliz a lado de los que quiero y permitirme verlos sonreír una vez más.

Gracias papá por enseñarme a nunca rendirme ante los problemas, gracias mamá por enseñarme que el amor es la fuerza más grande que existe, ustedes son los seres a quienes más admiro en el mundo.

Ser mamá y estudiante es difícil porque sabes que alguien más se está sacrificando. Al tener que dejarte en casa era duro, sobre todo cuando te despedías de mí llorando, pero todo este sacrificio fue en busca de un mejor futuro para nosotros.

Te agradezco mi Martín por tu comprensión, porque todo mi esfuerzo está reflejado en ti

Gracias Esposito por tus risas que de la nada le ponías ánimo a todas las decaídas que se tuvo en este trabajo.

Gracias Ing. William Teneda e Ing. Lennin Garcés por su amistad, su guía y apoyo incondicional.

*A mis amigo(as), **Dari**, May, Aleja, Lore, gracias por todos los recuerdos y experiencias vividas en nuestra vida Universitaria, gracias por permitirme formar parte de sus vidas, y motivarme hacer las cosas de la mejor manera.*

A mis Suegros y Cuñadas gracias también por compartir de sus experiencias, consejos, su apoyo y sobre todo cariño, siempre lo tomaré en cuenta.

Les amo y les agradezco de todo corazón, porque lo que soy ahora es gracias a ustedes.

GRACIAS POR TODO...

*Claudia Tapia
Mayo, 2015*

LISTA DE ABREVIATURAS

[] = Concentración
%H = Porcentaje de Humedad
Abs. = Absorbancia
De = Desviación Estándar
Ea = Energía de Activación
G.L.= Grados de Libertad
G = Gramo
h = Horas
J = Julios
Ln = Logaritmo natural
Log = Logaritmo
m = Pendiente
mg = Miligramos
mol = Moles
nm = nanometros
°C = Grados Centígrados
°K = Grados Kelvin
R = Constante universal de los gases
R² = Coeficiente de determinación
R₁ = Réplica 1
R₂ = Réplica 2
R₃ = Réplica 3
T.V.U.= Tiempo de Vida Útil
T = Temperatura
t = Tiempo
Tr = Tratamientos
μ = Velocidad de Crecimiento Específico
Ufc = Unidades Formadoras de Colonia
 \bar{X} = Promedio

ÍNDICE

CARATULA.....	i
APROBACION DEL TUTOR	ii
AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN	iii
APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
ÍNDICE	viii
RESUMEN	xviii

CAPÍTULO I

1.1.	TEMA DE INVESTIGACIÓN.....	1
1.2.	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	1
1.2.1.	Contextualización	1
1.2.1.1.	Macro.....	1
1.2.1.2.	Meso.....	3
1.2.1.3.	Micro.....	4
1.2.2.	Análisis crítico.....	6
1.2.2.1.	Árbol de problemas.....	7
1.2.3.	Prognosis.....	7
1.2.4.	Formulación del problema	8
1.2.5.	Interrogantes (Subproblemas).....	8
1.2.6.	Delimitación del objeto de investigación	9

1.3.	JUSTIFICACIÓN.....	9
1.4.	OBJETIVOS.....	10
1.4.1.	Objetivo General.....	10
1.4.2.	Objetivos Específicos	10
CAPÍTULO II		
2.1.	ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	11
2.2.	FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA.....	14
2.3.	FUNDAMENTACIÓN LEGAL	14
2.4.	CATEGORÍAS FUNDAMENTALES.....	17
2.4.1.	Marco Teórico de Variable Independiente	18
2.4.1.1.	Cacao	18
2.4.1.2.	Variedades de cacao	18
2.4.1.3.	Procesamiento del cacao	19
2.4.1.4.	Cascarilla de cacao	21
2.4.1.5.	Residuos agroindustriales	22
2.4.2.	Marco teórico de la Variable Dependiente.....	22
2.4.2.1.	Plantas medicinales.....	22
2.4.2.2.	Análisis fisicoquímicos.....	23
2.4.2.3.	Análisis sensorial	24
2.4.2.4.	Análisis microbiológicos: Unidades Formadoras de Colonia (UFC)...	24
2.4.2.5.	Estimación de la vida útil microbiológica: uso de herramientas predictivas.	24
2.5.	HIPÓTESIS.....	25
2.5.1.	Hipótesis nula (H_0)	25
2.5.2.	Hipótesis alternativa (H_a)	25

2.6.	SEÑALAMIENTO DE VARIABLES.....	26
------	--------------------------------	----

CAPÍTULO III

3.1.	ENFOQUE	27
3.2.	MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN	27
3.3.	NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN	28
3.4.	POBLACIÓN Y MUESTRA.....	29
3.4.1.	Diseño experimental.....	29
3.5.	OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	33
3.6.	PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN.....	35
3.6.1.	Diagrama de flujo para el proceso de elaboración de una infusión a partir de cascarilla de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) Variedad Arriba y CCN51. ...	40
3.6.2.	DESCRIPCIÓN DEL PROCESO	41
3.7.	PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACION	43

CAPÍTULO IV

4.1.	ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	44
4.2.	INTERPRETACIÓN DE DATOS.....	44
4.2.1.	Análisis del porcentaje de humedad en la materia prima	44
4.2.2.	Determinación de grasa en materia prima.....	45
4.2.3.	Determinación de pH en la materia prima	45
4.2.4.	Análisis de polifenoles (mg Ac gálico /g) en la materia prima.....	45
4.2.5.	Análisis de pH en la infusión.....	46
4.2.6.	Análisis de acidez en la infusión	46
4.2.7.	Análisis de porcentaje de humedad en la infusión.....	47
4.2.8.	Evaluación sensorial.....	47
4.2.8.1.	Color.....	47

4.2.8.2.	Aroma	48
4.2.8.3.	Sabor	48
4.2.8.4.	Aceptabilidad	49
4.2.9.	Análisis de los 3 mejores tratamientos	49
4.2.10.	Análisis microbiológico	50
4.2.11.	Determinación de vida útil	50
4.2.12.	Análisis proximal.....	53
4.3.	Verificación de la hipótesis	53

CAPÍTULO V

5.1.	CONCLUSIONES	55
5.2.	RECOMENDACIONES.....	56

CAPÍTULO VI

6.1.	DATOS INFORMATIVOS	57
6.1.1.	Título.....	57
6.1.2.	Institución Ejecutora	57
6.1.3.	Beneficiarios	57
6.1.4.	Ubicación	58
6.1.5.	Tiempo Estimado de Ejecución	58
6.1.6.	Equipo Técnico Responsable	58
6.2.	ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA	58
6.3.	JUSTIFICACIÓN.....	59
6.4.	OBJETIVOS.....	61
6.5.	ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD	61
6.6.	FUNDAMENTACIÓN.....	62
6.7.	METODOLOGÍA.....	63

6.7.1.	DESCRIPCIÓN DEL PROCESO	65
6.8.	ADMINISTRACIÓN.....	69
6.1.	PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN.....	70

CAPÍTULO VII

BIBLIOGRAFÍA	71
Tabla 1: Exportaciones de cacao tostado y cascarilla de cacao (TM).....	6
Tabla 2: Valores típicos de la composición de cascarilla de cacao	21
Tabla 3: Factores y niveles del Proyecto de investigación	30
Tabla 4: Combinación de los niveles correspondientes a los factores de estudio.	31
<i>Tabla 5: Variables independientes: Variedad de cascarilla de cacao, Variedad de hierbas medicinales, Porcentaje de cascarilla y Edulcorante</i>	<i>33</i>
<i>Tabla 6: Variable dependiente: Evaluación sensorial, Análisis fisicoquímico y Análisis microbiológico.</i>	<i>34</i>
Tabla 7: Plan de acción.....	68
Tabla 8: Administración de la propuesta	69
Tabla 9: Previsión de la evaluación	70
Anexo A: Respuestas experimentales.....	78
Tabla A 1. Valores de porcentaje de humedad (%H) obtenidos en la materia prima.	78
Tabla A 2. Valores de porcentaje de Grasa obtenidos en la materia prima.	78
Tabla A 3. Valores de pH obtenidos en la materia prima.	78
Tabla A 4. Resultados obtenidos para la curva estándar de ácido gálico.	79
Tabla A 5. Valores de polifenoles totales para la materia prima.....	79
Tabla A 6. Valores de pH y desviación estándar en la infusión elaborada.....	80
Tabla A 7. Resultados promedio y desviación estándar de acidez, expresado en gramos de Ac. Cítrico por gramo de producto en todos los tratamientos.	81
Tabla A 8. Resultados promedio y desviación estándar del % de humedad en todos los tratamientos.	82

Evaluación sensorial	83
Tabla A 9. Resultados de las pruebas sensoriales para la infusión de cascarilla..	83
Tabla A 10. Resultados de las pruebas sensoriales para la infusión de cascarilla (cont.)	84
Tabla A 11. Resultados de las pruebas sensoriales para la infusión de cascarilla (cont.)	85
Tabla A 12. Resultados de las pruebas sensoriales para la infusión de cascarilla (cont.)	86
Análisis microbiológico de los mejores 3 tratamientos de la infusión de cascarilla	87
Tabla A 13. Resultados (promedio y desviación estándar) del recuento total de mohos y levaduras (ufc/g)*10E-2 del tratamiento abc almacenado 18, 25 y 35 °C en función del tiempo.	87
Tabla A 14. Resultados (promedio y desviación estándar) del recuento total de mohos y levaduras (ufc/g)* 10E-2 del tratamiento bcd almacenado a 18, 25 y 35 °C en función del tiempo.	87
Tabla A 15. Resultados (promedio y desviación estándar) del recuento total de mohos y levaduras (ufc/g)* 10E-2 del tratamiento abcd almacenado a 18, 25 y 35 °C en función del tiempo.	88
Tabla A 16. Resultados del recuento total de mesófilos aerobios (ufc/g)*10E-3 del tratamiento abc.....	88
Tabla A 17. Resultados del recuento total de mesófilos aerobios (ufc/g)* 10E-3 del tratamiento bcd.....	89
Tabla A 18. Resultados del recuento total de mesófilos aerobios (ufc/g)*10E-3 del tratamiento abcd.....	89
Tabla A 19. Resultados del recuento total de <i>E. coli</i> (ufc/g)*10E-1 del tratamiento abc.	90
Tabla A 20. Resultados del recuento total de <i>E. coli</i> (ufc/g)*10E-1 del tratamiento bcd.	90

Tabla A 21. Resultados del recuento total de <i>E. coli</i> (ufc/g)*10E-1 del tratamiento abcd.	91
Tabla A 22. Resultados del recuento total de <i>Staphylococcus aureus</i> (ufc/g)*10E-2 del tratamiento abc.....	91
Tabla A 23. Resultados del recuento total de <i>Staphylococcus aureus</i> (ufc/g)*10E-2 del tratamiento bcd.....	92
Tabla A 24. Resultados del recuento total de <i>Staphylococcus aureus</i> (ufc/g)*10E-2 del tratamiento abcd.....	92
DETERMINACIÓN DE VIDA ÚTIL	93
Tabla A 25. Valores obtenidos en el recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 18°C, correspondientes al tratamiento abc.	93
Tabla A 26. Valores obtenidos del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 25 °C correspondientes al tratamiento abc.	93
Tabla A 27. Valores obtenidos del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 35 °C correspondientes al tratamiento abc.	94
Tabla A 28. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento abc.....	94
Tabla A 29. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento abc (cont.).....	94
Tabla A 30. Valores del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 18 °C en el tratamiento bcd.....	95
Tabla A 31. Valores del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 25 °C en el tratamiento bcd.....	95
Tabla A 32. Valores obtenidos del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 35 °C para el tratamiento bcd.....	96
Tabla A 33. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento bcd.....	96
Tabla A 34. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento bcd (cont.).....	96
Tabla A 35. Valores del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 18 °C en el tratamiento abcd.....	97

Tabla A 36. Valores del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 25 °C en el tratamiento abcd.....	97
Tabla A 37. Valores del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 35°C para el tratamiento abcd.....	98
Tabla A 38. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento abcd.....	98
Tabla A 39. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento abcd (cont.).....	98
ANÁLISIS PROXIMAL.....	99
Tabla A 40. Análisis proximal del mejor tratamiento abcd según vida útil.....	99
ANEXO B: ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN STATGRAPHICS CENTURION XVI..	100
Tabla B 1. Análisis de varianza para pH en la infusión de cascarilla-suma de cuadrados Tipo III.....	100
Tabla B 2. Análisis de varianza para acidez en la infusión de cascarilla-suma de cuadrados Tipo III.....	100
Tabla B 3. Análisis de varianza para % de Humedad en la infusión de cascarilla-suma de cuadrados Tipo III.....	101
Tabla B 4. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación a color.....	101
Tabla B 5. Prueba de múltiple rangos para color por tratamientos.....	101
Tabla B 6. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación a aroma	102
Tabla B 7. Prueba de múltiple rangos para aroma por tratamientos	102
Tabla B 8. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación a sabor	102
Tabla B 9. Prueba de múltiple rangos para sabor por tratamientos	103
Tabla B 10. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación a aceptabilidad	103
Tabla B 11. Prueba de múltiple rangos para aceptabilidad por tratamientos	103
ANEXO C: GRÁFICOS	104
Figura C 1. Curva de estándar para polifenoles absorbancia (760 nm) en función de concentración.....	104

Figura C 2. Ln (ufc) en función del tiempo a 18 °C, tratamiento abc.....	104
Figura C 3. Ln (ufc) en función del tiempo a 25 °C, tratamiento abc.....	105
Figura C 4. Ln (ufc) en función del tiempo a 35 °C, tratamiento abc.....	105
Figura C 6. Ln (ufc) en función del tiempo a 18 °C, tratamiento bcd.....	106
Figura C 7. Ln (ufc) en función del tiempo a 25 °C, tratamiento bcd.....	107
Figura C 8. Ln (ufc) en función del tiempo a 35 °C, tratamiento bcd.....	107
Figura C 9. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento bcd.....	108
Figura C 10. Ln (ufc) en función del tiempo a 18 °C, tratamiento abcd.....	108
Figura C 11. Ln (ufc) en función del tiempo a 25 °C, tratamiento abcd.....	109
Figura C 12. Ln (ufc) en función del tiempo a 35 °C, tratamiento abcd.....	109
Figura C 13. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento abcd.....	110
ANEXO D: MÉTODOS EMPLEADOS.....	111
Anexo D-1: EXTRACCIÓN DE GRASA.....	111
Anexo D-2: Determinación de polifenoles totales.....	113
Anexo D-3: Hoja de evaluación sensorial.....	117
ANEXO E: FOTOGRAFÍAS.....	119
Figura E 1. Secado de cacao.....	119
Figura E 2. Control de humedad.....	119
Figura E 3. Descascarillado.....	119
Figura E 4. Preparación de todos los tratamientos.....	120
Figura E 5. Muestras para medición de pH.....	120
Figura E 6. Medición de pH.....	120
Figura E 7. Panel de catación.....	121
Figura E 8. Catador.....	121
Figura E 9. Preparación de muestras.....	121

Figura E 10. Temperatura Ambiente 18°C	121
Figura E 11. Temperatura 25 °C	122
Figura E 12. Temperatura 35 °C	122
Figura E 13. Petrifilms	122
Figura E 14. Preparación de diluciones.....	122
Figura E 15. Diluciones de las muestras	123
Figura E 16. Siembra de las muestras	123
Figura E 17. Expansión uniforme de muestras.....	123
Figura E 18. Petrifims usadas en siembras.....	124
Figura E 19. Incubación de petrifilms	124
Figura E 20. Conteo de microorganismos	125

Gráfico 1: Parte de los principales países productores del grano de cacao (previsiones de la campaña 2010/2011)	2
Gráfico 2 Superficie sembrada de cacao por provincia	5
Gráfico 3: Categorías fundamentales.....	17
Gráfico 4: Esquema donde se muestra los métodos del tostado del grano completo, grano y licor de cacao.....	20
Gráfico 6: Diagrama de flujo para la elaboración de infusión	40
Gráfico 7. Esquema donde se muestra los métodos del tostado del cacao.	65

RESUMEN

El estudio experimental comparativo de aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Arriba y CCN51 para la elaboración de una infusión con plantas medicinales Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) y Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) utilizando Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante, proporcionó una infusión con excelentes atributos organolépticos y beneficios para el consumidor.

Al caracterizar a las dos variedades de cascarilla de cacao, se determinó que la variedad arriba tiene mayor cantidad de polifenoles en un 54%, con un valor de 11,351 mg Ac. Gálico/g; mientras que en las plantas medicinales, la guayusa tuvo mayor cantidad de polifenoles en un 59% con un de valor de 6,614 mg Ac. Gálico/g, sin embargo este valor es menor en relación al de las dos variedades de cascarilla.

Al comparar los valores de pH, acidez y % humedad, se observó que en la infusión la variedad y porcentajes de cascarilla influyen significativamente en los valores obtenidos siendo la variedad arriba la que tuvo mayor influencia, determinándose que el nivel alto de cascarilla influyó al momento de ser evaluado por los catadores tanto en color, aroma, sabor y aceptabilidad.

Para el cálculo de tiempo de vida útil de la infusión se empleó un test acelerado de tiempo a tres temperaturas diferentes (18, 25 y 35 °C); se utilizó la aproximación de Arrhenius, con la cual se obtuvo como mejor tratamiento abcd (Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y Stevia) con una estabilidad de 149,7 días a 18 °C.

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. TEMA DE INVESTIGACIÓN

“Aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Arriba y CCN51 para la elaboración de una infusión”

1.2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La industria alimentaria genera una serie de desechos de toda índole. Probablemente, los más representativos son los orgánicos (Maisuthisakul & Gordon, 2009), cuya característica más relevante es su gran disponibilidad y bajo costo, existe por tanto considerable interés por la industria de alimentos el aprovechamiento de estos subproductos para potenciar su uso (Serena & Knudsen, 2007).

1.2.1. Contextualización

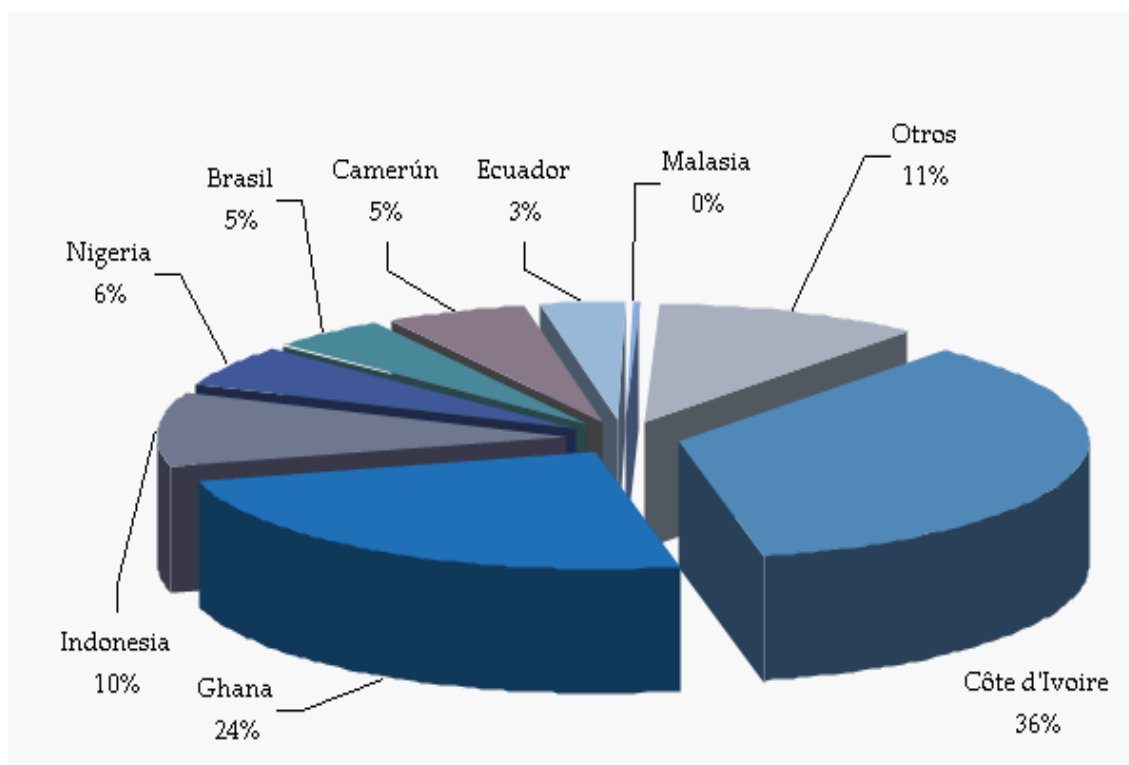
1.2.1.1. Macro

El cacao, *Theobroma cacao* L., es una planta de origen americano. Debido al sistema de vida nómada que siempre llevaron los primeros habitantes de este continente, es prácticamente imposible decir a ciencia cierta cuál fue el lugar de origen. De acuerdo a estudios, el cacao es originario de América del Sur, en el área del alto Amazonas (Enríquez G. A., 1985).

El cacao es producido por un buen número de países en el mundo, aunque su cultivo se concentra especialmente en las zonas Tropicales. En efecto, predomina especialmente en África del Oeste, Asia, Sur y Centro América. En el mundo los niveles anuales de producción se han desviado de forma considerable respecto al valor de tendencia, debido principalmente a la influencia de factores meteorológicos (Mojica & Paredes, 2006).

En el Grafico 1 se observa la distribución de los ocho países que son los principales productores en el mundo al presente, y en orden descendente, Côte d'Ivoire, Ghana, Indonesia, Nigeria, Camerún, Brasil, Ecuador y Malasia. Estos países representan casi el 90% de la producción mundial.

Gráfico 1: Parte de los principales países productores del grano de cacao (previsiones de la campaña 2010/2011)



Fuente: Conferencia de las Naciones Unidas Sobre Comercio y Desarrollo (UNCTAD, 2012)

Elaboración: Secretaría de la UNCTAD, sobre la base de las estadísticas de la Organización Internacional del Cacao, boletín trimestral de las estadísticas del cacao.

La Organización Internacional del Cacao (ICCO) en su Boletín Trimestral de Estadísticas del Cacao, publicada en agosto del 2014, espera que la producción mundial de cacao para la temporada actual aumente en un 10%

a 4,35 millones de toneladas, en comparación con las estimaciones revisadas en la temporada anterior de 3,94 millones de toneladas. La Secretaría de la ICCO ahora proyecta un superávit de producción de 40000 toneladas (ICCO, 2014).

El consumo mundial de cacao, medido en forma de moliendas de cacao en grano por la industria, también creció en un 2,9% anual. Las moliendas han registrado una tendencia más uniforme que la producción, pasando de casi 3,1 millones de toneladas en 2002/2003 a más de 3,9 millones en 2010/2011, con casi 4 millones de toneladas previstas para 2011/2012.

Durante el período bajo reseña, se registró un solo descenso, aunque fue importante, en 2008/2009 cuando la demanda de consumo se desplomó debido a los problemas económicos mundiales y al incremento constante de los precios del cacao en grano (CANACACAO, 2012).

1.2.1.2. Meso

Las proyecciones indican que la producción de cacao en América Latina aumentará de 397000 toneladas durante el período base a 520000 toneladas en el 2010, lo que supone una tasa de crecimiento anual de 2,5 por ciento. En Brasil, el mayor país productor de granos de cacao de la región, y en Colombia, el tercer productor mayor, las producciones deberían descender, pero el aumento de la producción en otros países productores de cacao de la región compensaría con creces la merma. Según las proyecciones, la producción del Brasil aumentará en 2,2 por ciento anual hasta alcanzar las 180000 toneladas en el 2010, FAO (2004).

La producción sudamericana representa cerca del 14 % de la producción mundial en 2002/2003 (418000 toneladas). Al principio de la comercialización mundial de cacao (en el siglo XIX), Brasil era, el primer productor. Suplantado hoy por África del oeste, queda en primer lugar de la producción en América latina con 163000 toneladas de cacao en 2002/2003. Sus plantaciones son grandes explotaciones industriales.

Ecuador sigue con 78000 toneladas. Los otros productores de esta región (México, Bolivia, Colombia, Venezuela) producen un total de cerca de 170000 toneladas. La producción tiende a variar sensiblemente a causa de las condiciones climáticas y problemas de parásitos que dañan los cultivos. En el Caribe, la República Dominicana representa cerca del 2 % de la producción mundial. Los otros productores son: Haití, Jamaica, Cuba, Trinidad y Tobago, Granada (CHOCOLAT, 2014).

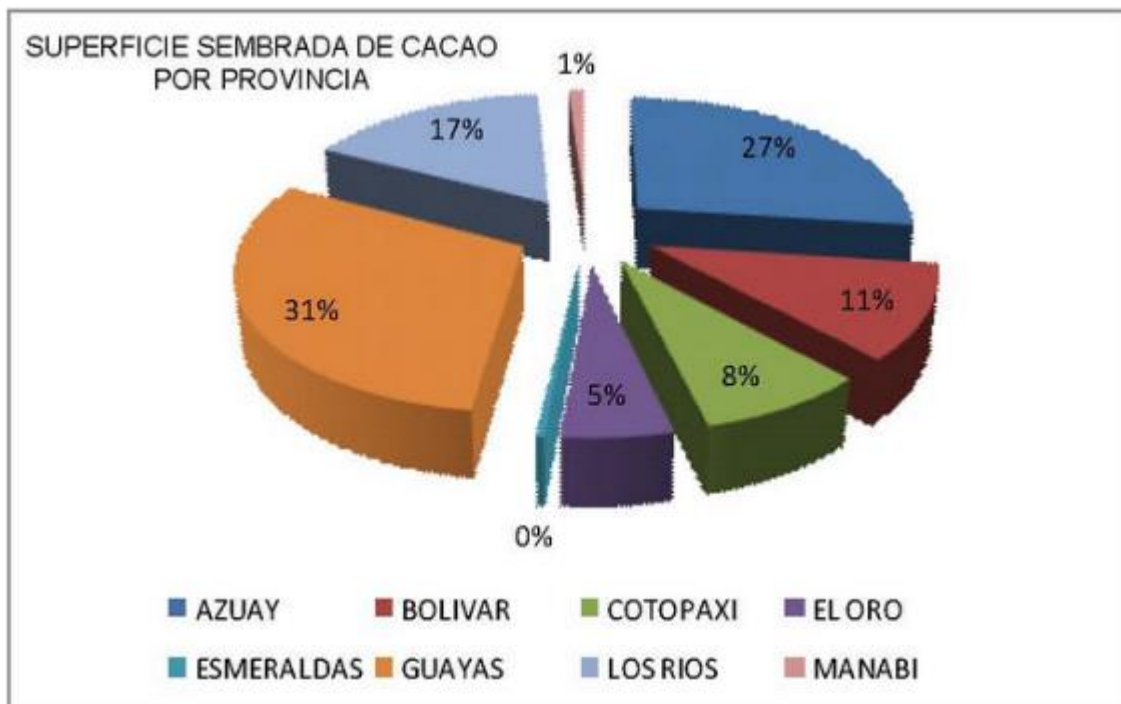
1.2.1.3. Micro

El Ecuador es el octavo país productor de cacao y el primero de cacao fino de aroma, aportando el 50% de la oferta que alimenta este pequeño pero importante segmento del mercado mundial. Actualmente hay cerca de 100000 unidades productivas con más de 400000 hectáreas de cacao, en su gran mayoría en la región litoral o costa. Aproximadamente el 7% de esta superficie está sembrada con la variedad clonal CCN-51; el resto es cacao Nacional con reconocimiento internacional por sus atributos sensoriales (INIAP, 2009).

Tomando como base la información de la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC), la producción nacional de cacao en grano se concentra en un 85% en las provincias del litoral ecuatoriano, el 11% en las estribaciones de la cordillera occidental de Los Andes y un 4% en las provincias de la Amazonía, especialmente en Sucumbíos, Orellana y Napo MAGAP (2013).

La producción de cacao a nivel nacional se encuentra dispersa en la mayoría de sus provincias, en el Gráfico 2 se observa las principales provincias ecuatorianas con mayor porcentaje de participación respecto a superficie de cultivo siendo la provincia del Guayas la primera, con el 31% seguida por Azuay con el 27%.

Gráfico 2 Superficie sembrada de cacao por provincia



Fuente y Elaborado por: MAGAP (2013)

Las exportaciones de cacao en grano durante el año 2012 alcanzaron un volumen de 147238,74 TM, superior en un 78% al volumen registrado en el año 2007, que fue de 82641 TM, por un aumento en la producción nacional, demanda y la existencia de buenos precios para este producto en el mercado internacional. Según la Asociación Nacional de Exportadores de Cacao (ANECACAO) del total exportado durante el año 2012, el 73% corresponde a cacao nacional, mientras que el 27% es del tipo CCN51 MAGAP (2013).

Hasta el 2012, el 25% de la producción de cacao correspondía a la variedad CCN-51, pero para el 2013 alcanzó cerca del 50% (ELCOMERCIO, 2014). Además del cacao en grano, se exporta semielaborados de cacao; cuyo rubro ha crecido paulatinamente durante los años 2007-2012, al pasar de 8418,4 TM a 23,926 TM, lo que significa un incremento del 184%; además se exporta cacao en grano tostado y cascarilla de cacao, como se observa en el Cuadro 1, referente a las exportaciones en el periodo 2006 al 2012.

Tabla 1: Exportaciones de cacao tostado y cascarilla de cacao (TM)

Rubro	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
Cacao tostado	95,03	6,74	2,16	3,73	75,25	79,17	31,49
Cascarilla	215,4	378,21	505,76	411,71	308,08	684,36	1246,84
Total	310,43	384,95	507,92	415,44	383,33	763,53	1278,33

Fuente: Banco Central del Ecuador

Elaboración: DET-SC/MAGAP citado por MAGAP (2013)

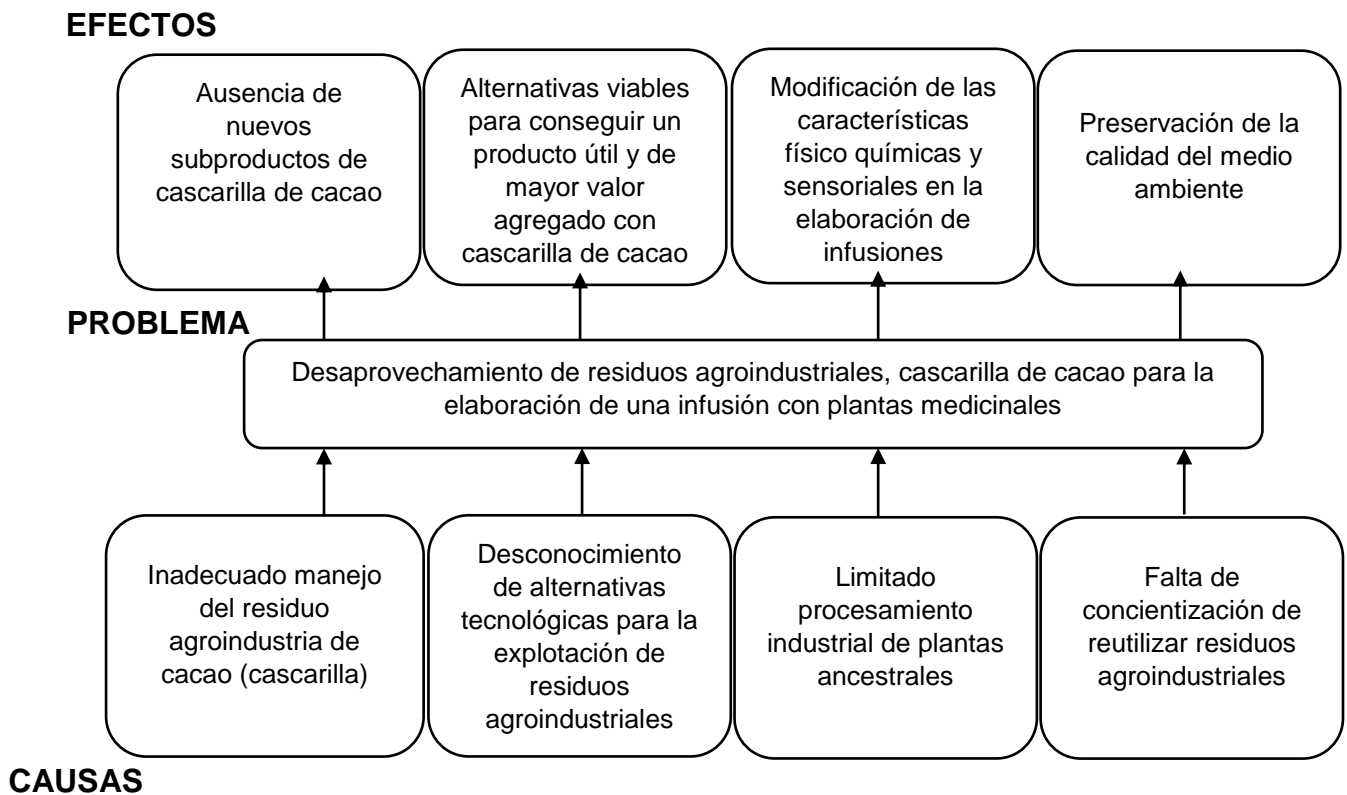
1.2.2. Análisis crítico

A nivel mundial, la preocupación por el aprovechamiento de residuos ha tomado gran fuerza entre la comunidad científica y sobre todo a nivel industrial, en donde los procesos de transformación generan subproductos que pueden ser útiles en otras actividades.

Con este trabajo de investigación se pretende incentivar el aprovechamiento de cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Arriba y CCN51 para la elaboración de una infusión con plantas medicinales que serán utilizadas como materia prima para obtener una bebida con excelentes características organolépticas que sea de agrado al consumidor.

1.2.2.1. Árbol de problemas

Gráfico 3: Árbol de Problemas



Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

1.2.3. Prognosis

Al no realizarse la presente investigación, continuaría el desconocimiento sobre el aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de cacao, que impulsaría el desarrollo de tecnologías orientadas hacia una transformación sustentable de los recursos naturales como materia prima para la elaboración de subproductos de interés que satisfagan las necesidades de los consumidores.

1.2.4. Formulación del problema

¿El aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Arriba y CCN51 para la elaboración de una infusión con plantas medicinales: Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) y Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) en proporciones adecuadas con Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante, permitirá obtener una bebida de buenas características nutricionales y sensoriales para el consumidor?

1.2.5. Interrogantes (Subproblemas)

¿Cuál de las variedades de cascarilla de cacao y de plantas medicinales tiene mayor concentración de compuestos aromáticos?

¿Existe diferencia significativa de las propiedades fisicoquímicas y sensoriales en la infusión preparada con cascarilla de cacao y las plantas medicinales a las proporciones a utilizarse para elaboración de este producto?

¿Cuál es tiempo de vida útil de la infusión a base de cascarilla de cacao y plantas medicinales?

1.2.6. Delimitación del objeto de investigación

Área: Alimentos

Sub-área: Físico Química

Categoría: Bebidas

Subcategoría: Infusiones

Delimitación Temporal: El trabajo de investigación se realizó desde Julio 2014 – Mayo 2015.

Delimitación Espacial: Laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato. Tungurahua, Ecuador.

1.3. JUSTIFICACIÓN

El tratamiento y aprovechamiento de residuos agroindustriales en la formulación de nuevos productos es una manera de disminuir el impacto ambiental.

Expertos en la fabricación de productos a base de cacao, determinan que el rendimiento de 100 kg de semillas de cacao es alrededor del 85%, siendo el valor restante considerado como desechos. De estos desechos, sólo la cascarilla de cacao corresponde al 12% (Murillo, 2008).

Las plantas medicinales deben su acción a ciertos componentes denominados principios activos. Curiosamente, en muchos casos, estos principios activos son metabolitos secundarios de las plantas, es decir, sustancias aparentemente importantes para la planta y que en muchos casos se consideran como desechos metabólicos (Quer, 1964).

La cascarilla de cacao, materia prima a utilizarse se desperdicia en las industrias, sin tener presente que es una fuente rica en su composición y más aún que al realizar esta infusión tendrá gran aceptación por ofertar un producto innovador de excelente calidad y de fácil adquisición.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo General

- Realizar un estudio experimental comparativo de aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedades Arriba y CCN51 para la elaboración de una infusión con plantas medicinales Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) y Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) utilizando Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Caracterizar a las dos variedades de cascarilla de cacao y a las plantas medicinales en relación a la concentración de compuestos aromáticos.
- Establecer si existe diferencia significativa entre las propiedades fisicoquímicas y sensoriales en las proporciones a utilizarse de cascarilla de cacao y plantas medicinales para elaboración de la infusión.
- Estimar el tiempo de vida útil de la infusión en base a UFC y análisis proximal del mejor tratamiento.
- Proponer la producción a escala industrial de una infusión a partir cascarilla de cacao con plantas medicinales Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) y Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) utilizando Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Se pueden citar o mencionar trabajos realizados que servirán de soporte para la presente investigación.

Rodríguez et al. (2010), señala que a nivel mundial se conocen cacaos tipo: Criollo, Forastero Amazónico, Trinitario y Nacional del Ecuador denominado Fino de Aroma. Ecuador es el líder mundial en la producción y exportación de Cacao Fino de Aroma que aporta el 61%, este cacao posee una calidad única en el mundo debido a sus características aromáticas particulares (con aromas florales muy perceptivas) y es conocido como el cacao de “Arriba”. Actualmente hay pocas plantaciones de cacao Nacional puro, predominan las de cruzamientos naturales entre el Nacional y el Trinitario conocido como complejo Nacional Trinitario, este cacao es muy apetecido por la industria chocolatera, especialmente en Europa.

Macrae et al. (2003), sugiere que el consumo de cascarilla de cacao podría acarrear efectos beneficiosas para la salud como el obtenido con algunas semillas, frutas y vegetales, siendo una fuente importante de antioxidantes naturales, los cuales han sido objeto de estudio por inactivar los radicales libres del proceso de oxidación del organismo, previniendo la aparición de enfermedades cardiovasculares, cancerígenas, entre otras.

Álvarez et al.(2007), expresan diferencias en los parámetros de los cacaos analizados, posiblemente debido al origen genético de cada material,

presenta rangos de 6 hasta 16%. Además consideran que el porcentaje de la testa del grano, mantiene una relación inversamente proporcional con su tamaño.

Cardona et al. (2002), en su trabajo “Establecimiento de una base de datos para la elaboración de tablas de contenido nutricional de alimentos para animales”, muestra que debido al mayor aporte de proteína y grasa y al menor contenido de fibra, la cascarilla de cacao se convierte en una materia prima más energética que la cascarilla de soya (*Glicine max*), también presenta un mayor contenido de ceniza.

Castillejo et al. (2006), señala algunas investigaciones vinculadas a la evaluación del uso de cascarilla de cacao y su efecto en el colón debido al aporte de fibra en pacientes pediátricos con estreñimiento, los resultados indicaron que el grupo al que se le suministró un suplemento procedente de la cáscara de cacao, en comparación al grupo Testigo tuvo una disminución de la “Determinación total y segmentaria del tiempo del tránsito del colón”.

Abarca (2010), concluye que la cáscara y la testa por su contenido son buenas fuentes de fibra dietaria insoluble, mientras que el mucílago es una buena fuente de fibra dietaria soluble, el residuo de cacao con la mejor relación Fibra Dietaria Insoluble: Fibra Dietaria Soluble es la testa (2,2:1,0 a 2,9:1,0), ideal para uso como ingrediente directo en la formulación de alimentos.

Soto (2012), menciona que los resultados de ocratoxina fueron negativos para todas las muestras analizadas, lo que significa que no había o que la cantidad no fue detectada por el método aplicado. Estos resultados pueden ser analizados de diversas maneras, la primera es que los lotes de cacao de donde provienen las cascarillas analizadas no fueron contaminados por los hongos *Aspergillus*, entre ellos el más conocido como productor de ocratoxina el *Aspergillus ochraceus*, o en caso de que si fuera contaminado el cacao, dichos hongos no produjeron la toxina.

Baena & García (2012), determinaron la fibra dietaria de la cascarilla de cacao por el método de hidrólisis enzimática, encontrando un contenido de Fibra Dietaria Total de 76%, con una relación Fibra Insoluble/Fibra Soluble de 8:1, lo cual indica que podría ser aprovechada por la industria para la elaboración de alimentos ricos en fibra; La composición química de la cascarilla de cacao arrojó valores de celulosa 17,39%, hemicelulosa 6,38%, pectinas 19,62% y lignina 32,4%, el contenido de pectinas se encuentra dentro del intervalo 12,50 – 45%, lo cual le convierte en una posible fuente de pectinas de uso industrial y comercial.

Yanzapanta (2014), concluyó que la concentración de polifenoles totales en las muestras de tres provincias Amazónicas en estudio varió entre 40 y 70 mg de ácido gálico/gramo de cacao desengrasado, el proceso de fermentación no fue homogéneo a pesar de realizar el mismo proceso para todas las muestras; el contenido de polifenoles en las muestras fermentadas dependen de las reacciones bioquímicas que se producen durante el proceso de fermentación confirmando estudios realizados por otros autores donde se indica que este proceso se realiza en todo el mundo pero está lejos de ser un proceso estandarizado.

Camino (2014), evaluó el contenido de los componentes químicos no volátiles (polifenoles, grasa y alcaloides) en almendras de cacao nacional recolectadas en las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos, los resultados obtenidos mostraron que el contenido de polifenoles totales varió en un rango de 33,55 a 62,89 mg ácido gálico/g cacao desengrasado, los alcaloides presentaron contenidos que varían entre 1,52 a 2,29% para el caso de la teobromina y de 0,20 a 0,40% para la cafeína. El contenido de grasa promedio obtenido en las muestras analizadas fue del 45,2%. La relación teobromina/cafeína (T/C) permitió establecer al cacao nacional de estas provincias dentro de la clasificación de los cacaos Trinitarios con valores que varían entre 5,56 y 7,86.

2.2. FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA

Al tratarse de una investigación experimental, donde se busca la explicación, predicción y control de fenómenos físicos y químicos; el enfoque del estudio se lo puede relacionar a una dirección positivista, donde la generalización científica se basa en leyes naturales inmutables, según lo mencionado por Hernández (2008).

Según Dobles C. et al. (1998), la teoría de la ciencia que sostiene el positivismo se caracteriza por afirmar que el único conocimiento verdadero es aquel producido por la ciencia, particularmente con el ejemplo de su método.

Derrivando de los avances de las ciencias naturales y el empleo del método experimental desde finales del siglo XIX, se estableció el paradigma positivista como modelo de la investigación científica. Entre las principales características del paradigma positivista se encuentran la orientación nomotética de la investigación, la formulación de hipótesis, su verificación y la predicción a partir de las mismas, la sobrevaloración del experimento, el empleo de métodos cuantitativos y de técnicas estadísticas para el procesamiento de la información.

2.3. FUNDAMENTACIÓN LEGAL

El estado Ecuatoriano promovió a la soberanía alimentaria, por tal motivo se emplearon normas Ecuatorianas y extranjeras que garanticen calidad e inocuidad alimentaria.

La información de las siguientes normas servirá de soporte para el desarrollo de la investigación:

- Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 176:2003, Cacao en grano – requisitos.

- A.O.A.C Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist:

Métodos Utilizados:

Determinación de Cenizas:

PE14-5.4FQ. AOAC Ed 19, 2012 923.03

Determinación de Proteína:

PE16-5.4-FQ. AOAC Ed 19 2012 2001.11

Determinación de Humedad:

PE15-5.4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 925.10

Determinación de Grasa:

PE17-5.4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 2003.06

Determinación de Fibra Dietética Total:

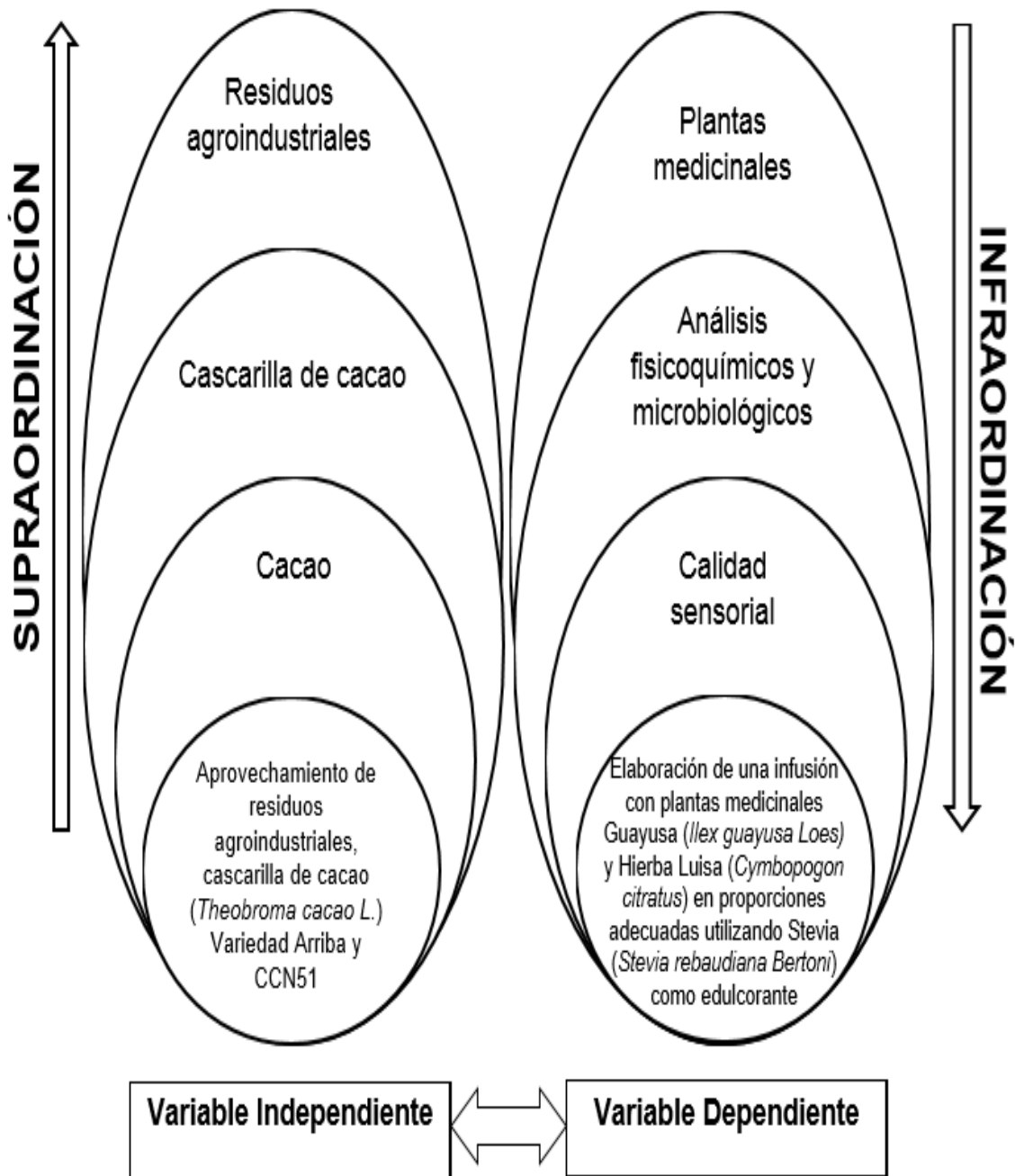
AOAC 985.29. Ed 19, 2012

- Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 1114: Café soluble. Determinación de pérdida por calentamiento.
- Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 2392-2013 Hierbas aromáticas requisitos.
- Norma Técnica Ecuatoriana INEN, ISO 3103 Té - Preparación de la infusión para uso en el análisis sensorial.

- Norma Técnica Ecuatoriana INEN-ISO, 1842:2013 Productos vegetales y de frutas. Determinación de pH (IDT).
- Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 381 Conservas vegetales. Determinación de la Acidez Titulable. Método potencio métrico de referencia.
- Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 1529-5 Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos.
- Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 1529-11:98 Control microbiológico de alimentos mohos y levaduras viables detección.
- Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 1529-7:2013 Control Microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de recuento de colonias.
- Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 1529-14:2013 Control microbiológico de los alimentos *Staphylococcus aureus*. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie.

2.4. CATEGORÍAS FUNDAMENTALES

Gráfico 3: Categorías fundamentales



Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

2.4.1. Marco Teórico de Variable Independiente

2.4.1.1. Cacao

El cacao (*Theobroma cacao*), es originario de América tropical del alto Amazonas, su historia se remonta al tercer milenio antes de Cristo hace más de 2000 años. Civilizaciones del sur de México y América central como los Olmecas, Mayas y Aztecas fueron los primeros pueblos en reconocer y utilizar las valiosas cualidades de la almendra de cacao adaptándola a su alimentación diaria, consumían el cacao en forma de chocolate, también usaban su grasa como ungüento y sus semillas como moneda de intercambio. Incluso inventaron bebidas mezclando almendras de cacao con otras semillas como el zapote, maíz, zune, la llamaban el “alimento de los dioses” dándose los primeros hallazgos en México (Enríquez G., 2001).

2.4.1.2. Variedades de cacao

A nivel mundial se conocen cacaos tipo: criollo, forastero amazónico, trinitario y nacional del Ecuador denominado fino de aroma (Rodríguez et al., 2010).

Según datos de la Organización Internacional de Cacao, en Ecuador la variedad de cacao nacional, “fino de aroma”, representa el 75% de la producción, la diferencia corresponde a los ordinarios ICCO (2012). El cacao ecuatoriano es reconocido mundialmente por sus características de aroma y color para la preparación de derivados FLACSO-MIPRO (2012), por ello el 22 de julio de 2005 el cacao fino, de aroma fue declarado “Producto simbólico del Ecuador” mediante Acuerdo Ministerial N°. 070 del Ministro de Agricultura y Ganadería.

Además, en Ecuador existe una variedad conocida comúnmente como CCN-51 (Colección Castro Naranjal - 51), por el agrónomo Homero Castro Zurita quien después de varias investigaciones logró obtener en 1965 el tipo 51, tolerante a las enfermedades, de alta productividad y calidad. Esta

variedad es un cacao clonado que el 22 de junio del 2005 fue reconocido mediante Acuerdo Ministerial N°40 por registrar una alta productividad, aunque es considerado como cacao ordinario (Revista judicial, 2005).

2.4.1.3. Procesamiento del cacao

En la industria alimentaria, el procesamiento de las semillas de cacao consta de varias etapas. En el campo, el productor se encarga de cultivar el fruto y de su limpieza, luego se rompe la cáscara y el mucílago es extraído para la obtención del grano de cacao (Beckett, 2008).

Una vez extraído el grano de cacao, este puede sufrir una etapa de fermentación, donde se producen distintos químicos que le dan un sabor y olor característicos, esenciales para sus subproductos tales como el chocolate. Seguidamente, los granos se llevan al secado donde son expuestos al sol (si el clima lo permite) o en máquinas de secado, para reducir la humedad del grano hasta un 6 u 8%. Finalmente, las semillas son transportadas a la industria en sacos de aproximadamente 60 kg vigilando constantemente la humedad del lugar de almacenamiento (Beckett, 2008).

El primer paso del procesamiento del cacao en la planta industrial es la limpieza del grano, aquí se remueven las impurezas para asegurar el rendimiento de operaciones posteriores y la calidad del producto. En esta etapa se combinan diferentes métodos para la remoción de todos los contaminantes: succión para extraer tierra y rocas livianas, imanes para retirar metales y vibración para eliminar rocas pesadas (De La Mota, 2007).

Luego de la limpieza existen variantes en el tratamiento del grano, dependiendo principalmente, de la utilidad o especificaciones que se requieran en el producto. Estas variaciones se refieren al orden en que son ejecutadas las operaciones (Beckett, 2008).

En el gráfico 5 se muestra un esquema de los diferentes procedimientos y órdenes en que son ejecutados los procesos para el tratamiento del grano

de cacao. Se observan tres opciones de tostado: el tostado del grano completo (cascarilla y grano), el tostado del grano solamente (luego del descascarillado) y el tostado del licor de cacao. El tostado es responsable del sabor característico de los subproductos como el chocolate, además permite remover la humedad remanente en el grano y elimina adicionalmente cualquier contaminante microbiológico. El pre-tratamiento térmico consiste en la exposición rápida de la semilla a una fuente de calor intensa como vapor o radiación. Es importante notar que este proceso no afecta el sabor ni la calidad del grano debido a su corta y rápida acción (Beckett, 2008).

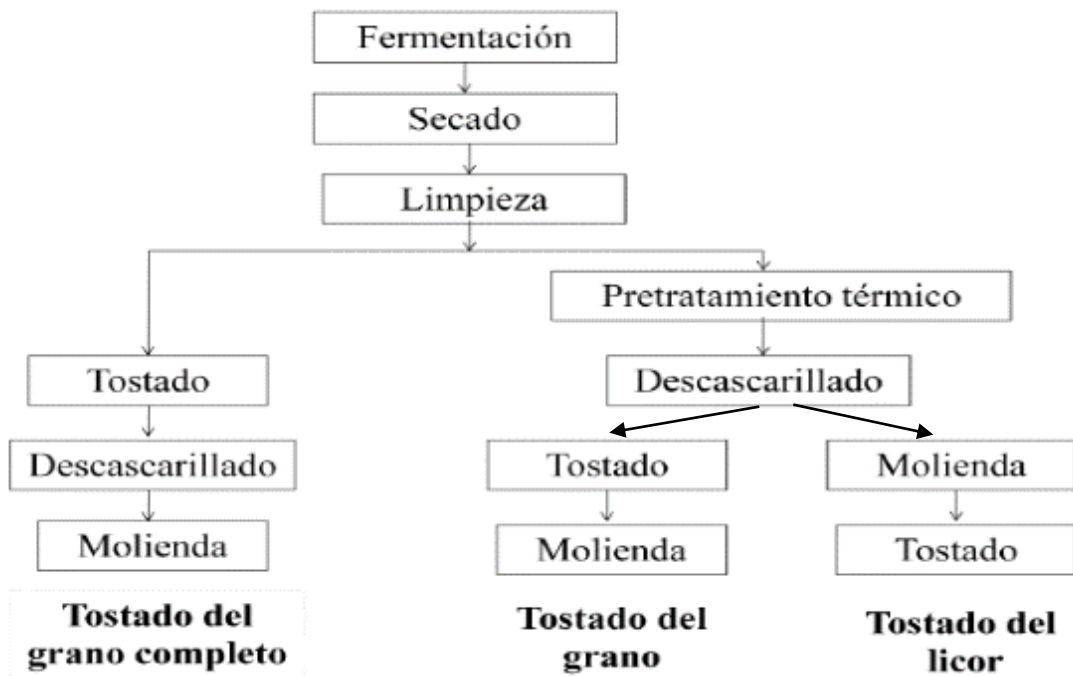


Gráfico 4: Esquema donde se muestra los métodos del tostado del grano completo, grano y licor de cacao.

Fuente: Beckett (2008)

Para el descascarillado de la semilla, esta debe someterse a algún proceso térmico. De esta manera, la humedad que pierde el grano ejerce una presión en la cascarilla, separándola del mismo. Luego, por vibración, esta cascarilla es desviada de la línea principal de producción quedando como un producto de desecho (De La Mota, 2007).

2.4.1.4. Cascarilla de cacao

El cacao en grano se obtiene a partir de las semillas del cacao. De este cacao se puede producir cuatro subproductos (licor de cacao, manteca de cacao, pasta de cacao y cacao en polvo) y productos finales como el chocolate y sus derivados a través de diferentes procesos industriales.

Para llegar a obtener estos productos intermedios así como también el producto final, el grano de cacao es secado, fermentado y sometido al proceso de tostado, obteniendo como residuo de este proceso la cascarilla de cacao.

El cacao en grano se obtiene a partir de las semillas del cacao, estas semillas representan aproximadamente un 10% del peso del fruto fresco (Murillo, 2008).

La cascarilla de cacao nutricionalmente aporta como todo alimento con macronutrientes (proteínas, carbohidratos, lípidos) y micronutrientes (vitaminas y minerales). Este desecho agro-industrial se considera como una fuente baja de energía debido a que presenta niveles de energía digestible menor a 2500 kcal/kg; que es la base de la fibra para la nutrición animal (López, 2013).

Los valores típicos de la composición de la cascarilla se muestran en la tabla 2.

Tabla 2: Valores típicos de la composición de cascarilla de cacao

Composición	Valores (%)
Humedad	5,4-15,3
Proteína cruda*	6,3-10,4
Fibra cruda*	23,4-36,2
Componentes del extracto etéreo*	0,5-2,4
Extracto libre de nitrógeno *	31,8-61,4
Cenizas*	6,0-10,8

*Valores expresados en base seca.

Fuente: EFSA (2008)

2.4.1.5. Residuos agroindustriales

Residuos agroindustriales son productos secundarios que se obtienen al procesar cereales, algas, frutas y verduras, entre otros (Nigam & Pandey, 2009); los residuos agroindustriales se componen de piel y semillas de diferentes formas y tamaños que normalmente no tienen más uso y son comúnmente desechados (Ayala-Zavala, et al., 2010). Los residuos agroindustriales contienen valiosas sustancias como azúcares, ácidos orgánicos, proteínas, compuestos fenólicos, fibra dietaria, vitaminas y minerales, que pueden ser de interés en las industrias alimentaria, farmacéutica, química y cosmética (Vélez, et al., 2009). Por ejemplo el polvo obtenido a partir de la piel de frutas, puede ser utilizado como fuente de fibra dietaria y antioxidante, que puede añadirse a productos de panadería, cárnicos y otros productos alimenticios (Samonte & Trinidad, 2013).

2.4.2. Marco teórico de la Variable Dependiente

2.4.2.1. Plantas medicinales

Las plantas medicinales deben su acción a ciertos componentes denominados principios activos. Desde que el hombre empezó a utilizar las plantas medicinales, los científicos han intentado descubrir cuáles eran los componentes responsables de sus propiedades curativas (Quer, 1964).

La producción agrícola de plantas medicinales en el sistema campesino constituye una actividad secundaria a la que se dedican básicamente las mujeres. En realidad son pocos los casos de cultivos desarrollados con técnicas modernas de producción; probablemente, esto solo lo realizan las empresas como RENESA, Aromas Tungurahua y Agrotrading. En el mercado de los Estados Unidos, Canadá y la Unión Europea los almacenes especializados de productos orgánicos y medicinales ofrecen en un mínimo porcentaje de plantas aromáticas y medicinales a granel en fundas de 30 a

150 gramos con un rotulado exterior con las indicaciones de uso del producto.

En el Ecuador se calcula que al menos 2300 familias campesinas son productoras de plantas medicinales. En el 2005, el Ecuador exportó alrededor de 6 millones de dólares, a partir de 10 subproductos derivados de hierbas naturales y plantas medicinales y condimentos, alcanzando una participación del 0,06% en el mercado mundial (Cholota, 2011).

2.4.2.2. Análisis fisicoquímicos

El análisis de las propiedades fisicoquímicas de los alimentos es uno de los aspectos principales en el aseguramiento de su calidad. Este análisis cumple un papel muy importante en la determinación del valor nutricional de los alimentos, en el control del cumplimiento de los parámetros exigidos por los organismos de salud y también para el estudio de las posibles irregularidades como adulteraciones, falsificaciones, etc. tanto en alimentos terminados como en sus materias primas.

Es necesario realizar un análisis de alimentos para asegurar que sean aptos para el consumo humano y para asegurar que cumplen con las características y composición que se espera de ellos.

El análisis físico-químico implica la caracterización de los alimentos desde el punto de vista fisicoquímico, haciendo énfasis en la determinación de su composición química, es decir determinar que sustancias están presentes en un alimento (proteínas, grasas, vitaminas, minerales, carbohidratos, contaminantes metálicos, residuos de plaguicidas, toxinas, antioxidantes, etc.) y en qué cantidades se encuentran (Zumbado, 2005).

2.4.2.3. Análisis sensorial

El análisis sensorial es el conjunto de técnicas y métodos que permite medir, a través de los órganos de los sentidos, cuanto se percibe de cualquier producto o servicio. Dichas así las cosas, el término análisis sensorial parecería casi sinónimo de cata y degustación. En realidad aún presentando muchas semejanzas, existen sustanciales diferencias Ratti (2000).

2.4.2.4. Análisis microbiológicos: Unidades Formadoras de Colonia (UFC).

Se denomina unidad formadora de colonia (UFC) a una célula viva y aislada que se encuentra en un substrato y en condiciones ambientales adecuadas produce una colonia en un breve lapso de tiempo Pisabarro (2003).

Además, el número de Unidades Formadoras de Colonias es un valor que indica el grado de contaminación microbiológica de un ambiente o muestra. UFC es el número mínimo de células separables sobre la superficie, o dentro, de un medio de agar semi-sólido que da lugar al desarrollo de una colonia visible del orden de decenas de millones de células descendientes (Trevlean, 2010).

2.4.2.5. Estimación de la vida útil microbiológica: uso de herramientas predictivas.

Según Alvarado et al. (2005), la determinación o el cálculo del tiempo de vida útil de alimentos, es decir el tiempo que el producto mantiene una buena condición para su comercialización y consumo, es un campo de gran importancia para la Ingeniería de Alimentos. Los datos son muy útiles para productores, comercializadores e industrias procesadoras; además, en los últimos años las regulaciones legales exigen se incluya en las etiquetas

datos informativos para el consumidor, entre los cuales está la fecha de caducidad del producto.

Según Sancho (2002), todo producto alimenticio se deteriora con el tiempo hasta un punto en el que su calidad llega a un límite que no lo hace apto para consumo, ya sea porque sufre algún tipo de contaminación microbiológica o química, o porque pierde ciertas características buscadas o exigidas por el consumidor, ya sean éstas sensoriales o físicas.

2.5. HIPÓTESIS

2.5.1. Hipótesis nula (H₀)

La utilización de la variedad de cascarilla de cacao, la variedad de hierba medicinal, porcentaje de cascarilla y edulcorante no tienen influencia significativa sobre la evaluación sensorial, análisis fisicoquímicos y análisis microbiológicos en la elaboración de una infusión

2.5.2. Hipótesis alternativa (H_a)

La utilización de la variedad de cascarilla de cacao, la variedad de hierba medicinal, porcentaje de cascarilla y edulcorante tienen influencia significativa sobre la evaluación sensorial, análisis fisicoquímicos y análisis microbiológicos en la elaboración de una infusión

2.6. SEÑALAMIENTO DE VARIABLES

Variable independiente:

- Variedad de cascarilla de cacao.
- Variedad de hierbas medicinales.
- Porcentaje de cascarilla.
- Edulcorante

Variable dependiente:

- Evaluación sensorial
- Análisis fisicoquímico
- Análisis microbiológico

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE

El enfoque que se manejó en esta investigación es tanto cuantitativo como cualitativo debido a que se lo realizó mediante revisiones bibliográficas y experimentales; se efectuó una medición controlada de los datos a obtenidos, por medio de un análisis físico-químico, microbiológico, y evaluación sensorial del producto terminado.

Los datos obtenidos en el presente trabajo se analizaron estadísticamente mediante el programa Excel 2010 y Statgraphics Centurion XVI.

3.2. MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN

En el presente trabajo de investigación se utilizó dos modalidades de investigación mencionadas por Herrera et al. (2008):

a) Investigación de campo.- Se llevó a cabo el estudio sistemático de los hechos en el lugar donde se produjo la investigación. En esta modalidad se toma contacto en forma directa con la realidad (fuentes primarias), donde se obtuvo información de acuerdo con los objetivos del proyecto.

Para la investigación de campo se utilizó las siguientes técnicas:

- **Observación científica:** Se observó con un objetivo claro, definido, preciso, en donde se supo lo que se desea observar y para que se quiso

hacerlo, lo cual implica que se debe preparar cuidadosamente el análisis a fin de conseguir resultados satisfactorios.

- **Encuesta:** Esta técnica permitió obtener datos de varias personas, la cual fue información importante para esta investigación.

b) Investigación documental-bibliográfica.- El trabajo de investigación se apoyó en análisis teóricos contextuales y fuentes de investigación en donde se extrajo información de libros, revistas, tesis, artículos, proyectos, internet entre otros.

c) Modalidad experimental.- La experimentación conllevó realizar una evaluación de las características que contribuye a la calidad de la infusión de cada uno de los tratamientos establecidos, para analizar las causas y efectos de las variables de estudio que relacionaron la variable dependiente e independiente; el trabajo se realizó en los laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

3.3. NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN

Según Herrera et al. (2008), es de suma importancia tomar en cuenta el nivel de investigación, pues cada uno de ellos tiene características específicas y objetivas que se articulan con los objetivos tomados en cuenta para la investigación. La investigación se fundamenta en la utilización de los siguientes tipos de investigación:

a) Explorativa.- Se basó en la elaboración del producto con los factores y variables indicadas, para ello se realizó un análisis sensorial, que permitió elegir los mejores tratamientos, los mismos que fueron sometidos a análisis microbiológicos para observar el tiempo de vida útil, por tanto los resultados constituyen un aporte valioso al campo de la investigación de alimentos.

b) Correlacional.- Se refiere al grado de relación (no causal) que existe entre dos o más variables. Se utilizó este nivel para realizar este tipo de

investigación porque se midió la asociatividad de las variables mediante pruebas de hipótesis y se aplicó técnicas estadísticas, que determinaron el aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad Arriba y CCN51 en la elaboración de una infusión con plantas medicinales Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) y Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*) en proporciones adecuadas utilizando Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante.

3.4. POBLACIÓN Y MUESTRA

Según Saltos H. (1993), del mismo modo que para el éxito de una empresa se requiere aplicar una buena estrategia de financiamiento y mercadeo, la ejecución de una investigación científica o tecnología eficiente necesitará de un adecuado diseño experimental.

3.4.1. Diseño experimental

Según (Saltos H. , 2010), La investigación responderá a un diseño experimental completamente aleatorio con arreglo factorial 2^4 , con tres réplicas, determinándose un número de dieciseis tratamientos más un control o testigo, este diseño experimental, permitirá evaluar efectos combinados o interacciones entre los factores.

Modelo Matemático

$$Y_{ijklh} = \mu + A_i + B_j + C_k + D_l + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (AD)_{il} + (BC)_{jk} + (BD)_{jl} + (CD)_{kl} + (ABC)_{ijk} + (ABD)_{ijl} + (ACD)_{jkl} + (BCD)_{jkl} + (ABCD)_{ijkl} + R_h + \varepsilon_{ijklh}$$

Donde:

μ = Efecto global

A_i = Efecto principal del factor A; $i=1,2$

B_j = Efecto principal del factor B; $j=1,2$

C_k = Efecto principal del factor C; $k=1,2$

D_l = Efecto principal del factor D; $l=1,2$

$(AB)_{ij}$ = Efecto de la interacción doble entre los factores A y B

$(AC)_{ik}$ = Efecto de la interacción doble entre los factores A y C

$(AD)_{il}$ = Efecto de la interacción doble entre los factores A y D
 $(BC)_{jk}$ = Efecto de la interacción doble entre los factores B y C
 $(BD)_{jl}$ = Efecto de la interacción doble entre los factores B y D
 $(CD)_{kl}$ = Efecto de la interacción doble entre los factores C y D
 $(ABC)_{ijk}$ = Efecto de la interacción triple entre los factores A, B y C
 $(ABD)_{ijl}$ = Efecto de la interacción triple entre los factores A, B y D
 $(ACD)_{ikl}$ = Efecto de la interacción triple entre los factores A, C y D
 $(BCD)_{jkl}$ = Efecto de la interacción triple entre los factores B, C y D
 $(ABCD)_{ijkl}$ = Efecto de la interacción cuádruple entre los factores A, B, C y D
 R_h = Efecto de las réplicas; $h=1, \dots, r$
 ϵ_{ijklh} = Efecto residual

A continuación en la Tabla 3 se detalla los factores y niveles que se van a tomar en cuenta para el diseño experimental.

Tabla 3: Factores y niveles del Proyecto de investigación

Variable	Nivel	
	BAJO(-)	ALTO(+)
Factor A (Variedad de cascarilla)	CCN51	Arriba
Factor B (Variedad de hierba)	Hierba Luisa	Guayusa
Factor C (% de cascarilla)	70	90
Factor D (Edulcorante)	sin Stevia	con Stevia

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

La tabla 4 detalla los factores y niveles que se tomaron en cuenta para el diseño experimental.

Tabla 4: Combinación de los niveles correspondientes a los factores de estudio.

#	Tr	Descripción de los factores
1	1	Variedad de cascarilla CCN51, con hierba Luisa, al 70 % de cascarilla y sin Stevia
2	a	Variedad de cascarilla Arriba, con hierba Luisa, al 70 % de cascarilla y sin Stevia
3	b	Variedad de cascarilla CCN51, con guayusa, al 70 % de cascarilla y sin Stevia
4	ab	Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 70 % de cascarilla y sin Stevia
5	C	Variedad de cascarilla CCN51, con hierba Luisa, al 90 % de cascarilla y sin Stevia
6	ac	Variedad de cascarilla Arriba, con hierba Luisa, al 90 % de cascarilla y sin Stevia
7	bc	Variedad de cascarilla CCN51, con guayusa, al 90 % de cascarilla y sin Stevia
8	abc	Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y sin Stevia
9	d	Variedad de cascarilla CCN51, con hierba Luisa, al 70 % de cascarilla y con Stevia
10	ad	Variedad de cascarilla Arriba, con hierba Luisa, al 70 % de cascarilla y con Stevia
11	bd	Variedad de cascarilla CCN51, con guayusa, al 70 % de cascarilla y con Stevia
12	abd	Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 70 % de cascarilla y con Stevia
13	cd	Variedad de cascarilla CCN51, con hierba Luisa, al 90 % de cascarilla y con Stevia
14	acd	Variedad de cascarilla Arriba, con hierba Luisa, al 90 % de cascarilla y con Stevia
15	bcd	Variedad de cascarilla CCN51, con guayusa, al 90 % de cascarilla y con Stevia
16	abcd	Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y con Stevia
17	Testigo	Variedad de cascarilla Arriba, sin plantas medicinales, 100% cascarilla y sin Stevia

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Las respuestas experimentales físico-químicas que se analizaron en la infusión fueron:

- Polifenoles en la materia prima.
- pH y acidez
- Humedad
- Análisis sensorial
- Análisis microbiológico
 - Recuento aerobios mesófilos.
 - Mohos y levaduras
 - *Escherichia coli*
 - *Staphylococcus aureus*.
- Vida útil
- Análisis proximal en el producto terminado
 - Cenizas
 - Proteína
 - Fibra dietética
 - Grasa
 - Carbohidratos totales
 - Energía

3.5. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Tabla 5: Variables independientes: Variedad de cascarilla de cacao, Variedad de hierbas medicinales, Porcentaje de cascarilla y Edulcorante

Descripción	Conceptualización	Categoría	Indicadores	Ítems	Técnicas e Instrumentos
Variedad de cascarilla de cacao	El grano de cacao es secado, fermentado y sometido al proceso de tostado, obteniendo como residuo de este proceso la cascarilla de cacao.	Residuo agroindustrial	Variedad CCN51 Variedad Arriba	¿Influirá la variedad de cascarilla de cacao en la evaluación sensorial y análisis fisicoquímicos de la infusión?	<ul style="list-style-type: none"> – Revisión bibliográfica – % Humedad – pH: INEN-ISO, 1842 – Extracción de materia grasa.
Variedad de hierbas medicinales	Son aquellas que pueden emplearse en el tratamiento de una afección, las partes o los extractos de estas plantas son utilizados en infusiones.	Plantas ornamentales	Hierba Luisa Guayusa	Influirá la variedad de hierbas medicinales en la evaluación sensorial y análisis fisicoquímicos de la infusión?	<ul style="list-style-type: none"> – Determinación de polifenoles mediante reacción colorimétrica – Estufa, pHmetro soxhlet, Espectrofotómetro UV-VIS. Reactivo folin Ciocalteu.
Porcentaje de cascarilla	Este desecho agro-industrial se considera como una fuente baja de energía debido a que presenta niveles de energía digestible menor a 2500 kcal/kg	Porcentaje: 70% 90%	Peso en gramos	Influirá el porcentaje de cascarilla de cacao en la evaluación sensorial de los catadores semi entrenados?	<ul style="list-style-type: none"> – Evaluación sensorial. – Panel de catadores. – Hojas de Catación – Balanza analítica.
Edulcorante	La Stevia es una planta increíblemente dulce, sustituto del azúcar y los edulcorantes artificiales, ya que aporta cero calorías en la dieta alimentaria.	Edulcorante natural	Peso en gramos	Influirá el edulcorante en la evaluación sensorial de los catadores semi entrenados?	<ul style="list-style-type: none"> – Hojas de Catación – Balanza analítica.

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla 6: Variable dependiente:

Evaluación sensorial, Análisis fisicoquímico y Análisis microbiológico.

Descripción	Conceptualización	Categoría	Indicadores	Ítems	Técnicas e Instrumentos
Evaluación sensorial	Es un instrumento eficaz para el control de calidad y aceptabilidad de un alimento, cuando éste se requiere comercializar	Color Aroma Sabor Aceptabilidad	<ul style="list-style-type: none"> - Me disgusta - Me disgusta ligeramente - Ni me gusta ni me disgusta - Me gusta ligeramente - Me gusta 	¿Cuáles serán las características sensoriales que presenten los mejores tratamientos en función de la percepción de los catadores en la infusión?	<ul style="list-style-type: none"> - INEN, ISO 3103 - Panel de catación - Hojas de catación - Encuestas
Análisis fisicoquímico	Control de cumplimiento de los parámetros exigidos por los organismos de la salud y también para el estudio de posibles adulteraciones en el alimento.	Propiedades fisicoquímicas	% Humedad pH Acidez titulable	¿La Humedad, pH y acidez afecta a la infusión?	<ul style="list-style-type: none"> - pH: INEN-ISO, 1842 - Acidez titulable: INEN, 381 - Estufa, pHmetro
Microbiológico	Un criterio microbiológico para alimentos define la aceptabilidad de un proceso, producto o lote de alimentos basándose en la ausencia o presencia o el número de microorganismos	Microbiología	El recuento microbiano en ufc/g Tiempo de vida útil en días	¿El recuento microbiano del producto se encuentra dentro de los límites permisibles?	<ul style="list-style-type: none"> - INEN, 1529-5 - INEN, 1529-11:98 - INEN, 1529-7:2013 - INEN, 1529-14:2013 - Modelo de Arrhenius

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

3.6. PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

La recolección de la información se realizó en los Laboratorios de: Tecnología de Cereales, Biotecnología de Procesos, Ingeniería de Procesos de Alimentos, Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA) y Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL) de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, de la Universidad Técnica de Ambato

Preparación de la materia prima

Se empleó cacao fermentado (*Theobroma cacao* L.) variedad Arriba y CCN51 provenientes de la Asociación de productores de Cacao APROCAI, ubicado en el Cantón Cumandá de la provincia de Chimborazo-Ecuador. Se realizó el secado hasta que alcanzo un 7% de humedad, para tostarlo a 140°C por 60 minutos, luego se realizó el descascarillado.

Las plantas medicinales y edulcorante se adquirió en hojas secas que tenían una humedad entre 9% y 12%.

Extracción de grasa

La materia grasa es extraída con éter de petróleo mediante extracción continua en Soxhlet por 12 horas, se recupera el solvente del extracto etéreo y a continuación se seca la grasa en una estufa a 105°C por dos horas, la grasa seca se pasa a un desecador a enfriar y se pesa (Anexo D-1).

Determinación de polifenoles totales

Los polifenoles totales son extraídos con una solución acuosa de metanol al 70%, mediante agitación magnética continua por 45 minutos, el extracto obtenido se filtra, se toma una alícuota del mismo y se realiza una reacción colorimétrica con el reactivo de Folin&Ciocalteu con el cual se obtiene una

coloración azul, la misma que es cuantificada en un espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 760 nm (Anexo D-2).

Análisis fisicoquímicos

La metodología que se utilizó para los análisis fisicoquímicos se basó en las siguientes normas y métodos:

- Norma Técnica Ecuatoriana INEN-ISO, 1842:2013 Productos vegetales y de frutas. Determinación de pH (IDT).

Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 381 Conservas vegetales. Determinación de la Acidez Titulable. Método potencio métrico de referencia

- A.O.A.C Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist:

Determinación de Cenizas: PE14-5.4FQ. AOAC Ed 19, 2012 923.03

Determinación de Proteína: PE16-5.4-FQ. AOAC Ed 19 2012 2001.11

Determinación de Humedad: PE15-5.4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 925.10

Determinación de Grasa: PE17-5.4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 2003.06

Determinación de Fibra Dietética Total: AOAC 985.29. Ed 19, 2012

Análisis sensorial

Se efectuó el análisis sensorial a los tratamientos resultantes de la infusión con un diseño factorial de bloques incompletos, los tratamientos fueron evaluados por un total de veinte y cuatro catadores semi entrenados, cada

catador analizó seis muestras de forma que existieron nueve replicas para cada tratamiento.

Para la evaluación sensorial se realizó a través de hojas de catación que permitió evaluar los atributos de color, aroma, sabor y aceptabilidad (Anexo D-3).

Análisis microbiológico

Se realizó el análisis de microorganismos en los tres mejores tratamientos, en donde se realizó el conteo microbiológico (mohos y levaduras; aerobios mesofilos; *E. coli* y *Staphylococcus aureus*), se utilizó las siguientes normas:

- Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 1529-5 Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos.
- Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 1529-11:98 Control microbiológico de alimentos mohos y levaduras viables detección.
- Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 1529-7:2013 Control Microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de recuento de colonias.

Norma Técnica Ecuatoriana INEN, 1529-14:2013 Control microbiológico de los alimentos *Staphylococcus aureus*. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie.

Calculo de tiempo de vida útil

Para la determinación de la vida útil se empleó un test acelerado de tiempo a tres temperaturas diferentes (18, 25, 35 °C), durante 96 días aproximadamente, se utilizó la aproximación de Arrhenius. El primer paso una vez obtenida la población en unidades logarítmicas (\ln ufc/g) es

calcular la velocidad de crecimiento específica (μ) para cada temperatura, se graficó en las ordenadas el $\ln ufc/g$ vs tiempo (h), y a partir de esta gráfica se obtuvo la ecuación de la recta donde la pendiente es igual a la velocidad de crecimiento específica (μ). Otra forma es calculando μ en la siguiente ecuación:

$$\mu = \frac{\ln N_f - \ln N_0}{t_f - t_0} \quad (1)$$

Donde:

μ = velocidad de crecimiento específica.

$\ln N_f$ = Logaritmo natural ufc/g final.

$\ln N_0$ = Logaritmo natural ufc/g inicial.

t_f = Tiempo final de contaje de ufc/g.

t_0 = Tiempo inicial de contaje ufc/g.

Con los resultados de μ para cada temperatura procedemos a calcular las constantes del modelo de Arrhenius: energía de activación (E_a) y el factor pre-exponencial A. para este caso graficaremos en las ordenadas de $\ln \mu$ a cada temperatura y en las abscisas el recíproco de cada temperatura absoluta ($1/T$); la pendiente de la recta (m) que se obtiene es igual a: $-E_a/R$ y el intercepto es $\ln A$.

Una vez obtenidos los parámetros procedemos a calcular μ reemplazando en la ecuación de Arrhenius.

$$\ln \mu = \ln A - \left(\frac{E_a}{R - T} \right) \quad (2)$$

Donde:

$\ln \mu$ = Logaritmo natural de velocidad de crecimiento específica

$\ln A$ = Logaritmo natural de la intersección de la ecuación obtenida de la gráfica entre $\ln \mu$ vs $1/T$.

E_a = Energía de Activación obtenida de la pendiente de la ecuación obtenida de la gráfica entre $\ln \mu$ vs $1/T$.

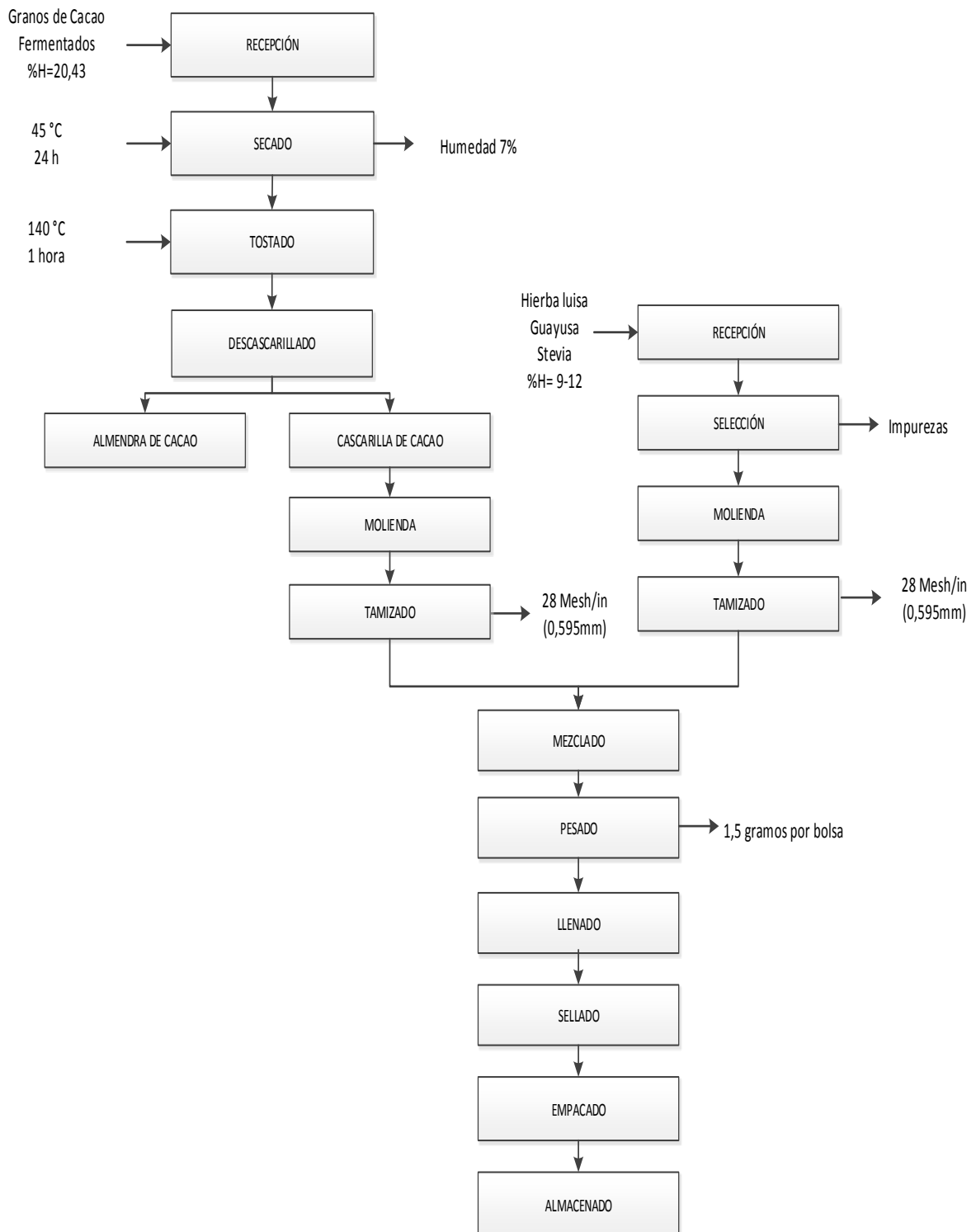
R = Constante universal de los gases.

T = Temperatura en °K.

Al sacar el inverso $\ln \mu$ se obtuvo μ ; el cual indico el incremento ufc/g por hora; se determinó el \ln ufc/g máximo reportado en normas al que tenemos que llegar. Finalmente se realizó una sencilla regla de tres dándonos el tiempo de vida útil.

3.6.1. Diagrama de flujo para el proceso de elaboración de una infusión a partir de cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Arriba y CCN51.

Gráfico 5: Diagrama de flujo para la elaboración de infusión



Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

3.6.2. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Descripción del proceso para la obtención de la cascarilla

RECEPCIÓN: Se empleó 10 Kilos de granos de cacao fermentados de la variedad arriba y CCN51 con una humedad inicial del 20,43%

SECADO: Se colocó al cacao en bandejas forradas con papel aluminio, a temperatura no mayor de 45 °C, durante un periodo aproximado de 24 horas hasta llegar a una humedad de 7 % este proceso se lo realizó en túnel de secado del laboratorio de procesamiento de alimentos de la FCIAL-UTA.

TOSTADO: Se tostó a 140 °C durante una hora en la estufa marca GEMMY Modelo YCO.

DESCASCARILLADO: Se lo realizo manualmente donde se separó la almendra de cacao de la cascarilla desde este punto se trabajó exclusivamente con la cascarilla.

MOLIDO: La molienda de cascarilla se llevó a cabo en un molino de martillos operado a 510 rpm Marca Weber Bros & White Metal Works INC., modelo 49419.

TAMIZADO: En esta operación se separó las partículas de acuerdo al tamaño en: gruesos tamiz #10, intermedios #20 y finos tamiz #30, siendo de interés para el procesamiento de la cascarilla el tamaño de partícula de 0,595 mm de 28 mesh/in, en el tamiz número 30, se utilizó el tamizador BICO, INC. Porter Sand Shaker, modelo: 5K909A.

Preparación de hierbas medicinales para la mezcla

RECEPCIÓN: Se empleó 2 kilos de hierba luisa, guayusa y 1 kilo de Stevia con una humedad entre 9 y 12%

SELECCIÓN: La calidad de los productos de hojas secas depende considerablemente de la calidad del producto entero que ese procesa por tal razón se escogió las de mejores características físicas y se retiró impurezas.

MOLIDO: La molienda de las hojas secas se llevó a cabo en un molino de martillos operado a 510 rpm Marca Weber Bros & White Metal Works INC., modelo 49419.

TAMIZADO: En esta operación se separó las partículas de acuerdo al tamaño en: gruesos tamiz #10, intermedios #20 y finos tamiz #30, siendo de interés para el procesamiento el tamaño de partícula de 0,595 mm de 28 mesh/in, en el tamiz número 30, se utilizó el tamizador BICO, INC. Porter Sand Shaker, modelo: 5K909A.

MEZCLADO: Se pesó las diferentes plantas por separado, se realizó 17 formulaciones con la variación de los porcentajes según el diseño experimental y luego se mezcló.

ELABORACIÓN DE BOLSITAS: El primer paso fue cortar un pedazo de papel de polietileno de un metro de largo, luego se lo dobló a la mitad de tal forma que ambas orillas queden exactamente iguales.

Para obtener las bolsitas es importante hacer los sellos laterales y posteriormente se corta cada una de ellas. Fue imposible obtener bolsitas del mismo tamaño y uniformidad, pero para que queden similares se recomienda usar un pedazo de cartón (3,5 cm. de ancho y 5 cm. de alto) para medir las distancias entre sellados.

LLENADO DE LAS BOLSITAS: Las bolsitas se llenó con 1,5 gramos de material molido. Es importante asegurarse que el peso es correcto, éste es un factor crítico porque es difícil encontrar una báscula que pese un gramo. Si los pesos no son uniformes, el sabor de la infusión será simple y esto puede resultar una deficiente evaluación sensorial.

SELLADO DE LAS BOLSITAS: Una vez que las bolsitas tienen el peso adecuado, se introduce la punta del hilo de cáñamo dentro de la bolsita y se procede a sellarla (se recomienda doble sellado), el largo del hilo es de 20 cm; si se usa un hilo muy delgado, se corre el riesgo de que el mismo se desprenda al colocarse el agua caliente.

Las pruebas indican que las bolsitas resisten calentamientos de 2 min sin romperse. Si el sellado es adecuado, los hilos quedan bien adheridos a la bolsita.

EMPAQUE: La mayoría de empresas comerciales utilizan las cajas troqueladas a todo color para empacar las bolsitas de té (selladas con una capa externa de polipropileno o con plástico termoencogible); otras usan bolsas plásticas de polietileno de alta densidad y otras solo empacan en polietileno los paquetes de té.

3.7. PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACION

Se utilizó para el análisis de datos los paquetes informáticos de Microsoft Office: Word 2010 y Excel 2010. Además de paquetes estadísticos autorizados como: STATGRAFICS CENTURION XVI.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

Los análisis de extracción de grasa, % Humedad, pH, polifenoles totales, evaluación sensorial y microbiológicos se determinó en los Laboratorios de: Tecnología de Cereales, Biotecnología de Procesos, Ingeniería de Procesos de Alimentos y UOITA; y en LACONAL se obtuvo el análisis proximal del mejor tratamiento y testigo; todos los análisis se los realizó en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, de la Universidad Técnica de Ambato, los resultados se presentan en los Anexos A, B y C

4.2. INTERPRETACIÓN DE DATOS

4.2.1. Análisis del porcentaje de humedad en la materia prima

La humedad en la materia prima de infusiones es un parámetro importante en la calidad de la misma. Debido a su naturaleza higroscópica esta materia prima puede contaminarse fácilmente durante su manejo. Con un porcentaje elevado de humedad se beneficia el crecimiento microbiológico, lo que se traduce en un deterioro de material. (Macrae et al., 2003).

El contenido de humedad obtenida en la cascarilla CCN51 con promedio de tres réplicas fue de 9,85% y en la cascarilla variedad Arriba fue de 9,75%, mientras que en las muestras de hierba luisa fue de 9,55% y en guayusa 10,03%, respectivamente como se observa en la tabla A1 del anexo A.

Según COVENIN (1980) está en un rango de 10-12% de humedad

4.2.2. Determinación de grasa en materia prima

El contenido de grasa encontrado en la cascarilla CCN51 con promedio de tres réplicas fue de 3,06% y en la cascarilla variedad Arriba fue de 5,37%.

Según estudios previos realizados por Lecumberri et al., (2007) en la cascarilla de cacao esta tiene un rango del 1 al 6%, lo que se corrobora con los resultados obtenidos en los ensayos.

Mientras que en las muestras de hierba luisa y guayusa no se encontró contenido de grasa, como se observa en la tabla A2 del anexo A.

4.2.3. Determinación de pH en la materia prima

El pH es un símbolo que indica si una sustancia es ácida, neutra o básica. El pH se calcula por la concentración de iones de hidrogeno, y es un factor que controla la regulación de muchas reacciones químicas, bioquímicas y microbiológicas. (Pisabarro, 2003)

El contenido de pH encontrado en la cascarilla CCN51 con promedio de tres réplicas fue de 6,79 y en la cascarilla variedad Arriba fue de 6,91%. Mientras que en las muestras de hierba luisa fue de 6,96 y guayusa 6,53, como se observa en la tabla A3 del anexo A.

4.2.4. Análisis de polifenoles (mg Ac gálico /g) en la materia prima

El resultado promedio de tres réplicas del análisis de polifenoles totales en las muestras de cascarilla de cacao variedades CCN51 y Arriba, en hierba luisa y guayusa (Tabla A5 del anexo A) fueron de 9,77; 11,35; 4,68 y 6,62 mg ácido gálico/g, respectivamente. Cabe señalar que se realizó una curva de estándar de calibración con Ac. Gálico Tabla A4 y en la Figura C1; para cascarilla de cacao las mediciones se realizaron en muestras desengrasadas y se reportan en la Tabla A5 del anexo A.

Según Camino (2014) el análisis de polifenoles totales en las muestras de cacao nacional varia entre 33,55 a 62,89 mg de Ac. Gálico/g; se comparó con los resultados obtenidos en cascarilla de CCN51 tuvo un 29,12% a 15,54% mg de Ac. Gálico/g y la cascarilla Arriba tuvo 33,83% a 18,05% mg de Ac. Gálico/g

4.2.5. Análisis de pH en la infusión

Se realizó mediciones de pH para cada tratamiento. Los datos se reportan en las Tablas A6 (Anexo A) y son el promedio de tres determinaciones. Este parámetro permite controlar el proceso de descomposición de la infusión debido a que los microorganismos sólo pueden crecer en un rango estrecho de pH.

En la Tabla B1 (Anexo B), se reporta el análisis de varianza de las medidas de pH, a un intervalo del 95% de nivel de confianza, se demuestra que existen diferencias significativas entre la variedad de cascarilla (Factor A), variedad de hierba (Factor B), porcentaje de cascarilla (Factor C) y el edulcorante (Factor D), que influyen significativamente sobre la respuesta experimental; al igual que el efecto combinado de los mismos.

4.2.6. Análisis de acidez en la infusión

Los datos determinados para la acidez se reportan en las Tabla A7 (Anexo A), los resultados de Acidez Titulable en los distintos tratamientos para la elaboración de la infusión se expresaron en % de Ac. Cítrico.

En el Anexo B, se muestra la Tabla B2 la cual evidencia que en un intervalo del 95% de nivel de confianza no existen diferencias significativas en el % de Ac. Cítrico, entre la variedad de cascarilla (Factor A), variedad de hierba (Factor B), porcentaje de cascarilla (Factor C) y el edulcorante (Factor D), lo que significa que estos factores no influyen sobre la respuesta experimental; al igual que el efecto combinado de los mismos.

4.2.7. Análisis de porcentaje de humedad en la infusión

Los resultados para el % de humedad se reportan en la Tabla A8 (Anexo A), los cuales se midió por triplicado.

En la Tabla B3 del Anexo B, se muestra que a un intervalo del 95% de nivel de confianza, los factores: variedad de cascarilla (Factor A), variedad de hierba (Factor B) y edulcorante (Factor D), producen diferencias significativas sobre la respuesta experimental en % de humedad, al igual que el efecto combinado de los mismos en los tratamientos

4.2.8. Evaluación sensorial

4.2.8.1. Color

El análisis de varianza efectuado sobre los valores del atributo color de la infusión elaborada (Tabla B4, Anexo B), muestran que a un intervalo de confianza del 95%, no existen diferencias significativas entre los Tratamientos experimentales (A) detectadas por los catadores y no se encontró diferencia entre los Catadores (B).

La prueba de múltiple rangos de Tukey (Tabla B5, Anexo B), muestra que el tratamiento abcd (Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y con Stevia) tiene mayor valoración para este atributo sensorial con una media de 3,993; seguido por los tratamientos abc (Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y sin Stevia) con un valor de media de 3,951. Por lo tanto los valores de nivel alto ayudan a mejorar el color en la infusión.

4.2.8.2. Aroma

En la Tabla B6 (Anexo B), se reporta el análisis de varianza efectuado sobre los valores del atributo aroma de la infusión evaluado por los catadores. A un intervalo de confianza al 95%, muestra que existe diferencia significativa en los Tratamientos experimentales (A) y no existe diferencia significativa en Catadores (B).

En la Tabla B7 (Anexo B), se muestra la prueba de múltiple rangos de Tukey para todos los tratamientos. El tratamiento que tiene mayor valoración es abcd (Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y con Stevia) con una media de 4,069; seguido del tratamiento abc (Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y sin Stevia) con un valor de media de 3,65. Se nota la influencia de los valores de nivel alto que ayudan a mejorar el aroma en la infusión por la presencia de polifenoles propios, altamente perceptibles para los catadores.

4.2.8.3. Sabor

En la Tabla B8 (Anexo B), se reporta el análisis de varianza efectuado sobre los valores del atributo sabor de la infusión evaluado por los catadores, a un intervalo de confianza al 95%. Dicha Tabla muestra que existen diferencias significativas en los Tratamientos experimentales (A) y no se encontró diferencia en Catadores (B).

En la Tabla B9 (Anexo B), se muestra la prueba de múltiple rangos de Tukey para todos los tratamientos. El tratamiento abcd (Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y con Stevia) tiene la mayor valoración con una media de 4,97 siendo el de mayor predilección por parte de los catadores en cuanto al sabor (5: me gusta), seguido del tratamiento: bcd (Variedad de cascarilla CCN51, con guayusa, al 90 % de cascarilla y con Stevia) con una media de 4,15. Por lo tanto la utilización de

un porcentaje alto de cascarilla y un nivel alto de edulcorante permite obtener mejores cualidades en cuanto al sabor

4.2.8.4. Aceptabilidad

En la Tabla B10 (Anexo B), se reporta el análisis de varianza efectuado sobre los valores del atributo aceptabilidad de la infusión evaluado por los catadores. A un intervalo de confianza al 95%, se observa que existen diferencias significativas en los Tratamientos experimentales (A) y no se encontró diferencia en Catadores (B).

En la Tabla B11 (Anexo B), se muestra la prueba múltiple de rangos de Tukey para todos los tratamientos, Se observa que el tratamiento abcd (Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y con Stevia) tiene la mayor valoración con una media de 4,17 siendo el de mayor predilección por parte de los catadores en cuanto a aceptabilidad (5: me gusta), seguido de los tratamientos: bcd (Variedad de cascarilla CCN51, con guayusa, al 90 % de cascarilla y con Stevia) y el tratamiento abc (Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y sin Stevia) con medias de 4,04 y 3,85 respectivamente.

4.2.9. Análisis de los 3 mejores tratamientos

Mediante el análisis estadístico de la evaluación sensorial de la infusión, se estableció que el mejor tratamiento es abcd (Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y con Stevia), por tener mayor valoración por los catadores en los atributos de color, sabor, aroma y aceptabilidad.

El tratamiento bcd (Variedad de cascarilla de CCN51, con guayusa, al 90 % de cascarilla y con Stevia), es el segundo mejor tratamiento respecto a los atributos sabor y aceptabilidad y es tercero en color y aroma.

El tratamiento abc (Variedad de cascarilla de Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y sin Stevia), es el tercer mejor tratamiento porque ocupa el

tercer lugar en aroma y aceptabilidad y por ser el segundo con mayor valoración en color, olor.

4.2.10. Análisis microbiológico

El análisis microbiológico de alimentos no tiene carácter preventivo sino simplemente es una inspección que permite valorar la carga microbiana. Por eso la importancia de inspeccionar el alimento y que cumpla con las normas vigentes para poder ser distribuido.

Para los 3 mejores tratamientos se determinó el recuento de mohos y levaduras, aerobios mesófilos, *E. Coli* y *Staphylococcus aureus* basándose en la norma INEN 2392. Estas pruebas se realizaron al haber concluido la elaboración de la infusión, que fue almacenada temperatura de 18 °C±2, 25 °C±2 y 35 °C±2.

Los resultados de estas pruebas microbiológicas se observan en las Tablas A13 hasta la A24 (Anexo A)

4.2.11. Determinación de vida útil

Cálculo del tiempo de vida útil para la infusión correspondiente a los tres mejores tratamientos: abcd, bcd y abc de acuerdo a la evaluación sensorial.

Para la determinación de la vida útil de la infusión se empleó un test acelerado de tiempo a tres temperaturas diferentes (18, 25 y 35 °C), durante 96 días aproximadamente se ejecutó el recuento de mohos y levaduras como indicador. Para el cálculo de la vida útil pueden emplearse varios modelos predictivos, se utilizó la aproximación de Arrhenius.

El primer paso una vez obtenida la población en unidades logarítmicas (\ln ufc/g) es calcular la velocidad de crecimiento específica (μ) para cada temperatura en el intervalo de crecimiento exponencial. Esta puede

obtenerse de diversas maneras, una es graficando en ordenadas el $\ln ufc/g$ en la fase exponencial y en las abscisas el tiempo (h), y a partir de esta gráfica obtener la ecuación de la recta cuya pendiente es igual a la velocidad de crecimiento específica μ (h^{-1}). Otra forma es calculando μ , valores que aparecen en las Tablas A25 hasta A29 (Anexo A), para el tratamiento abc, en las Tablas A30 hasta A34 (Anexo A), para el tratamiento bcd y en las Tablas A35 hasta A39, para el tratamiento abcd a partir de la siguiente ecuación:

$$\mu = \frac{\ln N_f - \ln N_0}{t_f - t_0} \quad (1)$$

Con los resultados de μ para cada temperatura procedemos a calcular las constantes del modelo de Arrhenius: energía de activación (E_a) y el factor pre-exponencial A . Para este caso graficaremos en ordenadas el $\ln \mu$ a cada temperatura y en abscisas el recíproco de cada temperatura absoluta ($1/T$). Cuando se grafica de esta forma, la pendiente de la recta (m) que se obtiene es igual a: $-E_a/R$ (y por tanto $E_a = -m \cdot R$, que en todos los casos será positiva); y el intercepto en el eje "y" cuando $X=0$ es el factor pre-exponencial en logaritmo ($\ln A$), los datos obtenidos se encuentran en las Tablas A28 - A29 (Anexo A) y en la figura C5 (Anexo C), para el tratamiento abc, en las Tablas A33-A34 (Anexo A) y en la figura C9 (Anexo C), para el tratamiento bcd y en las Tablas A38-A39 (Anexo A) y en la figura C13 (Anexo C) para el tratamiento abcd.

Se va a tomar el mejor tratamiento como ejemplo para realizar los cálculos a $18^\circ C$. A partir de la figura C13 se puede inferir que:

$$m = -4548,995^\circ K$$

$$\ln A = 9,658$$

$$E_a = -(m \times R)$$

$$R = 8,314472 \frac{J}{mol \times ^\circ K}$$

$$Ea = -(-4548,995^{\circ}K \times 8,3144272 \frac{J}{mol \times ^{\circ}K})$$

$$Ea = 37822,17 \frac{J}{mol}$$

Una vez obtenidos los parámetros calculamos μ a 18 °C (291,15 °K), 25 °C (298,15 °K) y 35 °C (308,15 °K), reemplazando en la ecuación de Arrhenius.

$$\ln\mu = \ln A - \left(\frac{Ea}{R \times T} \right) \quad (2)$$

Ejemplo de cálculo de tiempo de vida útil a 18 °C:

$$\ln\mu = 9,658 - \frac{37822,17 \left(\frac{J}{mol} \right)}{8,314472 \left(\frac{J}{mol \times ^{\circ}K} \right) * 291,15^{\circ}K}$$

$$\ln\mu = 9,658 - 15,624$$

$$\ln\mu = -5,966$$

$$\mu = 0,003(h^{-1})$$

Por tanto, la velocidad de crecimiento específico a 18 °C es de 0,003 (h⁻¹).

Se estima entonces la vida útil a 18 °C. Si nuestro valor límite es 1,0x10⁴ Ufc/g (ln ufc/g = 9,21). Si tenemos que μ por cada hora se incrementa 0,003 (ln ufc/g) [Recordemos que μ se obtiene del ln ufc/g vs tiempo (h)], en cuanto tiempo se alcanzará las 9,21 ln ufc/g que es nuestro límite?

Utilizamos una sencilla regla de tres:

$$1h \text{ --- } > 0,003 \ln ufc/g$$

$$x? < \text{---} \ln ufc/g$$

$$X = 3592 \text{ horas} = 149,7 \text{ días.}$$

Los valores de vida útil se encuentran reportados en la Tabla A29 para el tratamiento abc, en la Tabla A34 para el tratamiento bcd y en la Tabla A39 para el mejor tratamiento abcd.

4.2.12. Análisis proximal

En la Tabla A40 (Anexo A), se reporta los resultados de los análisis realizados al mejor tratamiento abcd (Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y con Stevia), los cuales se compararon con un testigo que tuvo 100% cascarilla de variedad Arriba. Se observa que los valores reportados de cenizas, proteína para el tratamiento abcd fueron de 8,21% y 16% respectivamente, en tanto que para el testigo fueron: cenizas 8,41%, proteína 16,2%.

Asimismo, los valores de grasa y carbohidratos totales fueron de 3,40% y 58,49 % en el tratamiento abcd y en tanto que para el testigo fueron carbohidratos 56,9% y grasa 5,36%, notándose que son los carbohidratos los que suministran energía al cuerpo, especialmente al cerebro y al sistema nervioso, proporcionando así esta infusión una buena cantidad de energía Fitnes (2010).

Finalmente se reportó un valor de energía en la mezcla del mejor tratamiento que fue 328 kcal por cada 100g, haciendo una relación con cada bolsita que pesa 1,5 gramos se reporta un valor óptimo de 4,92kcal por cada taza de té.

4.3. Verificación de la hipótesis

En este trabajo se planteó la hipótesis nula (H_0) como la utilización de la variedad de cascarilla de cacao, la variedad de hierba medicinal, porcentaje de cascarilla y edulcorante no tiene influencia significativa sobre la evaluación sensorial, análisis físico químico y análisis microbiológicos en la elaboración de una infusión, y a su vez la hipótesis alternativa (H_a) como la utilización de la variedad de cascarilla de cacao, la variedad de hierba medicinal, porcentaje de cascarilla y edulcorante influye significativa sobre la evaluación sensorial, análisis físico químico y análisis microbiológicos en la elaboración de una infusión.

Se comprobó estas afirmaciones con ensayos que abarcaron pruebas de análisis sensorial y análisis físicos-químicos, determinando que se acepta la hipótesis alternativa que establece: la variedad de cascarilla de cacao influye en las características sensoriales y físico-químicas de infusiones elaboradas con plantas medicinales.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- El estudio experimental comparativo de aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedades Arriba y CCN51 en la elaboración de una infusión con plantas medicinales Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) y Hierba Luisa (*Cymbopogon citratus*), utilizando Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni) como edulcorante demostró que se puede obtener una infusión con excelentes atributos organolépticos y con características beneficiosas para el consumidor.
- Al caracterizar a las dos variedades de cascarilla de cacao se determinó que la variedad Arriba tiene mayor cantidad de polifenoles con un valor medio de 11,41 mg Ac. Gálico/g frente a 9,83 mg Ac. Gálico/g de la variedad CCN 51 y en las plantas medicinales la guayusa tuvo mayor cantidad de polifenoles con un valor de 6,61 mg Ac. Gálico/g frente a 4,74 mg Ac. Gálico/g sin embargo, este valor presenta en menor cantidad con relación a las dos variedades de cascarilla de cacao.
- Al comparar los valores obtenidos tanto en pH, acidez y % humedad se observó que en la infusión, la variedad y porcentajes de cascarilla influyen significativamente en los valores obtenidos siendo la variedad Arriba la que tuvo mayor influencia. En relación a las propiedades sensoriales se determinó se pueden seleccionar 3 mejores tratamientos en los cuales se notó que el nivel alto de cascarilla influyó

favorablemente al momento de ser evaluado por los catadores tanto en color, aroma, sabor y aceptabilidad.

- El tiempo de vida útil de la infusión estimado mediante un test acelerado de tiempo a tres temperaturas diferentes (18, 25 y 35 °C), durante 96 días aproximadamente, a través del recuento de mohos y levaduras como indicador y la aproximación de Arrhenius para la evaluación, definió como mejor tratamiento el abcd (Variedad de cascarilla Arriba, con guayusa, al 90 % de cascarilla y con Stevia) para el cual se determinó un tiempo de 149,7 días a 18 °C.

5.2. RECOMENDACIONES

Tomar en cuenta que las características organolépticas y físico-químicas se ven influenciadas por el método de obtención de la infusión; el tiempo y temperatura de secado influye en los aspectos organolépticos y en la calidad del producto final.

Realizar paulatinamente pruebas para asegurar la calidad e inocuidad del proceso de elaboración de la infusión y así evitar posibles contaminaciones del producto.

En la elaboración de la infusión se empleó una tecnología a nivel de laboratorio, siendo ésta accesible para ser aplicada a nivel de micro y macro industrial, con esto se puede dar inicio a la elaboración de una gama de productos similares. Por lo que se recomienda, por tanto realizar un estudio de factibilidad para la implementación de una planta productora de la infusión

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1. DATOS INFORMATIVOS

6.1.1. Título

Obtención de una infusión del mejor tratamiento a partir de cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad arriba con Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) y endulzante natural Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

6.1.2. Institución Ejecutora

Universidad Técnica de Ambato – Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Laboratorio de Procesamiento de Alimentos. Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA)

6.1.3. Beneficiarios

Productores de Cacao para la elaboración de Chocolate

Potenciales Consumidores

Universidad Técnica de Ambato

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos

6.1.4. Ubicación

Universidad Técnica de Ambato
Ambato - Ecuador

6.1.5. Tiempo Estimado de Ejecución

- 7 meses

6.1.6. Equipo Técnico Responsable

Egda. Claudia Alexandra Tapia Yáñez
Ing. William Teneda Llerena

6.2. ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

Ecuador, con su cacao, es protagonista y seduce a millones de consumidores, a los que atrapa por sus sentidos, nada menos: el olor, el gusto, la textura, la fragancia, el sabor. Del total de la exportación ecuatoriana se estima que un 80% es cacao fino de aroma Arriba, mientras que el restante 20% pertenece a otras variedades como el CCN51 (ANECACAO, 2013).

El uso del cacao tras un proceso de industrialización o elaboración artesanal, por lo general, se refiere al chocolate, que puede ser: barras, tabletas, bombones, coberturas, blanco, en polvo, relleno, baños y un sin fin de manufacturas más, obtenidos a partir de mezclas con otros productos o frutos secos.

El consumo de chocolate es asociado con una serie de beneficios para la salud. Estudios demuestran que favorece al sistema circulatorio, y que también tiene otros buenos efectos: anticanceroso, estimulador cerebral, antitusígeno, antidiarreico, efectos afrodisiacos.

Guayusa, una planta que se cultiva en la Amazonía ecuatoriana. Actualmente, 2300 agricultores de Napo, Pastaza y Orellana cultivan Guayusa de manera orgánica. En el 2013, se exportó 162000 libras de guayusa y ahora está en capacidad de enviar un contenedor al mes. En Estados Unidos se distribuye el producto en más de 6000 tiendas y también incursionó en el mercado canadiense. (Revista Lideres, 2014)

La guayusa es una planta de la cual las hojas se secan y se elabora con ellas un té al que se le atribuye las siguientes propiedades: estimulante nervioso y muscular, digestivo, expectorante y reductor del nivel de glucosa en sangre.

Además de la cafeína contiene teobromina, un estimulante que generalmente se encuentra en el chocolate, y L-teanina, un ácido glutámico análogo que se encuentra en el té verde que ha demostrado reducir la fatiga física y mental, y combatir el estrés.

La desventaja para la elaboración de nuevos productos o el aprovechamiento de sus residuos como es la cascarilla de cacao es la falta de información en las propiedades nutricionales que existe.

A nivel mundial, la preocupación por el aprovechamiento de residuos ha tomado gran fuerza entre la comunidad científica y sobre todo a nivel industrial, en donde los procesos de transformación generan subproductos que pueden ser útiles en otras actividades.

La aportación existente en este trabajo de investigación se pretende incentivar el aprovechamiento de cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad Arriba para la elaboración de una infusión con plantas medicinales que serán utilizadas como materia prima para obtener una bebida con excelentes características organolépticas y que sea de agrado al consumidor.

6.3. JUSTIFICACIÓN

La innovación conducente a lograr sistemas alimentarios más sostenibles no se limita a mejorar la tecnología y las actividades de comunicación

correspondientes, sino que debe incluir en una posición preeminente la innovación social.

Su uso en la industria de alimentos y bebidas funcionales, de suplementos alimenticios y nutricionales, sigue aumentando, de acuerdo a las cifras de mercado y la demanda creciente de los consumidores por alimentos más saludables.

La cascarilla de cacao, materia prima a utilizarse es desperdiciada en las industrias, sin tener presente que es una fuente rica en su composición y más aún que al realizar esta infusión tendrá gran aceptación por ofertar un producto innovador de excelente calidad y de fácil adquisición.

En la elaboración de este producto, tanto productores y consumidores se beneficiaran de la siguiente manera:

A los productores de cacao en términos económicos tendrán mucha ventaja puesto que tendrían una mayor rentabilidad a la reutilización de la cascarilla elaborando un té.

Los consumidores ya que estos proveerán de una infusión que es natural y a la vez que le brinda de muchos nutrientes y energía con una agradable degustación y el costo va a ser menor que el del mercado.

Y al medio ambiente ya que este dejaría de ser una fuente de contaminación.

En resumen podemos decir, que una estrategia moderna para incrementar los ingresos de los productores de cacao en identificar y comercializar nuevos productos que no interfieran con la cosecha de la semilla.

Es importante considerar el desarrollo del tema planteado como propuesta.

6.4. OBJETIVOS

Objetivo General

- Obtener una infusión a partir de cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad arriba con Guayusa y endulzante natural Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni).

Objetivos Específicos

- Analizar la composición proximal de la cascarilla de cacao mediante métodos de la AOAC.
- Desarrollar un estudio más profundo de mercado para garantizar la acogida del producto en el mercado nacional.
- Establecer el análisis económico de la infusión en base a la capacidad de producción de la planta procesadora.

6.5. ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

La viabilidad de la “Obtención de una infusión a partir de cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) Variedad arriba con Guayusa y endulzante natural Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)” será evidente a medida que los objetivos planteados se hayan efectuado correctamente.

Este proyecto de investigación es tipo tecnológico, ya que con ello se puede desarrollar una nueva alternativa de elaboración de infusiones con plantas medicinales naturales y el residuo de cascarilla de cacao, sin afectar a las características sensoriales lo que nos ayudaría a presentar un producto con novedoso y beneficioso para la salud.

El análisis de factibilidad también es de carácter socio-económico, ya que este tema de investigación puede ser implementado para pequeño mediano o grandes productores de cacao, los cuales sabrán aprovechar al máximo el residuo que genera su actividad. Y así obtener rentabilidad de lo que se considera desperdicio en una planta procesadora.

Con el diseño efectuado determinamos el mejor tratamiento siendo este el que nos mostró las mejores características físicas sensoriales, las cuales garantizan la satisfacción del cliente final.

Tomando en cuenta que este fruto como materia prima, crece mejor en climas ecuatoriales donde hay abundantes precipitaciones durante todo el año y donde hay temperaturas relativamente estables, de entre 25 – 28 grados centígrados. Este árbol se demora de 4 a 5 años para producir frutos y de 8 a 10 años en lograr su máxima producción, esto dependerá de tipo de cacao y las condiciones de la zona¹

La investigación en cuanto a equipos y materiales no es excesivamente costoso, una vez que se haya tomado en cuenta este aspecto se propone una prueba de inicio en una planta piloto.

6.6. FUNDAMENTACIÓN

Cardona, et al. (2002), en su trabajo Establecimiento de una base de datos para la elaboración de tablas de contenido nutricional de alimentos para animales muestra que debido al mayor aporte de proteína y grasa y al menor contenido de fibra, la cascarilla de cacao se convierte en una materia prima más energética que la cascarilla de soya (*Glicine max*), también presenta un mayor contenido de ceniza.

Camino (2014), evaluó el contenido de los componentes químicos no volátiles (polifenoles, grasa y alcaloides) en almendras de cacao nacional recolectadas en las provincias de Guayas, Manabí y Los Ríos, los resultados obtenidos mostraron que el contenido de polifenoles totales varió en un rango de 33.55 a

62.89 mg ácido gálico/g cacao desengrasado, los alcaloides presentaron contenidos que varían entre 1.52 a 2.29% para el caso de la teobromina y de 0.20 a 0.40% para la cafeína. El contenido de grasa promedio obtenido en las muestras analizadas fue del 45.2%.

Castillejo, et al. (2006), señala algunas investigaciones vinculadas a la evaluación del uso de cascarilla de cacao y su efecto en el colón debido al aporte de fibra en pacientes pediátricos con estreñimiento, los resultados indicaron que el grupo al que se le suministro un suplemento procedente de la cáscara de cacao, en comparación al grupo Testigo tuvo una disminución de la “Determinación total y segmentaria del tiempo del tránsito del colón”.

Guayusa proporciona un balance de energía sin causar los efectos adversos comúnmente asociados a la cafeína. Sus componentes lentamente liberan la suficiente cafeína, para alertar y mantener la energía.

6.7. METODOLOGÍA

Tecnología de la Investigación

Proceso para la obtención de una infusión a partir de cascarilla de cacao (*Theobroma cacao* L.) variedad arriba con Guayusa (*Ilex guayusa* Loes) y endulzante natural Stevia (*Stevia rebaudiana* Bertoni)

En la industria alimentaria, el procesamiento de las semillas de cacao consta de varias etapas.

En el campo, el productor se encarga de cultivar el fruto y de su limpieza, donde se rompe la cáscara y el mucílago es extraído para la obtención del grano de cacao Beckett (2008).

Una vez extraído el grano de cacao, este puede sufrir una etapa de fermentación, donde se producen distintos químicos que le dan un sabor y olor característico, esenciales para sus subproductos tales como el chocolate.

Seguidamente, los granos se llevan al secado donde son expuestos al sol (si el clima lo permite) o en máquinas de secado, reduciendo la humedad del grano entre un 6 y 8%. Finalmente, las semillas son transportadas a la industria en sacos de aproximadamente 60 kg. Vigilando constantemente la humedad del lugar de almacenamiento Beckett (2008).

El primer paso del procesamiento del cacao en la planta industrial es la limpieza del grano, aquí se remueven las impurezas para asegurar el rendimiento de operaciones posteriores y la calidad del producto. En esta etapa se combinan diferentes métodos para la remoción de todos los contaminantes: succión para extraer tierra y rocas livianas, imanes para retirar metales y vibración para retirar rocas pesadas De La Mota (2007).

Luego de la limpieza existen variantes en el tratamiento del grano, dependiendo principalmente, de la utilidad o especificaciones que se requieran en el producto. Estas variaciones se refieren al orden en que son ejecutadas las operaciones Beckett (2008).

En el grafico 5 se muestra un esquema de los diferentes procedimientos y ordenes en que son ejecutados los procesos para el tratamiento del grano de cacao. Se observan tres opciones de tostado: el tostado del grano completo (cascarilla y grano), el tostado del grano solamente (luego del descascarillado) y el tostado del licor de cacao. El tostado es responsable del sabor característico de los subproductos como el chocolate, además permite remover la humedad remanente en el grano, eliminando adicionalmente cualquier contaminante microbiológico. El pre tratamiento térmico consiste en la exposición rápida de la semilla a una fuente de calor intensa como vapor o radiación. Es importante notar que este proceso no afecta el sabor ni calidad del grano debido a su coila y rápida acción Beckett (2008).

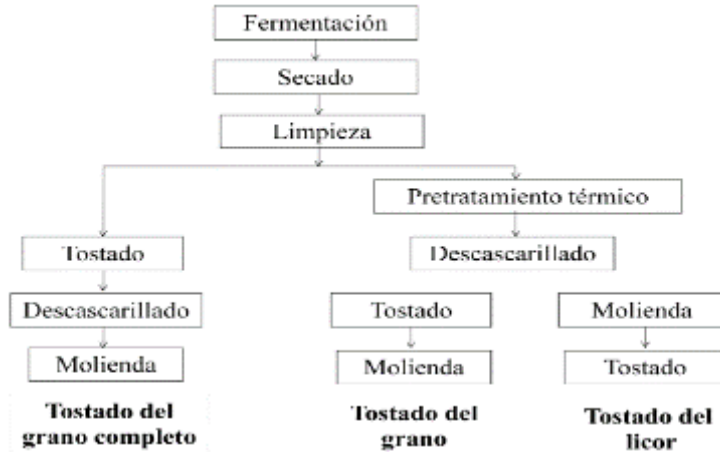


Gráfico 6. Esquema donde se muestra los métodos del tostado del cacao.

Fuente: (Beckett, 2008)

Para el descascarillado de la semilla, esta debe someterse a algún proceso térmico. De esta manera, la humedad que pierde el grano ejerce una presión en la cascarilla, separándola del mismo. Luego, por vibración, esta cascarilla es desviada de la línea principal de producción quedando como un producto de desecho (De La Mota, 2007).

6.7.1. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

RECEPCIÓN Y SELECCIÓN: Se emplean cascarilla de cacao, hierba luisa y guayusa de buena calidad que cumpla las condiciones para la elaboración de la infusión.

SECADO: El secado se lo realiza a temperaturas no mayor a 45°C en una estufa eléctrica con circulación de aire caliente durante un periodo aproximado de 9 horas. Hasta llegar a una humedad de máximo 9 a 10 %.

MOLIDO: La molienda de cascarilla y las plantas se lleva a cabo en un molino de martillos operado a 510 rpm .

TAMIZADO: En esta operación se separa de acuerdo al tamaño de partícula en: gruesos, intermedios y finos, siendo de interés para el procesamiento de la cascarilla y plantas medicinales el tamizado intermedio.

MEZCLADO: Se pesa las diferentes plantas por separado ya que en este caso se realizó 17 formulaciones con la variación de los porcentajes, luego se realiza el mezclado.

ELABORACIÓN DE BOLSITAS: El primer paso fue cortar un pedazo de papel de polietileno de un metro de largo, luego se lo dobló a la mitad de tal forma que ambas orillas queden exactamente iguales. Para obtener las bolsitas es importante hacer los sellos laterales y posteriormente se corta cada una de ellas. Fue imposible obtener bolsitas del mismo tamaño y uniformidad, pero para que queden similares se recomienda usar un pedazo de cartón (3,5 cm. de ancho y 5 cm. de alto) para medir las distancias entre sellados. Primero se selló la punta, con la ayuda del cartón, luego se hace el segundo sellado; el tercero, cuarto y quinto sellado se hace con una separación de aproximadamente tres milímetros; luego se coloca el cartón (usar referencia el último sellado) y se sigue el mismo procedimiento anterior. El fondo queda cerrado por el doblez que se hizo al papel, el lado opuesto queda abierto llenar el producto. Para la manipulación de la materia prima se debe utilizar guantes, mascarilla y un mandil limpio, esto evitara la contaminación del producto final.

El sellado es muy importante, por eso se debe hacer una fuerte presión al momento de sellar para darle mayor seguridad al mismo. Se recomienda usar la temperatura más alta para lograr un sellado hermético. Es preferible hacer un doble sellado de las bolsitas porque las selladoras de impulso pueden hacer sellados débiles, es mejor si se cuenta con una selladora que tenga una resistencia más gruesa. Cuando hay un buen sellado, el papel se rompe a lo largo del sello, si las hojas se desprenden fácilmente es señal de un mal sellado. Las bolsitas quedan con un tamaño aproximado de 3,5 cm. de ancho y 5,5 cm. de alto.

LLENADO DE LAS BOLSITAS: Dependiendo del producto, las bolsitas se pueden llenar con uno o dos gramos de material molido. Es importante asegurarse que el peso es correcto, éste es un factor crítico porque es difícil encontrar una báscula que pese un gramo. Si los pesos no son uniformes se

corre el riesgo de que los consumidores pongan una denuncia por el peso inadecuado de las bolsitas; por otro lado, si tienen muy poco producto, el sabor del té será simple y esto puede reducir las ventas del producto. Asegurarse que la parte de arriba quede limpia y libre de residuos, de lo contrario el sellado puede quedar mal hecho.

SELLADO DE LAS BOLSITAS: Una vez que las bolsitas tienen el peso adecuado, se introduce la punta del hilo de cáñamo dentro de la bolsita y se procede a sellarla (se recomienda doble sellado). Si se usa un hilo muy delgado, se corre el riesgo de que el mismo se desprenda al colocarse el agua caliente y esto puede disminuir las ventas del producto, porque los consumidores no podrán retirar la bolsita o amarrarla a la oreja de la taza. El largo del hilo es de 20 cm. Finalmente se coloca una etiqueta del producto en el extremo del hilo para que el consumidor reconozca la marca y pueda sostener con facilidad el producto.

Las pruebas indican que las bolsitas resisten calentamientos de 2 min sin romperse. Si el sellado es adecuado, los hilos quedan bien adheridos a la bolsita. Como todo producto elaborado nacionalmente, es necesaria la legalización de la empresa y del producto para poder venderlo en supermercados (licencia sanitaria, registro sanitario, marca registrada, etc.)

EMPAQUE: Algunas empresas optan por dejar los hilos sin ninguna etiqueta; sin embargo, a pequeña escala se pueden imprimir etiquetas en papel autoadhesivo (se encuentran en las librerías) en impresora a color; este papel tiene la ventaja de que no necesita pegamento y quedan a todo color. Las empresas comerciales utilizan cartoncillos a color, troquelados, que sujetan el hilo fácilmente. La mayoría de empresas comerciales utilizan las cajas troqueladas a todo color para empacar las bolsitas de té (selladas con una capa externa de polipropileno o con plástico termoencogible); otras usan bolsas plásticas de polietileno de alta densidad y otras solo empacan en polietileno los paquetes de té. El empaque en bolsas de papel individuales también está fuera del alcance de las microempresas dado el alto costo de las máquinas selladoras industriales.

Modelo Operativo (Plan de Acción)

Tabla 7: Plan de acción

FASES	METAS	ACTIVIDADES	RESPONSABLE	RECURSOS	PRESUPUESTO	TIEMPO
1. Formular la propuesta	Aprovechamiento de residuos agroindustriales, cascarilla de cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.) Variedad Arriba, para la elaboración de una infusión con plantas medicinales en proporciones adecuadas con Stevia (<i>Stevia rebaudiana</i> Bertoni) como edulcorante, permitirá obtener una bebida de buenas características nutricionales y sensoriales para el consumidor	Revisión Bibliográfica para establecer la propuesta Encuestas	Investigadora	Humanos, Técnicos, Económicos.	\$150	2 Meses
2. Desarrollo preliminar de la propuesta	Cronograma e Investigación referente al desarrollo de la propuesta	Revisión Bibliográfica y pruebas preliminares	Investigadora	Humanos, Técnicos, Económicos.	\$300	2 Meses
3. Implementación de la propuesta	Ejecución de la Propuesta	Elaboración de la Infusión a partir de residuos cascarilla de cacao y plantas medicinales	Investigadora	Humanos, Técnicos, Económicos.	\$750	4 Meses
4. Evaluación de la propuesta	Verificación del proceso de elaboración para la implementación Micro empresarial.	Análisis y Comprobación de Datos Experimentales	Investigadora	Humanos, Técnicos, Económicos.	\$200	1 Mes

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

6.8. ADMINISTRACIÓN

Tabla 8: Administración de la propuesta

Indicadores a Mejorar	Situación Actual	Resultados Esperados	Actividades	Responsables
Aprovechamiento de la Materia Prima (Cascarilla de Cacao)	Desaprovechamiento de Residuos de Cascarilla de Cacao para la utilización de nuevos e innovadores productos como es la elaboración de infusiones	Producción de Té con características organolépticas como Olor, Color, Sabor, en óptimas condiciones para la aceptabilidad por el consumidor. Obtener un producto innovador para el mercado Nacional.	Estudio de Mercado. Elaboración y Análisis Sensorial. Factor Económico	Investigadora: Egda. Claudia Alexandra Tapia. Tutor: Ing. William Teneda

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

6.1. PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Tabla 9: Previsión de la evaluación

Preguntas Básicas	Explicación
¿Quiénes Solicitan Evaluar?	Investigadores relacionados al tema, Industria Alimenticia, Consumidores
¿Por qué Evaluar?	Corregir errores durante el proceso de elaboración. Determinará la aceptación del Consumidor. De esta manera garantizará la calidad del producto ofrecido.
¿Para qué Evaluar?	Verificar la inocuidad y calidad del producto
¿Qué Evaluar?	Materia prima, Investigación Microbiológica, Características Organolépticas del producto Final como: Color, Olor, Sabor.
¿Quién Evalúa?	Director del Proyecto, Calificadores, Tutor.
¿Cuándo Evaluar?	Inicialmente en la Materia Prima en el proceso y Producto Final.
¿Cómo Evaluar?	Mediante Análisis Físico- Químicos y microbiológicos.
¿Con qué Evaluar?	Entrevistas y encuestas al consumidor.

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

CAPÍTULO VII

MATERIALES DE REFERENCIA

BIBLIOGRAFÍA

- Abarca, D. (2010). IDENTIFICACION DE FIBRA DIETARIA EN RESIDUOS DE CACAO (*Theobroma cacao* L.) VARIEDAD Complejo nacional por trinitario. *Tesis de Ingeniero en Industrias Agropecuarias*. UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA, ESCUELA DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS AGROPECUARIAS, Loja-Ecuador.
- Alvarado, D., J. d., Arancibia, M.Y., Almeida, & A.V. (2005). Permeabilidad al vapor de agua de películas biodegradables de quitosano obtenido de caparazones de camarón. . *Ciencia y Tecnología*, 4(2):39-47.
- Álvarez, C., E. Pérez y M. C. Lares. (2007). Caracterización física y química de almendras de cacao fermentadas, secas y tostadas cultivadas en la región de Cuyagua, estado Aragua. *Agronomía Trop.* 57 (4): 249-256. Recuperado el 01 de 09 de 2014, de www.scielo.org.ve/scielo.php%3Fpid%3DS0002-192X2010000400009%26script%3Dsci_arttext&hl=es&gl=ec&strip=1
- ANECACAO. (2013). Cacao Nacional. Recuperado el 14 de 03 de 2015, de <http://www.anecacao.com/es/cacao-nacional>
- AOAC. (2012). - A.O.A.C Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemist: 16th Ed, Vol. II Cap.33.
- Ayala-Zavala, F, J., Rosas-Domínguez, C, Vega-Vega, V, . . . A., G. (2010). Antioxidant Enrichment and Antimicrobial Protection of Fresh-Cut Fruits Using Their Own Byproducts: Looking for Integral Exploitation. . *Journal of Food Science* 75(8);, R175-R181.
- Baena, L., & Garcia, N. (2012). Obtención Y Caracterización De Fibra Dietaria A Partir De Cascarilla De Las Semillas Tostadas De *Theobroma Cacao* L. De

Una Industria Chocolatera Colombiana. Universidad Tecnológica De Pereira, Facultad De Tecnologías Escuela De Química, Pereira - Colombia.

- Beckett, S. T. (2008). *Science of Chocolate*. Cambridge-Reino Unido: The Royal Society of Chemistry.
- Camino, C. (2014). Estudio Del Contenido De Grasa, Alcaloides Y Polifenoles Totales En Almendras De Cacao Nacional Fino De Aroma En Zonas Del Litoral Ecuatoriano Para Comparar Su Calidad Y Facilitar Su Comercialización. *Tesis de Ingeniero en Alimentos*. Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Ambato-Ecuador.
- CANACACAO. (26 de 07 de 2012). *LA ECONOMÍA CACAOTERA MUNDIAL: PASADO Y PRESENTE*. Recuperado el 13 de 09 de 2014, de http://www.canacacao.org/uploads/smartsection/19_Economia_cacaotera_mundial_2002_2012.pdf
- Cardona, M. G., Juan D Sorza, Z., Posada, S. L., Juan C Carmona, Z., Silvio A Ayala, Q., & Olga L Alvarez, Z. (2002). Establecimiento de una base de datos para la elaboración de tablas de contenido nutricional de alimentos para animales. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 15(2), 240-246.
- Castillejo, G., Millán, S., Bulló, M., Anguera, A., Escribano, J., & Salas-Salvadó, J. (2006). Estudio controlado, randomizado, a doble ciego, evaluando el efecto de un suplemento de cáscara de cacao rico en fibra sobre el tránsito colónico en pacientes pediátricos con constipación. *Nutr Hosp*, 21, 90-96.
- CHOCOLAT. (2014). *Todo sobre el chocolate>La producción* . Recuperado el 19 de 09 de 2014, de http://www.zchocolat.com/es/the_cocoa_production.asp
- Cholota, J. (2011). Tesis de Ingeniero en Alimentos. *Obtención De Té Medicinal Nutracéutico A Partir De Plantas Ancestrales Menta (Mentha arvensis) Manzanilla (Matricaria chamomilla) Llantén (Plantaginaceae) Malva (Malváceas o malvaceae)*. Universidad Técnica De Ambato, Facultad De Ciencia E Ingeniería En Alimentos, Ambato-Ecuador.
- COVENIN. (1980). Comisión Venezolana de Normas Industriales. Infusiones. (1575-80). Fondonorma: Venezuela.
- De La Mota, I. H. (2007). *EL LIBRO DEL CHOCOLATE*. Madrid-España: Piramide, pp 26,87.
- Dobles Cecilia, Z. M. (1998). "Investigación en Educación: Procesos, interacciones y construcciones". San Jose: EUNED. pp: 240.
- EFSA. (2008). European Food Safety Authority. *Theobromine as undesirable substances in animal feed Scientific Opinion of the Panel on Contaminants in food Chain.*, The EFSA Journal. 1-66.

- ELCOMERCIO. (25 de 08 de 2014). *El mercado mundial demanda cada vez más cacao ecuatoriano*. Recuperado el 25 de 09 de 2014, de <http://www.elcomercio.com.ec/actualidad/mercado-mundial-demanda-cacao-ecuatoriano.html>
- Enriquez, G. (2001). Manual de Cacao Orgánico: guía para productores Ecuatorianos. *Manual numero 54*. Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias, Quito-Ecuador, P. 360.
- Enriquez, G. A. (1985). *Curso sobre el cultivo de cacao* (Vol. 22). Costa Rica, Costa Rica: Turrialba. Bib. Orton IICA / CATIE, pp 7-11.
- FAO. (2004). *Perspectivas a plazo medio de los productos básicos agrícolas al AÑO 2010*. Recuperado el 20 de 08 de 2014, de <http://www.fao.org/docrep/007/y5143s/y5143s0w.htm>
- Fitnes, A. H. (2010). Nutricion: Adicto a los carbohidratos? *HF*, 12.
- FLACSO-MIPRO. (27 de 05 de 2012). *Elaboración de cacao y subelaborados*. Recuperado el 10 de 06 de 2014, de <https://www.flacso.edu.ec/portal/pnTemp/PageMaster/g3bzawibeka4sqfx4hj8jy9j8dpjkz.pdf>
- Hernández, F. B. (2008). Metodología de la Investigación. Mac Graw Hill. México. 850 págs.
- Herrera, E., Medina, F., Naranjo, & L. (2008). *Tutoría de la Investigación*. Ambato-Ecuador. 250. págs: Edición Universitaria.
- ICCO. (26 de 07 de 2012). *The World Cocoa Economy: Past and Present*. Recuperado el 01 de 07 de 2014, de http://www.icco.org/about-us/international-cocoa-agreements/cat_view/30-related-documents/45-statistics-other-statistics.html
- ICCO. (8 de 2014). *COCOA MARKET REVIEW*. Recuperado el 23 de 9 de 2014, de http://www.icco.org/about-us/international-cocoa-agreements/cat_view/89-monthly-reviews/90-monthly-review-of-the-market-2014.html
- INEN . (1529-11:98). Norma Técnica Ecuatoriana. *Control microbiológico de alimentos mohos y levaduras viables detección*.
- INEN. (1114). Norma Técnica Ecuatoriana NTE. *Café soluble, Determinacion de pérdida por calentamiento*.
- INEN. (1529-14:2013). Norma Técnica Ecuatoriana. *Control microbiológico de los alimentos Staphylococcus aureus. Recuento en placa de siembra por extensión en superficie*.

- INEN. (1529-5). Norma Técnica Ecuatoriana. *Control microbiológico de los alimentos. Determinación de la cantidad de microorganismos aerobios mesófilos.*
- INEN. (1529-7:2013). Norma Técnica Ecuatoriana . *Control Microbiológico de los alimentos. Determinación de microorganismos coliformes por la técnica de recuento de colonias.*
- INEN. (176:2003,). Norma Técnica Ecuatoriana NTE. *Cacao en grano requisitos.*
- INEN. (2392-2013). Norma Técnica Ecuatoriana. *Hierbas Aromáticas Requisitos.*
- INEN. (381). Norma Técnica Ecuatoriana. *Concervas vegetales. Determinación de la Acidez Titulable. Metodo potenciometrico de referencia.*
- INEN. (ISO 3103). Norma Técnica Ecuatoriana. *Té - Preparación de la infusión para uso en el análisis sensorial.*
- INEN-ISO. (1842:2013). Norma Técnica Ecuatoriana. *Productos vegetales y de frutas. Determinación de pH (IDT).*
- INIAP. (2009). EET575 y EET576 NUEVOS CLONES DE CACAO NACIONAL PARA LA ZONA CENTRAL DE MANABI. *Boletín Dيبulгатivo(346).* (INIAP, Ed.) Los Rios, Ecuador.
- Lecumberri, E. M. (2007). Dietary fibre composition, antioxydant capacity and physico-chemical properties of a fibre-rich product from cocoa (*Theobroma cacao* L.). *Food Chemistry*, 948-954. .
- López, P. (2013). Elaboración De Compost A Partir De Cascarilla De Cacao. *Tesis Bioquímico Farmacéutico.* Escuela Superior Politécnica De Chimborazo, Facultad De Ciencias Escuela De Bioquímica Y Farmacia, Riobamba-Ecuador.
- Macrae, R., Robinson, R., & Sadler, M. (2003). *Encyclopedia of food science. Food technology and nutrition.* 7. Londres, Reino Unido.
- MAGAP. (2013). INFORME SITUACIONAL DE LA CADENA DEL CACAO 2007-2012. Quito, Ecuador.
- MAGAP. (04 de 2013). ZONAS DE PRODUCCIÓN DE CACAO. Recuperado el 25 de 09 de 2014, de <http://sinagap.agricultura.gob.ec/2012-12-13-15-09-13/zonas-de-produccion-cacao>
- Maisuthisakul, P., & Gordon, M. H. (2009). Antioxidant and tyrosinase inhibitory. *Food Chemistry*, 2(117), 332-341.
- Mojica, A., & Paredes, J. (2006). *Características del cultivo del cacao en Santander Bucaramanga.* Centro Regional de Estudios Economicos. pp 78.

- Murillo, I. (2008). Evaluación De 2 Dietas Experimentales Con Diferentes Niveles De Cascarilla De Cacao (*Theobroma Cacao* L.) En Las Fases De Crecimiento Y Acabado De Cuyes (*Cavia Porcellus* L.) De Raza Andina. *Tesis de Ingeniero en Alimentos*. Escuela Superior Politécnica del Litoral (ESPOL), Facultad de Ingeniería Mecánica y Ciencias de la Producción, Guayaquil - Ecuador.
- Nigam, P. S., & Pandey, A. (2009). *Biotechnology for agro-industrial residues utilisation: utilisation of agro-residues*, Springer.
- Pisabarro, d. L. (2003). *“Concepto y alcance de la Microbiología”*. Recuperado el 18 de 06 de 2014, de <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%2003.%20Eliminacion%20y%20conservacion.pdf>.
- Quer, P. (1964). *Plantas Medicinales*. Barcelona, España: Labor S.A. pp 133-135.
- Ratti, R. (2000). *“Como degustar los vinos”*. Segunda edición. Editorial (Aedos, s.a). Madrid –España. Pp. 7.
- Recalde, A. (2007). Evaluación del efecto del procesado y tiempo de la fermentación en los contenidos de Polifenoles, alcaloides y ácidos volátiles en dos genotipos de cacao. Tesis Dr. Químico. Universidad Central del Ecuador. Facultad de Ciencias Químicas. Quito, EC. p. 79. .
- Revista judicial. (29 de 07 de 2005). *derechoecuador.com*. Recuperado el 20 de 06 de 2014, de Registro Oficial Numero 71, Ministerio de Agricultura 040: <http://www.derechoecuador.com/productos/producto/catalogo/registros-oficiales/2005/julio/code/18389/registro-oficial-29-de-julio-del-2005#anchor1170393>
- Revista Lideres. (05 de 2014). *La energía de la guayusa quiere conquistar europa*. Recuperado el 10 de 04 de 2015, de <http://www.revistalideres.ec/lideres/energia-guayusa-quiere-conquistar-europa.html>
- Rodríguez, M., Zoot, Motato, N., Zoot, Zambrano, O., Zoot, & Tarquino, C. Z. (2010). Manejo técnico del cultivo de cacao en Manabí. Instituto Nacional Autónomo de Investigación Agropecuaria. Estación Experimental Portoviejo. Ecuador.
- Saltos, H. (1993). *Diseño Experimental: Aplicación de Procesos Tecnológicos*. Editorial Universitaria, UTA Editorial PIO XII. Ambato – Ecuador.
- Saltos, H. (2010). *Sensometría: Analisis en el Desarrollo de Alimentos Procesados*. Editorial pedagógica Freire. Ambato – Ecuador. Pp.: 293 – 303.

- Samonte, P. A., & Trinidad, T. P. (2013). Dietary Fiber, Phytonutrients and Antioxidant Activity of Common Fruit Peels as Potential Functional Food Ingredient. . *J. Chem* 7: 70-75.
- Sancho, J. (2002). *“Análisis Sensorial de los Alimentos”*. México: Alfaomega. pp: 120.
- Serena, A., & Knudsen, K. (2007). Chemical and physicochemical characterisation of coproducts from the vegetable food and agro industries. *Animal feed science and technology*, 1(139), 109-124.
- Soto, M. J. (2012). Desarrollo del Sistema de Producción de cascarilla de la Semilla de Cacao en Polvo destinada al Consumo Humano. *Tesis Ingeniero Químico*. Universidad Simon Bolivar, Decanato de Estudios Profesionales Cordinacion de Ingenieria Quimica, Sartenejas - Venezuela.
- Trevlean, A. (2010). *“Unidades formadoras de colonia”*. *Shelf-life Evaluation of Foods*. Springer. Recuperado el 12 de 08 de 2014, de http://es.wikipedia.org/wiki/Unidad_formadora_de_colonias.
- UNCTAD. (14 de 11 de 2012). *Secretaría de la UNCTAD, sobre la base de las estadísticas de la Organización Internacional del Cacao, boletín trimestral de las estadísticas del cacao*. Recuperado el 20 de 09 de 2014, de <http://www.unctad.info/es/Infocomm-SP/Bebidas-tropicales/Cacao/Mercado/Produccion/>
- Vélez, L. M., Gañan, P., Severiche, J. D., Hincapié, Adolfo, G., & Restrepo, M. C. (2009). Aprovechamiento de la fibra dietaria de frutas y/o residuos de su transformación en la elaboración de productos de panificación y de maíz. *Rev.Bio.Agro v.7 n.2 Popayán jul./dic*.
- Yanzapanta, G. (2014). Estudio De La Variación De Los Contenidos De Polifenoles Totales, Alcaloides Y Grasa En Almendras De Cacao Fino De Aroma En Tres Diferentes Zonas De Producción De La Amazonía Ecuatoriana. *Tesis de Ingeniero en Alimentos*. Universidad Técnica de Amabto, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Ambato-Ecuador.
- Zumbado, H. (2005). Análisis químicos de los alimentos, métodos clásicos. *Instituto de farmacias y alimentos. Universidad de la habana. Pp. 434*.

ANEXOS

Anexo A: Respuestas experimentales

Análisis realizados a materia prima

Tabla A 1. Valores de porcentaje de humedad (%H) obtenidos en la materia prima.

Materia prima	% H			
	R ₁	R ₂	R ₃	$\bar{X} \pm D_e^1$
Cascarilla CCN51	9,84	9,94	9,78	9,85±0,08
Cascarilla Arriba	9,62	9,84	9,79	9,75±0,12
Hierba Luisa	9,38	9,68	9,59	9,55±0,15
Guayusa	10,07	9,87	10,14	10,0±0,14

¹Promedio de 3 réplicas±desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 2. Valores de porcentaje de Grasa obtenidos en la materia prima.

Materia prima	% Grasa			
	R ₁	R ₂	R ₃	$\bar{X} \pm D_e^1$
Cascarilla CCN51	2,96	3,13	3,08	3,06±0,09
Cascarilla Arriba	5,29	5,44	5,39	5,37±0,08
Hierba Luisa	0,00	0,00	0,00	0±0,00
Guayusa	0,00	0,00	0,00	0±0,00

¹Promedio de 3 réplicas±desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 3. Valores de pH obtenidos en la materia prima.

Materia prima	pH			
	R ₁	R ₂	R ₃	$\bar{X} \pm D_e^1$
Cascarilla CCN51	6,81	6,85	6,70	6,79±0,08
Cascarilla Arriba	6,88	6,94	6,90	6,91±0,03
Hierba Luisa	6,90	6,97	7,00	6,96±0,05
Guayusa	6,52	6,43	6,63	6,53±0,10

¹Promedio de 3 réplicas±desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 4. Resultados obtenidos para la curva estándar de ácido gálico.

Volumen de estándar	Volumen de agua	[]	abs. 760nm				Ecuación obtenida	R ²
			R ₁	R ₂	R ₃	$\bar{X} \pm D_e^1$		
0.25	9975	5	0,012	0,027	0,014	0,018±0,01	y = 0,0057x - 0,0127	0,9994
0.50	9950	10	0,034	0,052	0,045	0,044±0,01		
2.00	8.00	40	0,208	0,232	0,216	0,219±0,01		
4.00	6.00	80	0,415	0,448	0,435	0,433±0,02		
5.00	5.00	100	0,523	0,564	0,541	0,543±0,02		
7.00	3.00	140	0,771	0,805	0,793	0,790±0,02		

¹Promedio de 3 réplicas±desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 5. Valores de polifenoles totales para la materia prima.

Materia prima	abs. 760nm				Ecuación y = 0,0057x - 0,0127	(mg Ac Gálico/g) ^{1,2}
	R ₁	R ₂	R ₃	$\bar{X} \pm D_e^1$		
Cascarilla CCN51	0,046	0,033	0,051	0,043±0,01	9,83	9,83
Cascarilla Arriba	0,055	0,042	0,060	0,052±0,01	11,41	11,41
Hierba Luisa	0,020	0,009	0,014	0,014±0,01	4,74	4,74
Guayusa	0,027	0,032	0,016	0,025±0,01	6,61	6,61

¹Promedio de 3 réplicas±desviación estándar, ²Calculada mediante la ecuación mg Ácido Gálico/g=(a*b*d*f)/p; donde b=100, d=10, f=0,001 y p=1

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

ANÁLISIS REALIZADOS A LA INFUSIÓN

Tabla A 6. Valores de pH y desviación estándar en la infusión elaborada.

#	Tr	pH			
		R ₁	R ₂	R ₃	$\bar{X} \pm De^1$
1	1	6,96	6,86	6,96	6,93±0,06
2	a	6,64	6,57	6,63	6,61±0,04
3	b	7,21	7,19	7,21	7,20±0,01
4	ab	7,19	7,23	7,19	7,20±0,02
5	c	6,64	6,49	6,64	6,59±0,09
6	ac	6,99	6,76	6,99	6,91±0,13
7	bc	7,24	7,34	7,24	7,27±0,06
8	abc	6,80	6,90	6,80	6,83±0,06
9	d	7,28	7,28	7,28	7,28±0,00
10	ad	6,82	6,90	6,82	6,85±0,05
11	bd	6,96	6,76	6,96	6,89±0,12
12	abd	6,74	6,64	6,73	6,70±0,06
13	cd	7,31	7,21	7,31	7,28±0,06
14	acd	7,19	7,19	7,19	7,19±0,00
15	bcd	6,89	6,85	6,89	6,88±0,02
16	abcd	6,99	7,00	7,00	7,00±0,01
17	Testigo	6,88	6,94	6,90	6,91±0,03

¹Promedio de 3 réplicas ± desviación estándar.

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 7. Resultados promedio y desviación estándar de acidez, expresado en gramos de Ac. Cítrico por gramo de producto en todos los tratamientos.

		Acidez (g Ac. Cítrico/g de producto)			
#	Tr	R₁	R₂	R₃	$\bar{X} \pm De$
1	1	0,01	0,01	0,01	0,01 \pm 0,00
2	a	0,01	0,01	0,01	0,01 \pm 0,00
3	b	0,01	0,02	0,01	0,01 \pm 0,00
4	ab	0,01	0,01	0,01	0,01 \pm 0,00
5	c	0,01	0,01	0,01	0,01 \pm 0,00
6	ac	0,01	0,02	0,01	0,01 \pm 0,00
7	bc	0,01	0,01	0,02	0,01 \pm 0,00
8	abc	0,02	0,02	0,02	0,02 \pm 0,00
9	d	0,01	0,01	0,01	0,01 \pm 0,00
10	ad	0,01	0,01	0,01	0,01 \pm 0,00
11	bd	0,01	0,01	0,01	0,01 \pm 0,00
12	abd	0,02	0,01	0,01	0,01 \pm 0,00
13	cd	0,01	0,02	0,01	0,01 \pm 0,01
14	acd	0,01	0,01	0,01	0,01 \pm 0,00
15	bcd	0,01	0,01	0,01	0,01 \pm 0,00
16	abcd	0,02	0,02	0,02	0,02 \pm 0,00
17	Testigo	0,02	0,02	0,02	0,02 \pm 0,00

¹Promedio de 3 réplicas \pm desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 8. Resultados promedio y desviación estándar del % de humedad en todos los tratamientos.

#	Tr	% Humedad			
		R ₁	R ₂	R ₃	$\bar{X} \pm De^1$
1	1	9,91	9,91	9,91	9,91±0,00
2	a	9,52	9,52	9,21	9,42±0,18
3	b	8,95	8,95	8,95	8,95±0,00
4	ab	8,26	8,26	8,25	8,25±0,00
5	c	8,92	8,92	8,92	8,92±0,00
6	ac	9,65	9,65	9,65	9,65±0,00
7	bc	8,95	8,95	8,95	8,95±0,00
8	abc	9,34	9,34	9,34	9,34±0,00
9	d	8,93	8,92	8,93	8,93±0,00
10	ad	9,63	9,62	9,64	9,63±0,01
11	bd	8,91	8,92	8,92	8,92±0,01
12	abd	9,98	9,98	9,97	9,98±0,00
13	cd	8,99	8,99	8,99	8,99±0,00
14	acd	9,72	9,71	9,72	9,72±0,00
15	bcd	8,94	8,95	8,94	8,94±0,00
16	abcd	9,65	9,66	9,66	9,66±0,00
17	Testigo	9,76	9,73	9,67	9,72±0,00

¹Promedio de 3 réplicas ± desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Evaluación sensorial

Tabla A 9. Resultados de las pruebas sensoriales para la infusión de cascarilla.

Catadores	Tratamientos	Aceptabilidad	Color	Aroma	Sabor
1	1	2	2	2	2
	a	4	2	2	4
	c	3	4	3	3
	ac	2	3	3	2
	bd	4	3	2	4
	abd	1	4	4	2
2	b	1	3	2	1
	ab	1	2	2	2
	bc	2	2	2	2
	abc	4	3	4	4
	d	3	2	3	2
	ad	2	2	4	5
3	c	2	4	2	2
	ac	2	4	3	3
	d	4	3	4	4
	ad	3	1	1	4
	cd	3	2	3	3
	acd	4	3	3	2
4	bc	3	2	1	2
	abc	3	4	4	4
	bd	3	3	3	3
	abd	4	3	2	3
	bcd	4	4	4	4
	abcd	3	5	3	5
5	1	1	5	2	1
	a	1	5	3	1
	d	2	2	1	2
	ad	3	4	4	1
	bcd	3	4	3	3
	abcd	4	3	5	4
6	b	2	3	4	2
	ab	2	2	1	3
	bd	4	3	3	1
	abd	2	4	3	4
	cd	1	5	2	1
	acd	2	1	1	4

Tabla A 10. Resultados de las pruebas sensoriales para la infusión de cascarilla (cont.)

Catadores	Tratamientos	Aceptabilidad	Color	Aroma	Sabor
7	1	2	2	5	5
	a	2	2	2	3
	bc	3	5	3	3
	abc	4	4	2	5
	cd	5	5	3	5
	acd	3	5	5	5
8	b	3	4	4	4
	ab	2	3	3	3
	c	3	4	3	3
	ac	2	3	4	2
	bcd	5	2	3	5
	abcd	5	4	5	5
9	1	1	1	1	1
	b	1	2	5	1
	ac	3	5	3	5
	abc	5	3	4	5
	cd	5	3	3	5
	bcd	4	5	3	5
10	a	3	4	4	3
	ab	2	2	2	2
	c	1	3	5	1
	bc	3	2	3	3
	acd	5	4	2	4
	abcd	3	4	4	5
11	c	5	4	5	5
	bc	4	5	4	3
	d	2	2	3	2
	bd	2	5	5	2
	cd	4	2	2	4
	bcd	4	5	5	5
12	ac	1	4	2	2
	abc	5	5	3	4
	ad	3	1	2	2
	abd	3	4	4	5
	acd	4	3	3	4
	abcd	5	5	3	5

Tabla A 11. Resultados de las pruebas sensoriales para la infusión de cascarilla (cont.)

Catadores	Tratamientos	Aceptabilidad	Color	Aroma	Sabor
13	a	3	2	2	1
	ab	2	4	1	1
	ac	4	4	2	2
	abc	4	5	3	5
	d	4	4	4	3
	bd	2	4	4	4
14	1	1	5	5	2
	b	1	4	5	2
	c	2	3	3	3
	bc	2	3	3	3
	ad	5	4	2	5
	abd	1	1	2	3
15	a	3	5	3	3
	ab	1	4	4	1
	ad	5	3	4	2
	abd	3	4	3	5
	cd	4	3	3	4
	bcd	5	4	5	4
16	1	1	5	2	2
	b	1	2	3	2
	d	5	3	3	5
	bd	4	3	4	4
	acd	4	4	3	3
	abcd	5	5	5	5
17	1	2	3	2	3
	ab	1	4	1	1
	c	3	5	3	4
	abc	3	5	3	2
	ad	5	2	4	2
	bd	4	2	1	4
18	a	2	2	2	2
	b	3	3	3	3
	ac	3	3	3	3
	bc	3	3	3	3
	d	2	2	2	2
	abd	3	4	4	5

Tabla A 12. Resultados de las pruebas sensoriales para la infusión de cascarilla (cont.)

Catadores	Tratamientos	Aceptabilidad	Color	Aroma	Sabor
19	c	3	3	3	3
	abc	4	4	5	4
	d	3	3	3	3
	abd	4	3	3	4
	cd	3	3	3	3
	abcd	5	5	5	5
20	1	1	1	1	1
	ab	4	4	4	4
	ac	2	2	2	2
	bc	4	4	4	4
	cd	2	2	2	2
	abcd	4	2	2	5
21	1	2	2	2	2
	ab	3	4	1	3
	d	4	1	3	4
	abd	1	2	3	1
	acd	4	2	3	4
	bcd	3	5	3	3
22	ac	1	4	3	1
	bc	2	4	1	1
	ad	5	3	3	5
	bd	1	1	1	1
	acd	3	3	3	4
	bcd	4	3	2	3
23	a	3	4	3	3
	b	1	3	1	1
	ad	1	5	3	1
	bd	5	5	5	4
	cd	3	3	3	3
	abcd	4	4	5	5
24	a	1	1	2	1
	b	2	1	3	2
	c	1	3	2	1
	abc	3	2	4	4
	acd	3	4	4	3
	bcd	4	2	4	4

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Análisis microbiológico de los mejores 3 tratamientos de la infusión de cascarilla

Tabla A 13. Resultados (promedio y desviación estándar) del recuento total de mohos y levaduras (ufc/g)*10E-2 del tratamiento abc almacenado 18, 25 y 35 °C en función del tiempo.

Tr8:abc									
t (h)	T 18°C			T 25°C			T 35°C		
	R ₁	R ₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R ₁	R ₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R ₁	R ₂	$\bar{X} \pm D_e^1$
0	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
288	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
576	100	100	100±0,00	200	100	150±70,71	0	0	0±0,00
864	200	300	250±70,71	400	200	300±141,42	200	0	100±141,42
1152	300	400	350±70,71	900	700	800±141,42	200	100	150±70,71
1440	400	500	450±70,71	2400	3100	2750±494,97	800	400	600±282,84
1728	1900	2500	2200±424,26	3500	4800	4150±919,24	1500	900	1200±424,26
2016	5500	4500	5000±707,11	10800	11200	11000±282,84	6000	6300	6150±212,13
2304	6700	8900	7800±1555,63	18400	16800	17600±1131,37	22000	20300	21150±1202,08

¹Promedio de 2 réplicas ± desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 14. Resultados (promedio y desviación estándar) del recuento total de mohos y levaduras (ufc/g)* 10E-2 del tratamiento bcd almacenado a 18, 25 y 35 °C en función del tiempo.

Tr15:bcd									
t (h)	T 18°C			T 25°C			T 35°C		
	R ₁	R ₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R ₁	R ₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R ₁	R ₂	$\bar{X} \pm D_e^1$
0	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
288	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
576	100	100	100±0,00	200	100	150±70,71	0	0	0±0,00
864	200	300	250±70,71	200	100	150±70,71	0	0	0±0,00
1152	200	300	250±70,71	400	200	300±141,42	100	100	100±0,00
1440	500	400	450±70,71	700	600	650±70,71	100	300	200±141,42
1728	2300	1500	1900±565,69	2300	1800	2050±353,55	500	900	700±282,84
2016	4500	5200	4850±494,97	8200	7200	7700±707,11	5300	6300	5800±707,11
2304	7900	9000	8450±777,82	18400	19700	19050±919,24	21000	20300	20650±494,97

¹Promedio de 2 réplicas ± desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 15. Resultados (promedio y desviación estándar) del recuento total de mohos y levaduras (ufc/g)* 10E-2 del tratamiento abcd almacenado a 18, 25 y 35 °C en función del tiempo.

Tr16: abcd									
t (h)	T 18°C			T 25°C			T 35°C		
	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$
0	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
288	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
576	200	100	150±70,71	100	100	100±0,00	0	0	0±0,00
864	400	300	350±70,71	300	100	200±141,42	0	0	0±0,00
1152	500	400	450±70,71	500	200	350±212,13	200	100	150±70,71
1440	1800	900	1350±636,40	800	400	600±282,84	500	300	400±141,42
1728	3800	2400	3100±989,95	3000	1300	2150±1202,08	1800	900	1350±636,40
2016	5500	6600	6050±777,82	8000	5200	6600±1979,90	10200	7800	9000±1697,06
2304	7500	8700	8100±848,53	20000	19300	19650±494,97	25300	23400	24350±1343,50

¹Promedio de 2 réplicas ± desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 16. Resultados del recuento total de mesófilos aerobios (ufc/g)*10E-3 del tratamiento abc.

Tr8: abc									
t (h)	T 18°C			T 25°C			T 35°C		
	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$
0	51	42	46,50±6,36	49	50	49,50±0,71	47	50	48,50±2,12
288	47	45	46±1,41	39	45	42±4,24	41	34	37,50±4,95
576	42	40	41±1,41	32	37	34,50±3,54	29	34	31,50±3,54
864	33	31	32±1,41	23	29	26±4,24	21	29	25±5,66
1152	29	27	28±1,41	19	24	21,50±3,54	19	21	20±1,41
1440	17	22	19,50±3,54	13	20	16,50±4,95	15	19	17±2,83
1728	15	18	16,50±2,12	12	17	14,50±3,54	14	15	14,50±0,71
2016	13	15	14±1,41	8	14	11,50±4,24	12	14	13±1,41
2304	3	12	7,50±6,36	0	0	0±0,00	0	2	1±1,41

¹Promedio de 2 réplicas ± desviación estándar 10E+3

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 17. Resultados del recuento total de mesófilos aerobios (ufc/g)* 10E-3 del tratamiento bcd.

Tr15: bcd									
t (h)	T 18°C			T 25°C			T 35°C		
	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$
0	49	50	49,50±0,71	66	43	54,50±16,26	51	42	46,50±6,36
288	39	45	42±4,24	55	51	53±2,83	47	45	46±1,41
576	32	37	34,50±3,54	51	45	48±4,24	42	40	41±1,41
864	23	29	26±4,24	49	37	43±8,49	33	31	32±1,41
1152	19	24	21,50±3,54	35	30	32,50±3,54	29	27	28±1,41
1440	13	20	16,50±4,95	26	24	25±1,41	17	22	19,50±3,54
1728	12	17	14,50±3,54	19	20	19,50±0,71	15	18	16,50±2,12
2016	8	14	11±4,24	13	14	13,50±0,71	13	15	14±1,41
2304	5	9	7±2,83	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00

¹Promedio de 2 réplicas ± desviación estándar 10E+3

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 18. Resultados del recuento total de mesófilos aerobios (ufc/g)*10E-3 del tratamiento abcd.

Tr16: abcd									
t (h)	T 18°C			T 25°C			T 35°C		
	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$
0	47	50	48,50±2,12	51	42	46,50±6,36	66	43	54,50±16,26
288	41	34	37,50±4,95	47	45	46±1,41	55	51	53±2,83
576	29	34	31,50±3,54	42	40	41±1,41	51	45	48±4,24
864	21	29	25±5,66	33	31	32±1,41	49	37	43±8,49
1152	19	21	20±1,41	29	27	28±1,41	35	30	32,50±3,54
1440	15	19	17±2,83	17	22	19,50±3,54	26	24	25±1,41
1728	14	15	14,50±0,71	15	18	16,50±2,12	19	20	19,50±0,71
2016	12	14	13±1,41	13	15	14±1,41	13	14	13,50±0,71
2304	3	12	7,50±6,36	0	0	0±0,00	6	0	3±4,24

¹Promedio de 2 réplicas ± desviación estándar 10E+3

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 19. Resultados del recuento total de *E. coli* (ufc/g)*10E-1 del tratamiento abc.

Tr8: abc									
t (h)	T 18°C			T 25°C			T 35°C		
	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$
0	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
288	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
576	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
864	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1152	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1440	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1728	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
2016	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
2304	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00

¹Promedio de 2 réplicas ± desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 20. Resultados del recuento total de *E. coli* (ufc/g)*10E-1 del tratamiento bcd.

Tr15: bcd									
t (h)	T 18°C			T 25°C			T 35°C		
	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$
0	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
288	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
576	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
864	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1152	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1440	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1728	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
2016	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
2304	0	0	0±0,00	10	10	10±0,00	0	0	0±0,00

¹Promedio de 2 réplicas ± desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 21. Resultados del recuento total de *E. coli* (ufc/g)*10E-1 del tratamiento abcd.

Tr16: abcd									
t (h)	T 18°C			T 25°C			T 35°C		
	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$
0	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
288	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
576	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
864	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1152	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1440	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1728	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
2016	0	0	0±0,00	20	20	20±0,00	0	0	0±0,00
2304	0	0	0±0,00	20	20	20±0,00	0	0	0±0,00

¹Promedio de 2 réplicas ± desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 22. Resultados del recuento total de *Staphylococcus aureus* (ufc/g)*10E-2 del tratamiento abc.

Tr8: abc									
t (h)	T 18°C			T 25°C			T 35°C		
	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$
0	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
288	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
576	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
864	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1152	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1440	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1728	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
2016	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
2304	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00

¹Promedio de 2 réplicas ± desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 23. Resultados del recuento total de *Staphylococcus aureus* (ufc/g)*10E-2 del tratamiento bcd.

Tr15: bcd									
t (h)	T 18°C			T 25°C			T 35°C		
	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$
0	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
288	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
576	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
864	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1152	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1440	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1728	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
2016	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
2304	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00

¹Promedio de 2 réplicas ± desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 24. Resultados del recuento total de *Staphylococcus aureus* (ufc/g)*10E-2 del tratamiento abcd.

Tr16: abcd									
t (h)	T 18°C			T 25°C			T 35°C		
	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$	R₁	R₂	$\bar{X} \pm D_e^1$
0	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
288	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
576	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
864	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1152	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1440	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
1728	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
2016	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00
2304	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00	0	0	0±0,00

¹Promedio de 2 réplicas ± desviación estándar

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

DETERMINACIÓN DE VIDA ÚTIL

Tabla A 25. Valores obtenidos en el recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 18°C, correspondientes al tratamiento abc.

t (h)	18 °C (291,15 °K)			
	ufc/g	Ln(ufc/g)	Log(ufc/g)	$\mu(h^{-1})$
0	0	0	0	0,004
288	0	0	0	0,004
576	100	4,605	2,000	0,003
864	250	5,521	2,398	0,002
1152	350	5,858	2,544	0,003
1440	450	6,109	2,653	0,003
1728	2200	7,696	3,342	0,002
2016	5000	8,517	3,699	0,002
2304	7800	8,962	3,892	
$\mu\bar{X}$				0,0029

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 26. Valores obtenidos del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 25 °C correspondientes al tratamiento abc.

t (h)	25 °C (298,15 °K)			
	ufc/g	Ln(ufc/g)	Log(ufc/g)	$\mu(h^{-1})$
0	0	0	0	0,004
288	0	0	0	0,005
576	150	5,011	2,176	0,003
864	300	5,704	2,477	0,003
1152	800	6,685	2,903	0,003
1440	2750	7,919	3,439	0,002
1728	4150	8,331	3,618	0,003
2016	11000	9,306	4,041	0,002
2304	17600	9,776	4,246	
$\mu\bar{X}$				0,0030

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 27. Valores obtenidos del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 35 °C correspondientes al tratamiento abc.

t (h)	35 °C (308,15 °K)			
	ufc/g	Ln(ufc/g)	Log(ufc/g)	$\mu(h^{-1})$
0	0	0	0	0,005
240	0	0	0	0,006
480	0	0	0	0,007
720	100	4,605	2,000	0,004
960	150	5,011	2,176	0,005
1200	600	6,397	2,778	0,005
1440	1200	7,090	3,079	0,006
1680	6150	8,724	3,789	0,005
1920	21150	9,959	4,325	
$\mu\bar{X}$				0,0055

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 28. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento abc.

T (°C)	¹ Ecuaciones ufc/g	² $\mu(h^{-1})$	³ T (°K)	⁴ 1/T	⁵ Ln μ
18	Ln(ufc)= 0,0039x+0,7075	0,0029	291,15	0,00343	-5,8524
25	Ln(ufc)= 0,0044x+0,8006	0,0030	298,15	0,00335	-5,8239
35	Ln(ufc)= 0,0057x-0,8225	0,0055	308,15	0,00325	-5,2094

¹La ecuación se obtiene graficando Ln(ufc) en función del tiempo para cada temperatura. ²Valor promedio de μ en cada temperatura. ³Temperatura en grados kelvin. ⁴Se obtiene dividiendo 1 para temperatura en °K. ⁵Se lo obtiene sacando el Ln μ .

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 29. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento abc (cont.)

T (°C)	⁶ R [J/mol.K]	⁷ m	⁸ LnA	⁹ Ea=-(m*R)	¹⁰ μ	¹¹ Ln ufc/g máximo	¹² T. V. U. (días)
18	8,314	3521,230	6,14859	29276,91	0,0026	9,2103404	146,6
25					0,0035		110,4
35					0,0051		75,2

⁶Constante universal de los gases. ⁷Pendiente obtenida de la gráfica Ln μ en función de 1/T. ⁸Intersección obtenida de la gráfica Ln μ en función de 1/T. ⁹Energía de activación se reemplaza los valores de m y R. ¹⁰Se lo obtiene mediante la ecuación $Ln\mu=LnA-(Ea/R*T)$. ¹¹Ln del valor máximo de ufc/g Norma INEN 2392. ¹²El tiempo de vida útil se lo determina mediante $T.V.U.=\mu/Ln\text{ ufc/g Máximo}$.

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 30. Valores del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 18 °C en el tratamiento bcd.

t (h)	18 °C (291,15 °K)			
	ufc/g	Ln(ufc/g)	Log(ufc/g)	$\mu(h^{-1})$
0	0	0	0	0,004
288	0	0	0	0,004
576	100	4,605	2,000	0,003
864	250	5,521	2,398	0,002
1152	250	5,521	2,398	0,003
1440	450	6,109	2,653	0,003
1728	1900	7,550	3,279	0,003
2016	4850	8,487	3,686	0,002
2304	8450	9,042	3,927	
$\mu\bar{X}$				0,0030

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 31. Valores del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 25 °C en el tratamiento bcd.

t (h)	25 °C (298,15 °K)			
	ufc/g	Ln(ufc/g)	Log(ufc/g)	$\mu(h^{-1})$
0	0	0	0	0,004
288	0	0	0	0,005
576	150	5,011	2,176	0,003
864	150	5,011	2,176	0,003
1152	300	5,704	2,477	0,004
1440	650	6,477	2,813	0,004
1728	2050	7,626	3,312	0,004
2016	7700	8,949	3,886	0,003
2304	19050	9,855	4,280	
$\mu\bar{X}$				0,0037

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 32. Valores obtenidos del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 35 °C para el tratamiento bcd.

t (h)	35 °C (308,15 °K)			
	ufc/g	Ln(ufc/g)	Log(ufc/g)	$\mu(h^{-1})$
0	0	0	0	0,005
240	0	0	0	0,006
480	0	0	0	0,007
720	0	0	0	0,008
960	100	4,605	2,000	0,006
1200	200	5,298	2,301	0,006
1440	700	6,551	2,845	0,007
1680	5800	8,666	3,763	0,005
1920	20650	9,935	4,315	
$\mu\bar{X}$				0,0063

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 33. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento bcd.

T (°C)	¹ Ecuaciones ufc/g	² $\mu(h^{-1})$	³ T (°K)	⁴ 1/T	⁵ Ln μ
18	Ln(ufc)= 0,0039x+0,6637	0,0030	291,15	0,00343	-5,7930
25	Ln(ufc)= 0,0042x+0,5393	0,0037	298,15	0,00335	-5,5906
35	Ln(ufc)= 0,0042x-0,5393	0,0063	308,15	0,00325	-5,0632

¹La ecuación se obtiene graficando Ln(ufc) en función del tiempo para cada temperatura. ²Valor promedio de μ en cada temperatura. ³Temperatura en grados kelvin. ⁴Se obtiene dividiendo 1 para temperatura en °K. ⁵Se lo obtiene sacando el Ln μ .

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 34. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento bcd (cont.)

T (°C)	⁶ R [J/mol.K]	⁷ m	⁸ LnA	⁹ Ea=-(m*R)	¹⁰ μ	¹¹ Ln ufc/g máximo	¹² T. V. U. (días)
18	8,314	3907,816	7,58787	32491,15	0,0029	9,21	131,2
25					0,0040		95,7
35					0,0061		62,5

⁶Constante universal de los gases. ⁷Pendiente obtenida de la gráfica Ln μ en función de 1/T. ⁸Intersección obtenida de la gráfica Ln μ en función de 1/T. ⁹Energía de activación se reemplaza los valores de m y R. ¹⁰Se lo obtiene mediante la ecuación $Ln\mu=LnA-(Ea/R*T)$. ¹¹Ln del valor máximo de ufc/g Norma INEN 2392. ¹²El tiempo de vida útil se lo determina mediante $T.V.U.=\mu/Ln \text{ ufc/g Máximo}$.

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 35. Valores del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 18 °C en el tratamiento abcd.

t (h)	18 °C (291,15 °K)			
	ufc/g	Ln(ufc/g)	Log(ufc/g)	$\mu(h^{-1})$
0	0	0	0	0,004
288	0	0	0	0,004
576	150	5,011	2,176	0,002
864	350	5,858	2,544	0,002
1152	450	6,109	2,653	0,003
1440	1350	7,208	3,130	0,002
1728	3100	8,039	3,491	0,002
2016	6050	8,708	3,782	0,001
2304	8100	9,000	3,908	
$\mu\bar{X}$				0,0025

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 36. Valores del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 25 °C en el tratamiento abcd.

t (h)	25 °C (298,15 °K)			
	ufc/g	Ln(ufc/g)	Log(ufc/g)	$\mu(h^{-1})$
0	0	0	0	0,004
288	0	0	0	0,005
576	100	4,605	2,000	0,003
864	200	5,298	2,301	0,003
1152	350	5,858	2,544	0,003
1440	600	6,397	2,778	0,004
1728	2150	7,673	3,332	0,004
2016	6600	8,795	3,820	0,004
2304	19650	9,886	4,293	
$\mu\bar{X}$				0,0038

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 37. Valores del recuento de mohos y levaduras para calcular vida útil a 35°C para el tratamiento abcd.

t (h)	35 °C (308,15 °K)			
	ufc/g	Ln(ufc/g)	Log(ufc/g)	$\mu(h^{-1})$
0	0	0	0	0,005
240	0	0	0	0,006
480	0	0	0	0,007
720	0	0	0	0,008
960	150	5,011	2,176	0,005
1200	400	5,991	2,602	0,006
1440	1350	7,208	3,130	0,006
1680	9000	9,105	3,954	0,004
1920	24350	10,100	4,386	
$\mu\bar{X}$				0,0060

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 38. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento abcd.

T (°C)	¹ Ecuaciones ufc/g	² $\mu(h^{-1})$	³ T (°K)	⁴ 1/T	⁵ Ln μ
18	Ln(ufc)= 0,004x+0,9128	0,0025	291,15	0,00343	-5,9853
25	Ln(ufc)= 0,0042x+0,5127	0,0038	298,15	0,00335	-5,5662
35	Ln(ufc)= 0,0061x-1,7176	0,0060	308,15	0,00325	-5,1184

¹La ecuación se obtiene graficando Ln(ufc) en función del tiempo para cada temperatura. ²Valor promedio de μ en cada temperatura. ³Temperatura en grados kelvin. ⁴Se obtiene dividiendo 1 para temperatura en °K. ⁵Se lo obtiene sacando el Ln μ .

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla A 39. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento abcd (cont.)


T (°C)	⁶ R [J/mol.K]	⁷ m	⁸ LnA	⁹ Ea=-(m*R)	¹⁰ μ	¹¹ Ln ufc/g máximo	¹² T. V. U. (días)
18	8,314	4548,995	9,65801	37822,17	0,0026	9,2103404	149,7
25					0,0037		103,7
35					0,0061		63,2

⁶Constante universal de los gases. ⁷Pendiente obtenida de la gráfica Ln μ en función de 1/T. ⁸Intersección obtenida de la gráfica Ln μ en función de 1/T. ⁹Energía de activación se reemplaza los valores de m y R. ¹⁰Se lo obtiene mediante la ecuación $Ln\mu=LnA-(Ea/R*T)$. ¹¹Ln del valor máximo de ufc/g Norma INEN 2392. ¹²El tiempo de vida útil se lo determina mediante $T.V.U.=\mu/Ln\text{ ufc/g Máximo}$.

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

ANÁLISIS PROXIMAL

Tabla A 40. Análisis proximal del mejor tratamiento abcd según vida útil.

Descripción de las muestras:						
Producto: Mezcla de cascarilla de cacao, guayusa y stevia,			Peso: 200g, 175g			
Marca comercial: n/a			Tipo de empaque: funda plástica			
Lote: n/a			No de muestras: 2			
F. Elb.: n/a			F. Exp.: n/a			
Conservación: Ambiente: X Refrigeración: Congelación:			Almac. en Lab: n/a			
Cierres seguridad: Ninguno: X Intactos: Rotos:			Muestreo por el cliente: 23 febrero 2015			
RESULTADOS OBTENIDOS						
Muestras	Código del laboratorio	Código cliente	Ensayos solicitados	Métodos utilizados	Unidades	Resultados
Mezcla de cascarilla de cacao, guayusa y stevia	3815103	Tratamiento T16	Cenizas	PE14-S-4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 923.03	%	8.21
			Proteína	PE16-S-4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 2001.11	%(Nx6.25)	16
			Humedad	PE15-S-4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 925.10	%	5.91
			Grasa	PE17-S-4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 2003.06	%	3.4
			Fibra dietética total	AOAC 985.29. Ed 19, 2012	%	8.12
			Carbohidratos Totales	Cálculo	%	58.4
			Energía	Cálculo	Kcal/100g	328
			Cascarilla de cacao	3815104	Testigo	Cenizas
Proteína	PE16-S-4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 2001.11	%(Nx6.25)				16.2
Humedad	PE15-S-4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 925.10	%				6.64
Grasa	PE17-S-4-FQ. AOAC Ed 19, 2012 2003.06	%				5.36
Fibra dietética total	AOAC 985.29. Ed 19, 2012	%				6.48
Carbohidratos Totales	Cálculo	%				56.9
Energía	Cálculo	Kcal/100g				311
Conds. Ambientales: 19.2 °C; 50%HR						
 <p style="text-align: center;">Ing. Gladys Risueño Directora de Calidad</p>						
Autorización para transferencia electrónica de resultados: Si						

Nota: Los resultados consignados se refieren exclusivamente a la muestra recibida. El Laboratorio no es responsable por el uso incorrecto de este certificado.

No es un documento negociable. Sólo se permite su reproducción sin fines de lucro y haciendo referencia a la fuente.

"La información que se está enviando es confidencial, exclusivamente para su destinatario, y no puede ser vinculante. Si usted no es el destinatario de esta información recomendamos eliminarla inmediatamente. La distribución o copia del mismo está prohibida y será sancionada según el proceso legal pertinente".

Fuente: Laboratorio de Control y Análisis De Alimentos (LACONAL), 2015

ANEXO B: ANÁLISIS ESTADÍSTICO EN STATGRAPHICS CENTURION XVI

Tabla B 1. Análisis de varianza para pH en la infusión de cascarilla-suma de cuadrados Tipo III.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A: Variedad de cascarilla	0,195075	1	0,195075	58,36	0,0000*
B: variedad de hierba	0,0225333	1	0,0225333	6,74	0,0145*
C: % de cascarilla	0,0147	1	0,0147	4,40	0,0445*
D: edulcorante	0,0481333	1	0,0481333	14,40	0,0007*
AB	0,0	1	0,0	0,00	1,0000
AC	0,136533	1	0,136533	40,85	0,0000*
AD	0,0048	1	0,0048	1,44	0,2402
BC	0,0200083	1	0,0200083	5,99	0,0205*
BD	1,26101	1	1,26101	377,25	0,0000*
CD	0,170408	1	0,170408	50,98	0,0000*
ABC	0,232408	1	0,232408	69,53	0,0000*
ABD	0,151875	1	0,151875	45,44	0,0000*
ACD	0,039675	1	0,039675	11,87	0,0017*
BCD	0,0075	1	0,0075	2,24	0,1446
ABCD	0,2028	1	0,2028	60,67	0,0000*
bloques	0,0189875	2	0,00949375	2,84	0,0742
Error total	0,100279	30	0,00334264		
Total (corr.)	2,62673	47			

*indica una diferencia significativa

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla B 2. Análisis de varianza para acidez en la infusión de cascarilla-suma de cuadrados Tipo III.

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A: Variedad de cascarilla	0,0000240833	1	0,0000240833	0,18	0,6785
B: variedad de hierba	0,00000675	1	0,00000675	0,05	0,8261
C: % de cascarilla	0,000261333	1	0,000261333	1,90	0,1781
D: edulcorante	0,0000800833	1	0,0000800833	0,58	0,4513
AB	0,00009075	1	0,00009075	0,66	0,4229
AC	0,0000963333	1	0,0000963333	0,70	0,4091
AD	0,000154083	1	0,000154083	1,12	0,2982
BC	0,000133333	1	0,000133333	0,97	0,3326
BD	0,0000800833	1	0,0000800833	0,58	0,4513
CD	0,0000853333	1	0,0000853333	0,62	0,4369
ABC	0,000176333	1	0,000176333	1,28	0,2664
ABD	0,000154083	1	0,000154083	1,12	0,2982
ACD	0,000161333	1	0,000161333	1,17	0,2873
BCD	0,000108	1	0,000108	0,79	0,3825
ABCD	0,000161333	1	0,000161333	1,17	0,2873
bloques	0,000266792	2	0,000133396	0,97	0,3905
Error total	0,00412387	30	0,000137462		
Total (corr.)	0,00616392	47			

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla B 3. Análisis de varianza para % de Humedad en la infusión de cascarilla-suma de cuadrados Tipo III.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:variedad de cascarilla	1,85064	1	1,85064	918,51	0,0000*
B:variedad de hierba	0,891893	1	0,891893	442,67	0,0000*
C:% de cascarilla	0,00693602	1	0,00693602	3,44	0,0734
D:edulcorante	0,347991	1	0,347991	172,72	0,0000*
AB	0,00747502	1	0,00747502	3,71	0,0636
AC	0,74227	1	0,74227	368,40	0,0000*
AD	2,01351	1	2,01351	999,35	0,0000*
BC	0,362095	1	0,362095	179,72	0,0000*
BD	1,3012	1	1,3012	645,81	0,0000*
CD	0,0423047	1	0,0423047	21,00	0,0001*
ABC	0,04807	1	0,04807	23,86	0,0000*
ABD	0,14509	1	0,14509	72,01	0,0000*
ACD	1,29922	1	1,29922	644,83	0,0000*
BCD	0,979551	1	0,979551	486,17	0,0000*
ABCD	0,010121	1	0,010121	5,02	0,0326*
bloques	0,00379137	2	0,00189569	0,94	0,4015
Error total	0,0604446	30	0,00201482		
Total (corr.)	10,1126	47			

*indica una diferencia significativa

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

ANÁLISIS SENSORIAL

Tabla B 4. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación a color

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTOS	31,3194	15	2,08796	1,65	0,0734
B:CATADORES	41,875	23	1,82065	1,44	0,1111
RESIDUOS	133,014	105	1,2668		
TOTAL (CORREGIDO)	201,972	143			

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla B 5. Prueba de múltiple rangos para color por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
9	9	2,34722	0,396548	a
10	9	2,59722	0,396548	a
1	9	2,82639	0,396548	a
2	9	2,82639	0,396548	a
3	9	2,90972	0,396548	a
13	9	2,95139	0,396548	a
11	9	2,97222	0,396548	a
12	9	3,22222	0,396548	a
4	9	3,36806	0,396548	a
14	9	3,38889	0,396548	a
7	9	3,47222	0,396548	a
6	9	3,74306	0,396548	a
5	9	3,80556	0,396548	a
15	9	3,84722	0,396548	a
8	9	3,95139	0,396548	a
16	9	3,99306	0,396548	a

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla B 6. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación a aroma

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTOS	31,3125	15	2,0875	1,84	0,0378*
B:CATADORES	31,5903	23	1,37349	1,21	0,2505
RESIDUOS	118,854	105	1,13194		
TOTAL (CORREGIDO)	182,993	143			

*indica una diferencia significativa

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla B 7. Prueba de múltiple rangos para aroma por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>TRATAMIENTOS</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
4	9	2,15278	0,374847	b
2	9	2,38194	0,374847	ba
13	9	2,42361	0,374847	ba
1	9	2,48611	0,374847	ba
7	9	2,61111	0,374847	ba
9	9	2,81944	0,374847	ba
6	9	2,98611	0,374847	ba
5	9	3,02778	0,374847	ba
10	9	3,11111	0,374847	ba
12	9	3,17361	0,374847	ba
14	9	3,17361	0,374847	ba
3	9	3,25694	0,374847	ba
11	9	3,29861	0,374847	ba
15	9	3,48611	0,374847	ba
8	9	3,65278	0,374847	ba
16	9	4,06944	0,374847	a

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla B 8. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación a sabor

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTOS	87,9792	15	5,86528	4,70	0,0000*
B:CATADORES	37,2014	23	1,61745	1,30	0,1882
RESIDUOS	131,021	105	1,24782		
TOTAL (CORREGIDO)	257,306	143			

*indica una diferencia significativa

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla B 9. Prueba de múltiple rangos para sabor por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
3	9	1,90278	0,393566	c
1	9	1,96528	0,393566	c
4	9	2,29861	0,393566	cb
6	9	2,31944	0,393566	cb
2	9	2,40278	0,393566	cb
7	9	2,50694	0,393566	cb
5	9	2,71528	0,393566	cb
9	9	3,09028	0,393566	cba
13	9	3,11111	0,393566	cba
11	9	3,13194	0,393566	cba
10	9	3,25694	0,393566	cba
12	9	3,54861	0,393566	cba
14	9	3,71528	0,393566	cba
8	9	4,02778	0,393566	ba
15	9	4,15278	0,393566	ba
16	9	4,96528	0,393566	a

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla B 10. Análisis de varianza para análisis sensorial en relación a aceptabilidad

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:TRATAMIENTOS	90,7708	15	6,05139	5,71	0,0000*
B:CATADORES	26,1042	23	1,13496	1,07	0,3890
RESIDUOS	111,229	105	1,05933		
TOTAL (CORREGIDO)	233,0	143			

*indica una diferencia significativa

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

Tabla B 11. Prueba de múltiple rangos para aceptabilidad por tratamientos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

TRATAMIENTOS	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1	9	1,375	0,362624	e
3	9	1,79167	0,362624	ed
4	9	1,9375	0,362624	edc
6	9	2,04167	0,362624	edcb
12	9	2,375	0,362624	edcba
2	9	2,47917	0,362624	edcba
5	9	2,5	0,362624	edcba
7	9	3,02083	0,362624	edcba
13	9	3,1875	0,362624	dcb
9	9	3,20833	0,362624	dcb
11	9	3,20833	0,362624	dcb
14	9	3,6875	0,362624	cb
10	9	3,79167	0,362624	ba
8	9	3,85417	0,362624	a
15	9	4,04167	0,362624	a
16	9	4,16667	0,362624	a

Elaborado por: Claudia Tapia, 2015

ANEXO C: GRÁFICOS

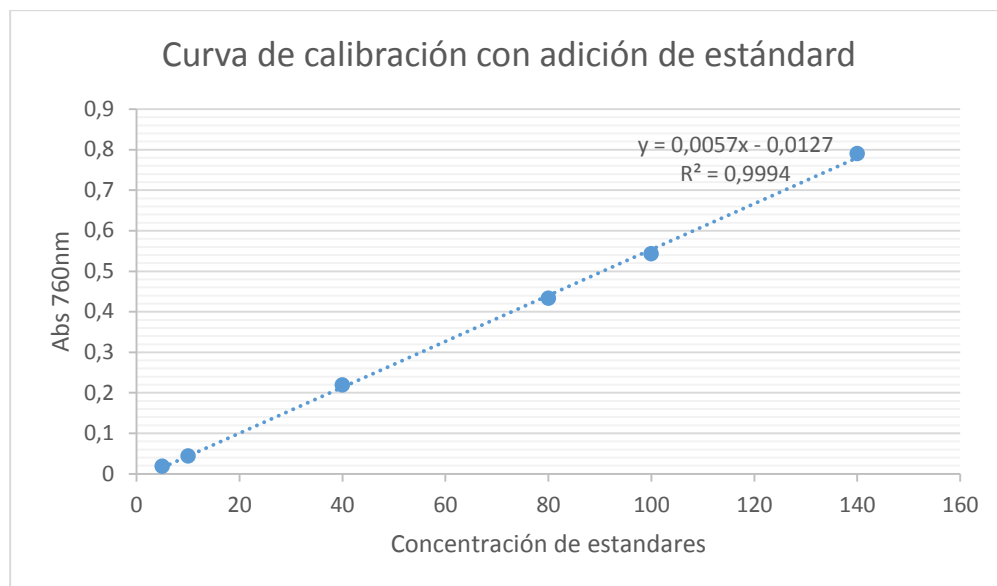


Figura C 1. Curva de estándar para polifenoles absorbancia (760 nm) en función de concentración.

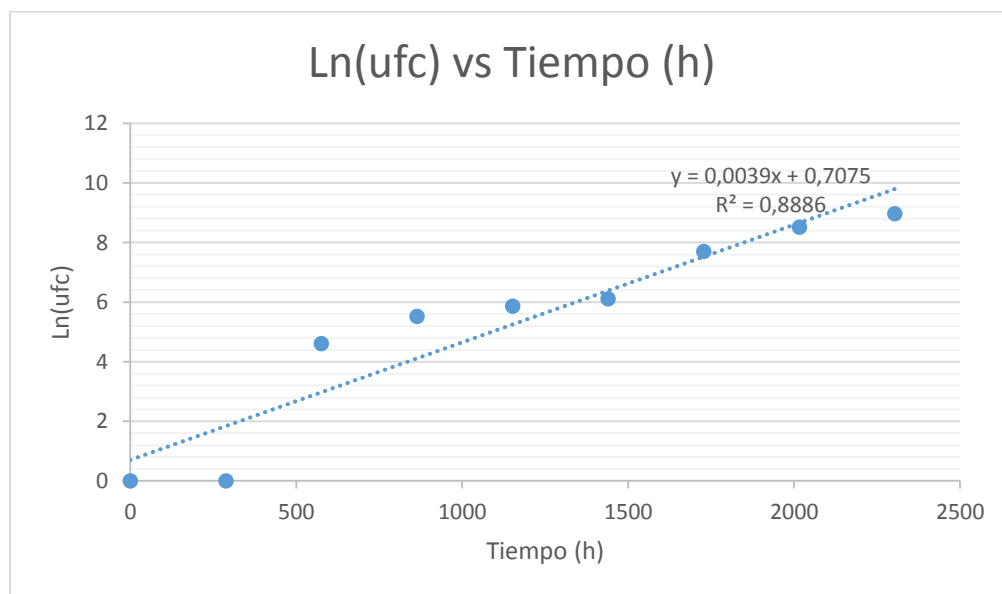


Figura C 2. Ln (ufc) en función del tiempo a 18 °C, tratamiento abc.

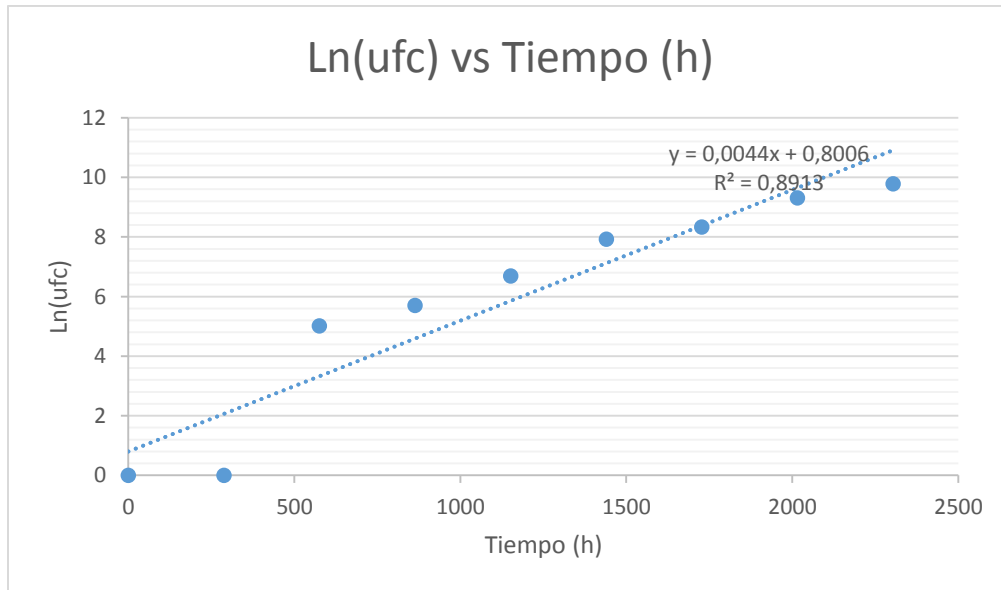


Figura C 3. Ln (ufc) en función del tiempo a 25 °C, tratamiento abc.

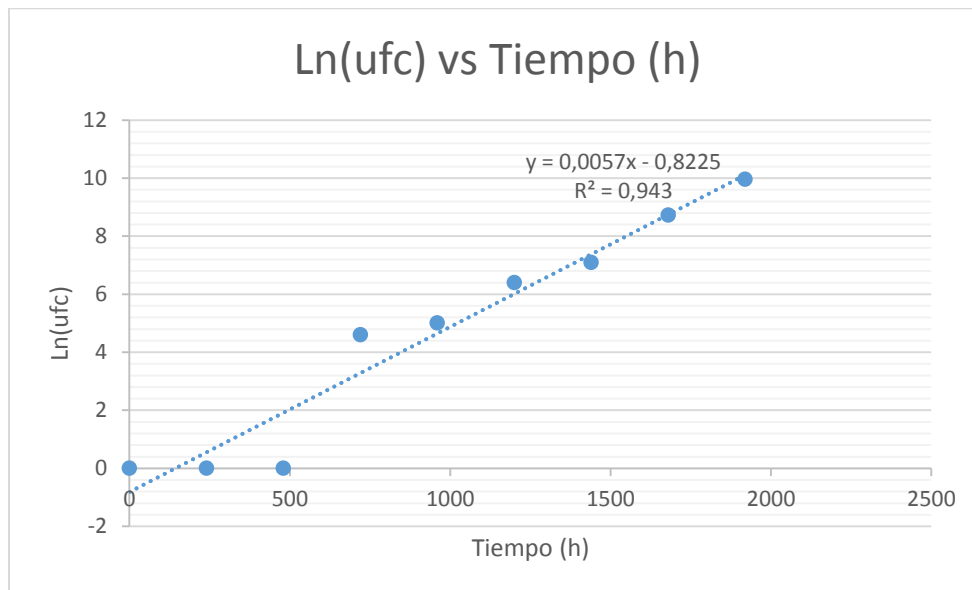


Figura C 4. Ln (ufc) en función del tiempo a 35 °C, tratamiento abc.

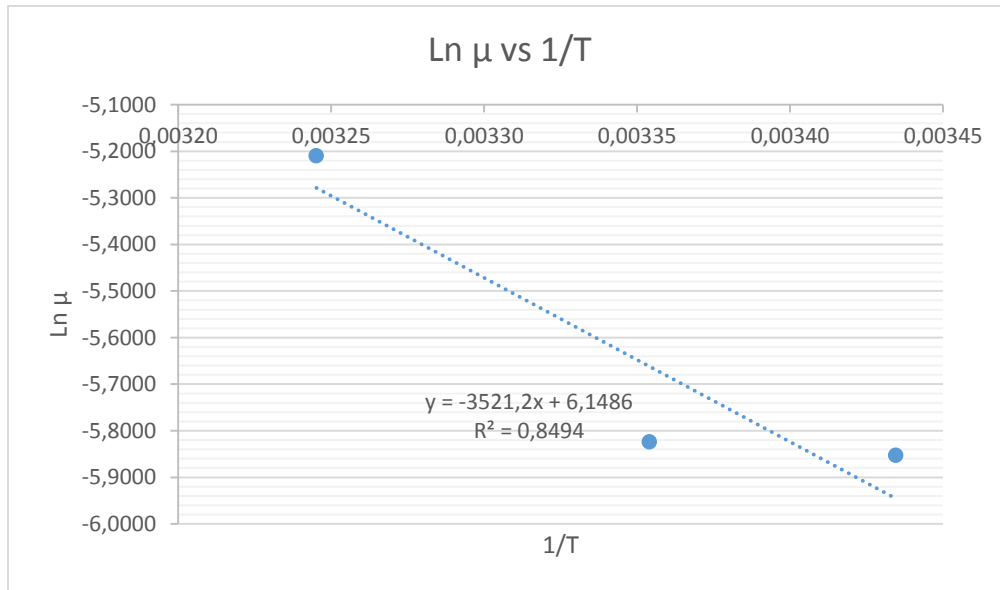


Figura C 5. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento abc.

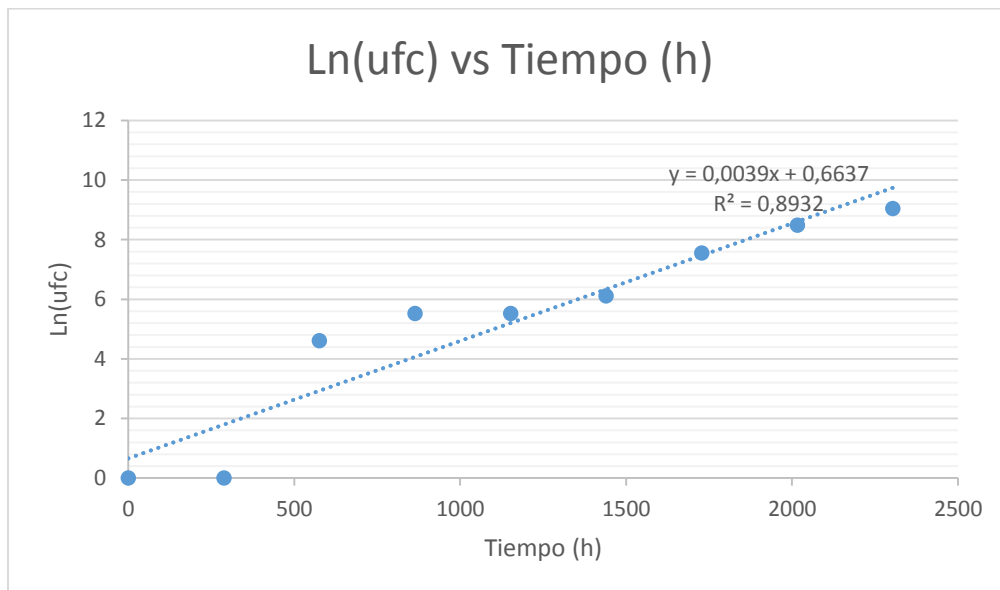


Figura C 6. Ln (ufc) en función del tiempo a 18 °C, tratamiento bcd.

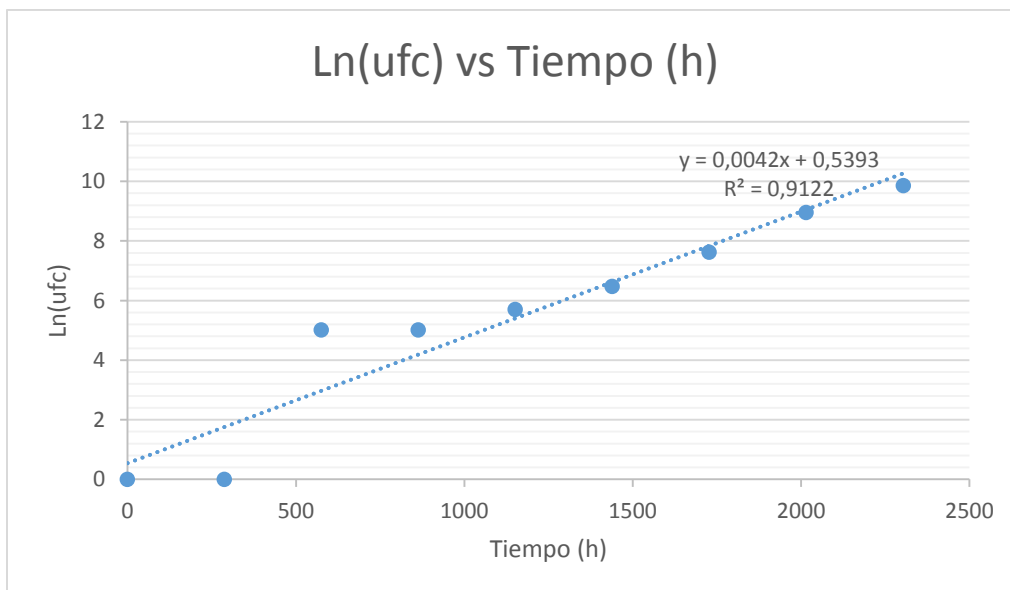


Figura C 7. Ln (ufc) en función del tiempo a 25 °C, tratamiento bcd.

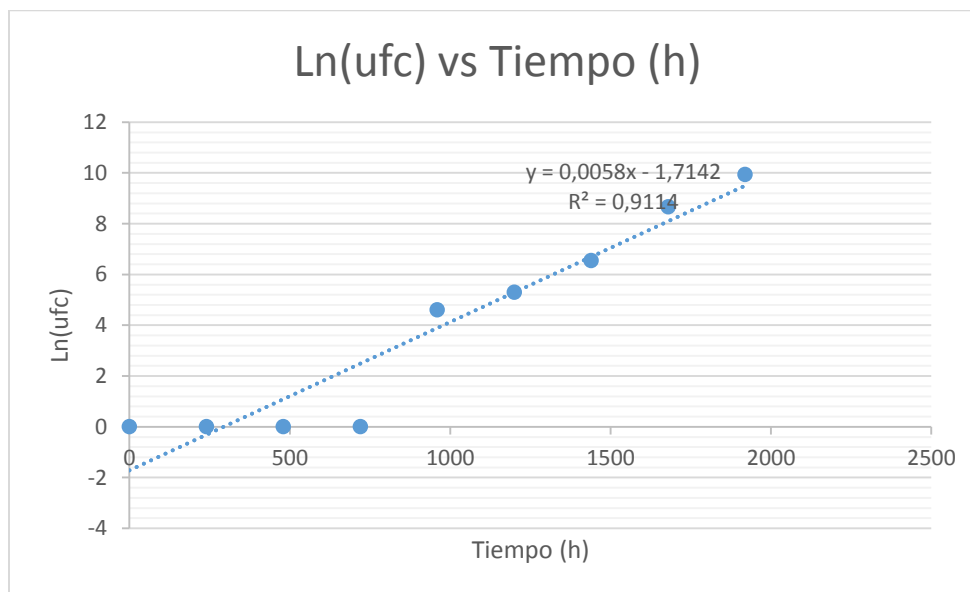


Figura C 8. Ln (ufc) en función del tiempo a 35 °C, tratamiento bcd.

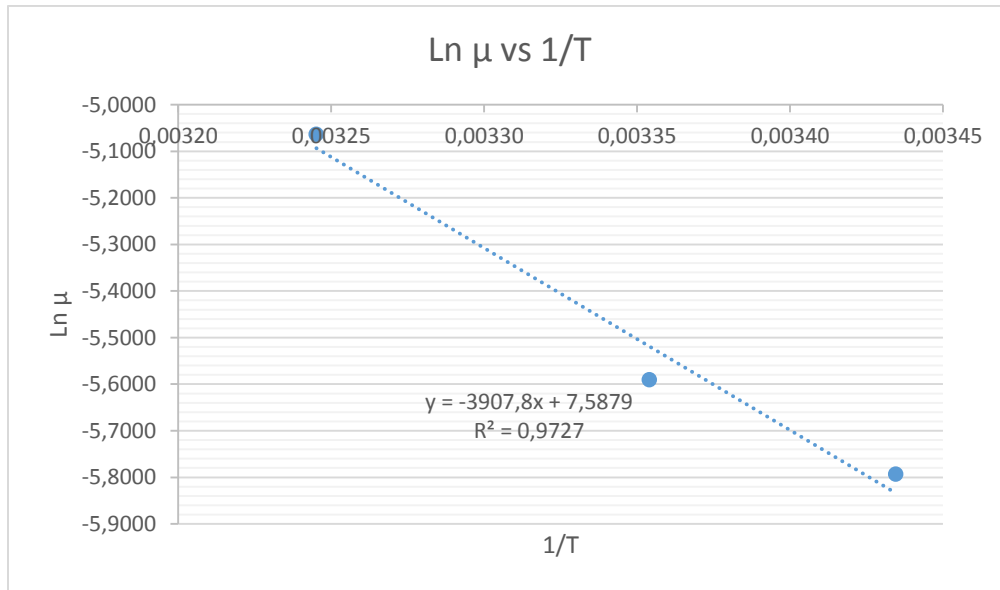


Figura C 9. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento bcd.

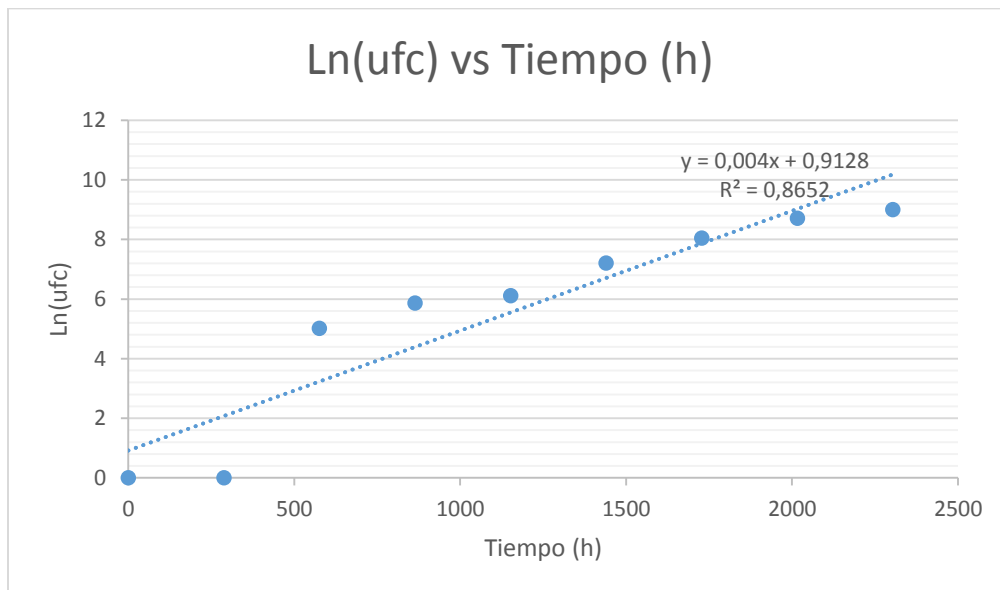


Figura C 10. Ln (ufc) en función del tiempo a 18 °C, tratamiento abcd.

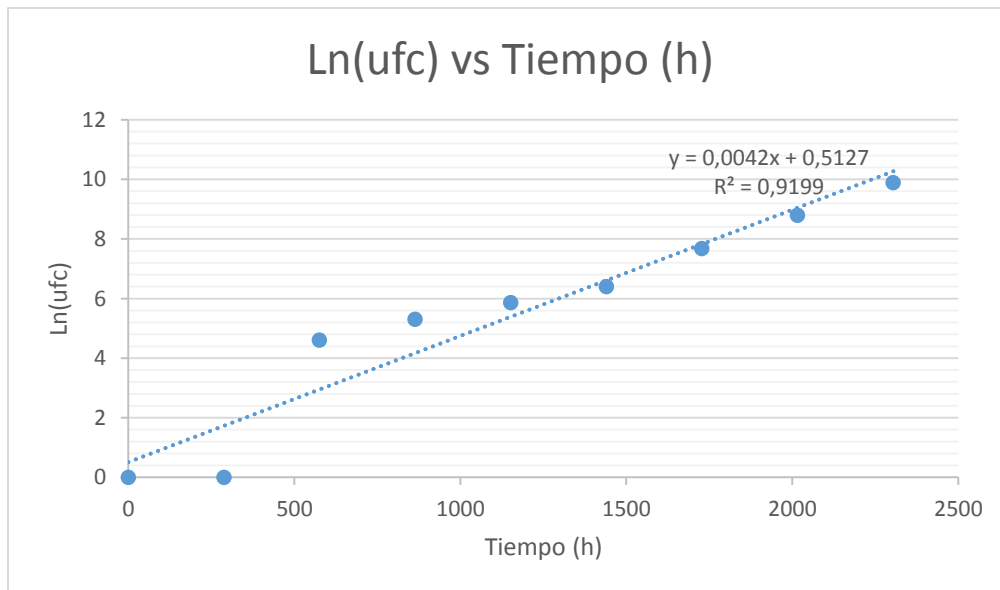


Figura C 11. Ln (ufc) en función del tiempo a 25 °C, tratamiento abcd.

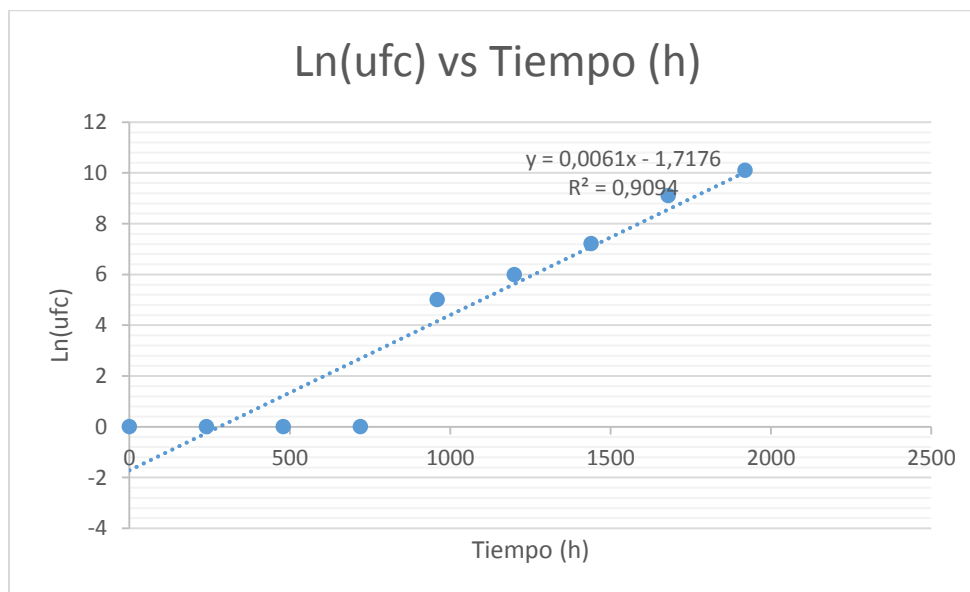


Figura C 12. Ln (ufc) en función del tiempo a 35 °C, tratamiento abcd.

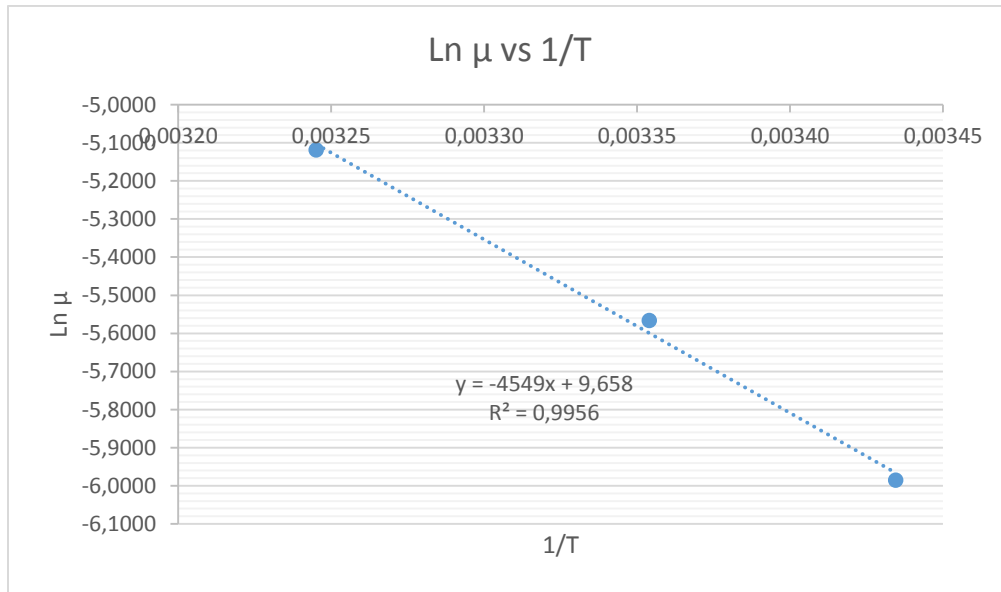


Figura C 13. Cálculo del tiempo de vida útil para el tratamiento abcd.

ANEXO D: MÉTODOS EMPLEADOS

Anexo D-1: EXTRACCIÓN DE GRASA

Principio del método

La materia grasa del polvo de cacao es extraída con éter de petróleo mediante extracción continua en Soxhlet por ocho horas, se recupera el solvente del extracto etéreo y a continuación se seca la grasa en una estufa por dos horas, la grasa seca se pasa a un desecador a enfriar y se pesa.

Campo de aplicación

- Polvo de almendras de cacao secas, fermentadas y no fermentadas
- Polvo de licor de cacao

Reactivos

- Agua destilada
- Éter de Petróleo (rango de ebullición de 40 a 60°C)

Equipos y materiales

- Equipo de Extractor Soxhlet con uniones esmeriladas capacidad 250 ml.
- Camisas de calentamiento
- Algodón libre de grasa
- Papel filtro de 16 cm
- Dedal de extracción de 33 mm x 88 mm libre de grasa
- Núcleos de ebullición
- Desecador con desecante
- Estufa a 105°C
- Balones de 250 ml con uniones esmeriladas

- Balanza analítica de precisión 0.1mg Citizen, Modelo CX301

Procedimiento:

- a) Colocar en la estufa a 105 °C un balón de destilación con dos núcleos de ebullición durante dos horas.
- b) Sacar el balón de destilación en un desecador, dejar enfriar y pesar.
- c) Doblar el papel filtro de 16 cm formando un sobre e introducir en el dedal de extracción.
- d) Pesar 5 gramos de muestra en el dedal de extracción.
- e) Cerrar el sobre de papel filtro, cubrir el dedal de extracción con algodón y colocar dentro del extractor Soxhlet.
- f) Medir en una probeta 180 ml de éter de petróleo y trasvasar al balón de destilación.
- g) Unir el Soxhlet con el balón de destilación y conectar al refrigerante.
- h) Colocar el equipo completo sobre el dispositivo de calentamiento, abrir el paso de agua para el refrigerante, extraer por ocho horas.
- i) Sacar el cartucho del Soxhlet, recuperar el solvente y secar el balón con grasa a una estufa a 105°C por dos horas.
- j) Sacar los balones de la estufa a un desecador, dejar que se enfríe y pesar.

Observaciones:

- Para la operación de pesado de la muestra se debe tomar en consideración tres cifras decimales.

Cálculos y expresión de los resultados

La cuantificación se realiza utilizando la siguiente fórmula:

$$\%Grasa = \frac{P_f - P}{P_m} \times 100$$

Donde:

P_f = Peso final del balón y muestra.

P =Peso balón vacío.

P_m = peso de la muestra.

Anexo D-2: Determinación de polifenoles totales

Principio del método

Los polifenoles totales son extraídos con una solución acuosa de metanol al 70%, mediante agitación magnética continua por 45 minutos, el extracto obtenido se filtra, se toma una alícuota del mismo y se realiza una reacción colorimétrica con el reactivo de Folin&Ciocalteu obteniendo una coloración azul, la misma que es cuantificada en un Espectrofotómetro UV-Vis serie Evolution 200 de Thermo Scientific a una longitud de onda de 760 nm.

Reactivos

- Metanol grado reactivo al 99.5 %
- Ácido Gálico Monohidratado, Sigma G 8647
- Reactivo de Folin&Ciocalteu, Merck 1.090011.0500
- Carbonato de Sodio 99.5%, Fluka 71350
- Agua destilada
- Éter de Petróleo (Rango de ebullición de 40–60°C)

Preparación de reactivos

- Solución carbonato de Sodio al 20%: Transferir cuantitativamente 20 g de Carbonato de Sodio en un balón volumétrico de 100 ml disolver y completar a volumen con agua bidestilada.
- Solución Acuosa de Metanol: Transferir cuantitativamente 700 ml de metanol en un balón volumétrico de 1000 ml completar a volumen con agua bidestilada (densidad de la solución 0.872 g/ml).
- Solución Estándar Primario de Ácido Gálico (200 ppm): Transferir cuantitativamente 0.020 g de ácido gálico, en un balón volumétrico de 100 ml, disolver y completar a volumen con agua destilada.

Soluciones Estándar para curva de calibración

- A partir de la solución de estándar primario de 200 ppm se realiza la curva tomando en consideración la siguiente tabla:

Volumen de Estándar (ml)	Volumen de Agua (ml)	Concentración (ppm)
0,25	9,975	5
0,50	9,950	10
2,00	8,00	40
4,00	6,00	80
5,00	5,00	100
7,00	3,00	140

Equipos y materiales

- Papel filtro Whatman N° 4
- Balones volumétricos de 100 ml
- Balanza analítica de precisión 0.1mg Citizen, Modelo CX301
- Plancha magnética y calor IKA IW3581201
- Pipetas volumétricas de 5 y 10 ml
- Embudos de vidrio para filtración 12 cm de diámetro

- Espectrofotómetro UV-Vis serie Evolution 200 de Thermo Scientific
- Agitadores magnéticos
- Tubos de ensayo capacidad de 15 ml
- Extractor Soxhlet con uniones esmeriladas capacidad 100 ml
- Calentador con uniones esmeriladas
- Camisas de calentamiento
- Algodón libre de grasa
- Papel filtro cualitativo de 16 cm
- Núcleos de ebullición
- Desecador con desecante (Sílica)
- Estufa a 105°C
- Balones de 250 ml con uniones esmeriladas
- Micropipeta automática de 100 a 1000 uL
- Puntas para micropipeta automática

Procedimiento

Extracción de la Muestra.

- a) En un erlemeyer de 125 ml pesar 1 g de muestra desengrasada.
- b) Adicionar 75 ml de solución acuosa de metanol al 70% y colocar un agitador magnético.
- c) Conducir la muestra a la plancha de agitación y agitar por 45 minutos a temperatura ambiente.
- d) Filtrar el extracto a través de papel Whatman N° 4 en un balón volumétrico de 100ml, lavar el filtrado y aforar con solución acuosa de metanol al 70%.

Cuantificación en el Espectrofotómetro UV-VIS.

- a) Transferir cuantitativamente 1 ml del extracto a un tubo de ensayo, añadir 9 ml de agua destilada (dilución A).

b) Tomar 1 ml de la dilución A, añadir 6 ml de agua destilada y 1 ml de reactivo de Folin&Ciocalteu, luego de tres minutos añadir 2 ml de la solución de carbonato de sodio al 20%, inmediatamente agitar en vortex y calentar en baño María a 40°C por 2 minutos (Este procedimiento se realiza tanto para las muestras como para los estándares).

c) Pasar la solución a una cubeta de vidrio y cuantificar en el Espectrofotómetro UV-VIS bajo las siguientes condiciones:

- Longitud de Onda: 760 nm.
- Temperatura: ambiente
- Slit: 0.2 nm

Cálculos y expresión de los resultados

La cuantificación se realiza utilizando una curva de calibración preparada previamente en el equipo y utilizando la siguiente fórmula:

$$\frac{mg}{g} Ac. Gálico = \frac{a * b * d * f}{p}$$

a = concentración de ácido gálico obtenida a partir de la curva de calibración (mg/l)

b = Volumen total de extracto (100 ml)

d = Factor de dilución (10)

f = Factor para transformar unidades (f = 0.001)

p = peso de la muestra g.

Anexo D-3: Hoja de evaluación sensorial



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
ANÁLISIS SENSORIAL DE INFUSIONES



NOMBRE: _____

EDAD: _____

FECHA: _____

1. Observe las muestras empezando por la que se encuentre ubicada en la izquierda. A continuación clasifique con una X su preferencia respecto del Aspecto visual de las bebidas presentadas (Donde 5 denota “Me gusta” y 1 “Me disgusta”).

		Muestras				
1	Me disgusta					
2	Me disgusta ligeramente					
3	Ni me gusta ni me disgusta					
4	Me gusta ligeramente					
5	Me gusta					

2. De al vaso un movimiento circular y huela las muestras, comenzando por aquella ubicada a su izquierda. Señale con una X su preferencia respecto del aroma, calificándolas en una escala en la cual 5 denota “Me gusta” y 1 “Me disgusta”.

		Muestras				
1	Me disgusta					
2	Me disgusta ligeramente					
3	Ni me gusta ni me disgusta					
4	Me gusta ligeramente					
5	Me gusta					

3. Tome un bocado de esta bebida, manténgalo en la boca por varios segundos, luego ingiéralo y clasifique de acuerdo al sabor con una escala en la que 5 denota “Me gusta” y 1 “Me disgusta”.

		Muestras				
1	Me disgusta					
2	Me disgusta ligeramente					
3	Ni me gusta ni me disgusta					
4	Me gusta ligeramente					
5	Me gusta					

4. Luego de haber ingerido la bebida, clasifique la sensación residual que queda en su boca señalando con una X su preferencia, considerando una escala en la cual 5 denota “Me gusta” y 1 “Me disgusta”).

		Muestras				
1	Me disgusta					
2	Me disgusta ligeramente					
3	Ni me gusta ni me disgusta					
4	Me gusta ligeramente					
5	Me gusta					

5. De las siguientes bebidas señale con una X cual /es prefiere:

Café

Té

Chocolate

Leche

Otros

Comentarios y sugerencias:

ANEXO E: FOTOGRAFÍAS



Figura E 1. Secado de cacao



Figura E 2. Control de humedad



Figura E 3. Descascarillado



Figura E 4. Preparación de todos los tratamientos



Figura E 5. Muestras para medición de pH



Figura E 6. Medición de pH



Figura E 7. Panel de catación



Figura E 8. Catador

VIDA UTIL



Figura E 9. Preparación de muestras



Figura E 10. Temperatura Ambiente
18°C



Figura E 11. Temperatura 25 °C



Figura E 12. Temperatura 35 °C



Figura E 13. Petrifilms



Figura E 14. Preparación de diluciones



Figura E 15. Diluciones de las muestras



Figura E 16. Siembra de las muestras

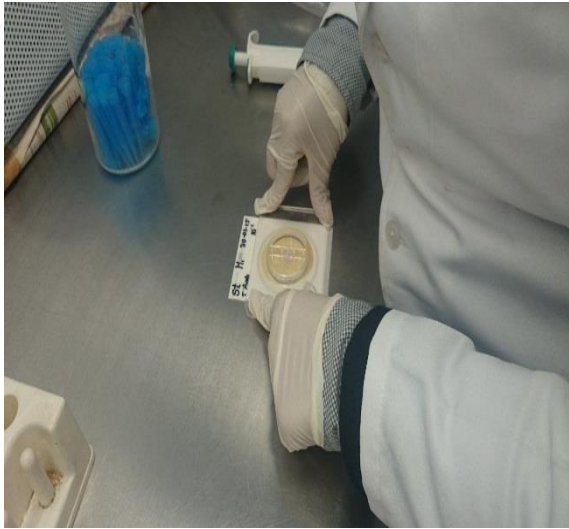


Figura E 17. Expansión uniforme de muestras



Figura E 18. Petrífims usadas en siembras

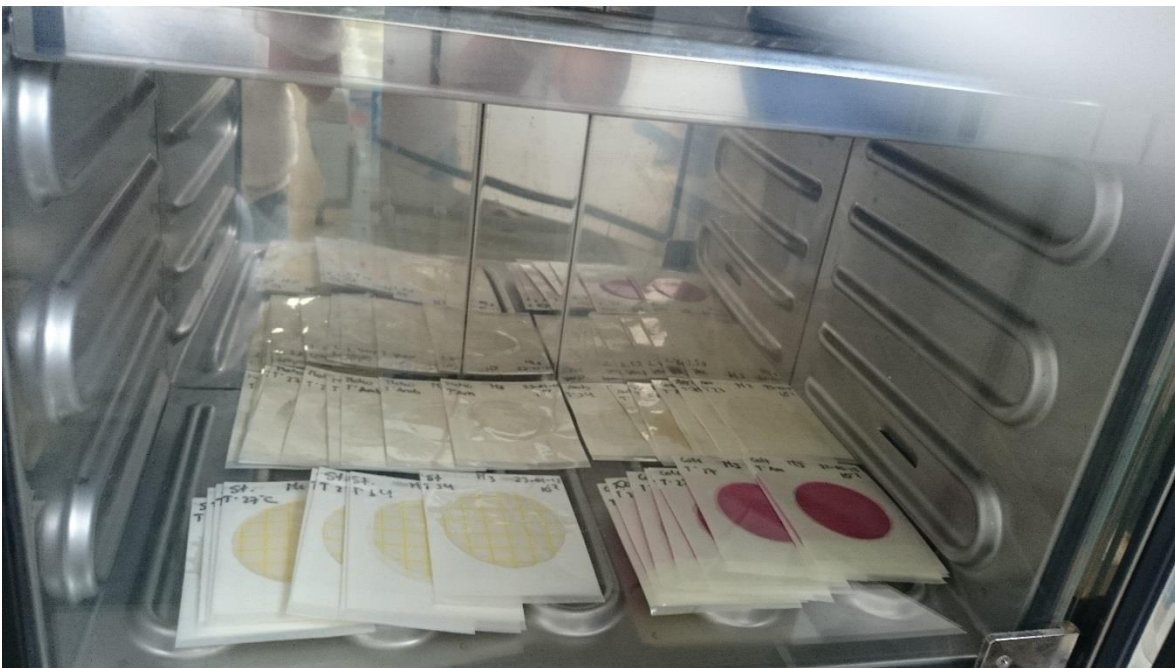


Figura E 19. Incubación de petrífims

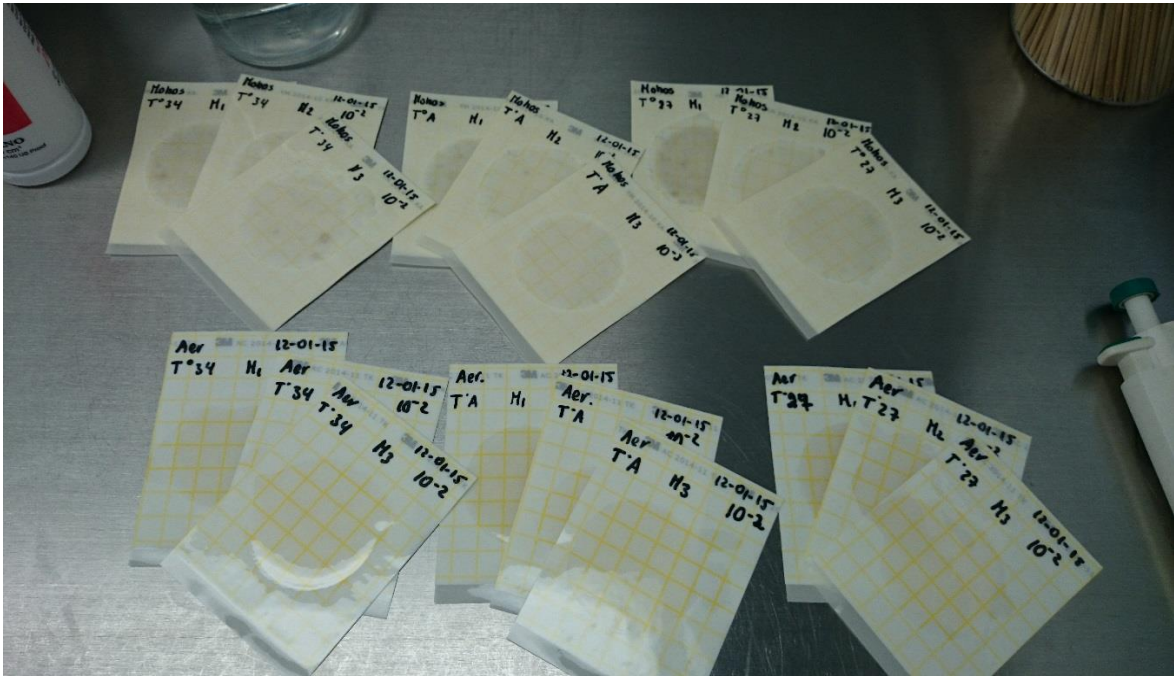


Figura E 20. Conteo de microorganismos