



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA
AGRICULTURA**

CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL
TÍTULO DE INGENIERÍA AGROPECUARIA**

**TEMA: “ESTUDIO DE LA CINÉTICA DEL CRECIMIENTO EN EL
PROCESO FERMENTATIVO DE ABACÁ (*Musa textilis*) PARA LA
BIOCONSERVACIÓN Y LA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL CON FINES
INDUSTRIALES”**

AUTORAS:

ALVAREZ CASTILLO, NATALY ELIZABETH

GUEVARA CAMINO, DAYANA FERNANDA

DIRECTORA: Ph.D SÁNCHEZ LLAGUNO, SUNGEY NAYNEE

SANTO DOMINGO

2020



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO**

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, **“ESTUDIO DE LA CINÉTICA DEL CRECIMIENTO EN EL PROCESO FERMENTATIVO DE ABACÁ (*Musa textilis*) PARA LA BIOCONSERVACIÓN Y LA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL CON FINES INDUSTRIALES”** fue realizado por las señoritas Álvarez Castillo, Nataly Elizabeth y Guevara Camino, Dayana Fernanda el mismo que ha sido revisado en su totalidad, analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 27 enero 2020

Sánchez Llaguno, Sungey Naynee Ph.D.

C.C. 1205348673



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO**

AUTORÍA DE RESPONSABILIDAD

Nosotras **Álvarez Castillo, Nataly Elizabeth y Guevara Camino, Dayana Fernanda**, declaramos que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: **“ESTUDIO DE LA CINÉTICA DEL CRECIMIENTO EN EL PROCESO FERMENTATIVO DE ABACÁ (*Musa textilis*) PARA LA BIOCONSERVACIÓN Y LA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL CON FINES INDUSTRIALES”** es de nuestra autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad de Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Consecuentemente el contenido de la investigación mencionada es veraz

Santo Domingo de los Tsáchilas, 27 enero 2020

Nataly Elizabeth Álvarez Castillo

C.I. 2300445398

Dayana Fernanda Guevara Camino

C.I. 2300467335



**DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y LA AGRICULTURA
CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA SANTO DOMINGO**

AUTORIZACIÓN

Nosotras **Álvarez Castillo, Nataly Elizabeth y Guevara Camino, Dayana Fernanda**, autorizamos a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de titulación: **“ESTUDIO DE LA CINÉTICA DEL CRECIMIENTO EN EL PROCESO FERMENTATIVO DE ABACÁ (*Musa textilis*) PARA LA BIOCONSERVACIÓN Y LA PRODUCCIÓN DE ALCOHOL CON FINES INDUSTRIALES”** en el Repositorio Institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi responsabilidad.

Santo Domingo de los Tsáchilas, 27 enero 2020

Nataly Elizabeth Álvarez Castillo

C.I. 2300445398

Dayana Fernanda Guevara Camino

C.I. 2300467335

DEDICATORIA

A Dios, por su fiel compañía, amor y por los dones que me ha dado para alcanzar esta meta, porque sin Él nada sería posible.

A mi papá Luis por haberme inculcado el amor al estudio, esta meta va directa al cielo.

A mi amada mami Carmen por su ardua lucha por sacarme adelante, por su entrega de cada día y su apoyo incondicional.

A mis hermanos queridos por Carlos Adriana y Rosario, por su ejemplo, comprensión y cariño.

A mis lindos abuelitos Juan y Grimanesa que con su bondad y sencillez sembraron valores de amor en mí

A mis tíos , Chary, Santy, Mariany y Freddy porque con sus consejos me ayudaron a ser cada día más fuerte para continuar luchando.

A mi querido padre espiritual Padre Galito, porque con sus oraciones y su ejemplo me motivo a dar siempre lo mejor de mi.

A mis familiares y amigos que estuvieron de alguna manera u otra apoyándome.

Nataly A.

A Dios por permitirme estar aquí, culminando una meta más en mi vida.

A mi madre, Piedad, por su paciencia, dedicación y sus anhelos de verme realizada como persona y profesional.

A mi padre, Luis, por los valores que implantó en mi con mucho amor y aquella sonrisa inolvidable, desde que era una niña. Nunca te olvido Napito.

A mis tíos, que han sido como mis segundos padres, Lenin y Faby, por confiar en mí, estando prestos para ayudarme, siempre en todo lo que estuvo a su alcance.

A mis hermanas, Karina, Gabriela y Leonor, que desde el comienzo, han estado allí, apoyándome de una u otra manera, siendo cómplices de esta grata experiencia, con su cariño y ternura.

A mis abuelitos maternos, Luis y Marianita por sus sabios consejos.

A mis adorados sobrinos, Josué, Camila, Doménica y Amaia, que sin duda, son el motor de mi motivación.

A mis grandes amigos, que fueron parte de mis anécdotas, siendo parte importante de este viaje.

Cada uno de mis triunfos, va por ustedes. Los adoro.

Dayana.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE por haber sembrado en mí el conocimiento necesario para el buen desempeño profesional a través de sus excelentes docentes.

A la PhD. Sungey Sánchez, por ser inspiración, por compartir sus conocimientos durante toda mi trayectoria académica y su compromiso durante el desarrollo de la investigación de la misma manera al PhD. Juan Neira.

A la Ing. Katty Medina por su paciencia, colaboración y su grata amistad antes y durante el proyecto de investigación.

A mis estimados docentes Patiño M, Naranjo I, Uday V, Enríquez F, Gómez G, Mercedes M, Anzules V, Desiderio X, Lucero J, por impartir su sabiduría y amistad en cada etapa de mi vida académica.

A mis amigas y amigos Cinthya, Alejandra, Estefy, Angie, Mary, Nelly, Luis, David por su amistad, cariño y apoyo absoluto.

A Haider, Emilia y Estebán por su apoyo y colaboración en la ejecución del proyecto de investigación.

A mi novio Cristian por su amor, comprensión, paciencia y apoyo incondicional en cada momento de mi vida.

A nuestra directora de tesis PhD. Sungey Sánchez, por todos sus conocimientos impartidos, su amistad y entrega absoluta durante todo este estudio.

Al Ph.D. Juan Neira, por su ayuda constante y paciente en cada fase de este proyecto.

A la Familia Mayorga, por haber contribuido con la materia prima y su hospitalidad.

A la Ing. Katty Medina, por su ayuda y paciencia durante la fase de laboratorio.

A la Ing. Lourdes, laboratorista de la UTEQ, quien con su calidez humana y profesional, contribuyó de manera importante con nuestra tesis.

A los docentes, Ing. Patricio Vaca, Ing. Patricio Jiménez, Ing. Jorge Lucero y Dr. Félix Valdivieso, por todos sus conocimientos y su apoyo brindados, durante el desarrollo de mi carrera universitaria.

A mi amigo Haider, por esa personalidad envolvente y su contribución en este proyecto.

A mis amigos, Christian y Paúl, por su sinceridad, apoyo, sus ocurrencias, pero sobre todo, su lealtad en cada parte de nuestra vida universitaria. Son los mejores amigos, que alguien podría desear.

A mis amigas, Priscila, Diana, Carolina, Stefanía, Roxana, Mercy y Paola, por esa complicidad que nos une, desde segundo nivel, por haberme llenado de buenos momentos y haber sido mi apoyo, en los malos.

A Cristina y a Gemy, por haber sido parte importante de mi carrera y mi vida, por todo ese cariño, siempre tendrán un lugar en mi corazón.

Dayana

ÍNDICE DE CONTENIDO

CARÁTULA

CERTIFICACIÓN..... I

AUTORÍA DE RESPONSABILIDADII

AUTORIZACIÓN.....II

DEDICATORIAII

AGRADECIMIENTO IV

RESUMEN..... XIII

SUMMARY.....XIV

CAPÍTULO I..... 1

I. INTRODUCCIÓN 1

1.1. Objetivos -----4

1.1.1. Objetivo general4

1.1.2. Objetivos específicos.....4

1.2. Hipótesis-----5

1.2.1. Hipótesis nulas.5

1.2.2. Hipótesis alternativas5

CAPÍTULO II..... 6

II. REVISIÓN DE LITERATURA..... 6

2.1. Abacá -----6

2.1.1. Taxonomía del abacá.....6

2.2. Fermentación de los Alimentos -----7

2.3. Levaduras en la Fermentación -----8

2.3.1. Inicio de la Fermentación8

2.3.2. Levaduras de poder fermentativo medio-alto.....9

2.3.3.	Levaduras de elevado poder fermentativo	9
2.4.	Post Fermentación	9
2.5.	Bioconservación	11
2.6.	Crecimiento Microbiano	11
2.6.1.	Fases del crecimiento	11
2.6.2.	Medida y determinación del crecimiento	12
2.7.	Cinética de crecimiento	13

CAPÍTULO III 14

III. MATERIALES Y MÉTODOS 14

3.1.	Ubicación del área de Investigación	14
3.1.1.	Ubicación Política	14
3.1.2.	Ubicación Geográfica	14
3.1.3.	Ubicación Ecológica	15
3.2.	MATERIALES	16
3.2.1.	Elaboración del fermentado del mucílago de abacá	16
3.2.2.	Determinación de Solidos Solubles en el mucílago y fermentado del mucílago de abacá	16
3.2.3.	Materias para determinar pH en el mucílago fresco y mucílago fermentado de abacá	17
3.2.4.	Determinación de Acidez titulable del mucílago y fermentado del mucílago de abacá.	17
3.2.5.	Determinación de Proteína en el mucílago de abacá	18
3.2.6.	Determinación de cenizas en el mucílago y fermentado de mucílago de abacá.	18
3.2.7.	Determinación de humedad en el mucílago y fermentado de mucílago de abacá. .	19
3.2.8.	Determinación de grasa en el mucílago de abacá	19
3.2.9.	Determinación de la densidad en el mucílago y fermentado del mucílago de abacá.	20
3.2.10.	Determinación de cloruros en el fermentado de mucílago de abacá.	20
3.2.11.	Determinación de anhídrido sulfuroso libre en el fermentado de mucílago de abacá	21
3.2.12.	Determinación de Grados Alcohólicos	21
3.2.13.	Recuento e identificación de poblaciones microbianas en el fermento del mucílago de abacá	22
3.2.14.	Pruebas toxicológicas para determinación de la presencia de metanol en el alcohol.	23
3.2.15.	Evaluación de la cinética de crecimiento de los microorganismos	23
3.3.	MÉTODOS	25
3.3.1.	Obtención de la Materia Prima	25
3.3.2.	Elaboración del Fermentado del mucílago de abacá	25

3.3.3.	Obtención de alcohol a partir de la fermentación del mucílago de abacá.....	26
3.3.4.	Diseño Experimental.....	27
3.3.4.1.	Factores de estudio	27
3.3.4.2.	Tratamientos.....	27
3.3.4.3.	Tipo de diseño	28
3.3.4.4.	Repeticiones.....	28
3.3.4.5.	Características de las unidades experimentales.	29
3.3.5.	Análisis estadístico.....	29
3.3.5.1.	Esquema de análisis de varianza	29
3.3.5.2.	Análisis funcional	30
3.3.6.	Variables e Indicadores	30
3.3.6.1.	Pruebas físico - químicas.....	30
3.3.6.2.	Pruebas Microbiológicas.	43
3.3.6.3.	Pruebas toxicológicas para determinar la presencia de metanol en el alcohol.	48
3.3.6.4.	Evaluación de la cinética de crecimiento de los microorganismos	49
3.3.6.5.	Determinación del rendimiento de alcohol.....	49
CAPÍTULO IV		51
IV. RESULTADOS.....		51
4.1.	De la determinación de las características físico-químicas y microbiológicas del mucílago obtenido de dos variedades de abacá (<i>Musa textilis</i>). -----	51
4.1.1.	Análisis físico – químicos del mucílago de abacá.....	51
4.1.2.	Identificación de levaduras presentes en el mucílago de abacá.	52
4.1.3.	Identificación de bacterias presentes en el mucílago de abacá	53
4.1.	Resultados de la cinética de crecimiento -----	54
4.2.	Análisis de varianza para las variables de estudio. -----	58
4.2.1.	Análisis de varianza para: sólidos solubles.	58
4.2.2.	Análisis de varianza para: pH inicial.....	59
4.2.3.	Análisis de varianza para: acidez titulable.	60
4.2.4.	Análisis de varianza para: densidad.	61
4.2.5.	Análisis de varianza para: cenizas.....	62
4.2.6.	Análisis de varianza para: humedad.....	63
4.2.7.	Análisis de varianza para: cloruros de sodio.	64
4.2.8.	Análisis de varianza para: anhídrido sulfuroso libre.....	65
4.2.9.	Análisis de varianza para: grados alcohólicos.....	66
4.2.10.	Análisis de varianza para: rendimiento.	67
4.2.11.	Análisis de varianza para: bacterias.	68
4.2.12.	Análisis de varianza para: levaduras.	69
4.3.	Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de las variedades: Tangongon y Bungalanon.	70

4.4.	Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de los fermentativos: Flora natural y Levadura.	73
4.5.	Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de la esterilización: Pasteurizado y Sin Pasteurizar.	77
4.6.	Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de la interacción: Ax B (Variedad* Fermentativo)	80
4.7.	Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de la interacción: Ax C (Variedad* Esterilización)	84
4.8.	Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de la interacción: Bx C (Fermentativo x Esterilización)	88
4.9.	Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de la interacción: Ax B x C (Variedades* Fermentación* Esterilización).	92

CAPÍTULO V 96

V. DISCUSIÓN 96

5.1.	Características físico-químicas y microbiológicas del mucilago de abacá	96
5.2.	Cinética de crecimiento	97
5.3.	De las Variedades de abacá.	98
5.4.	De los agentes de fermentación.	100
5.5.	Del acondicionamiento del mucílago (Pasteurización y sin pasteurización).	102
5.6.	De las interacciones variedades + fermentativos (Interacción A*B)	103
5.7.	De la interacción Variedad+ esterilización (Interacción A*C).	104
5.8.	De la la interacción Fermentativos+ Esterilización (Interacción B*C).	105
5.9.	Efecto de los factores Variedades + Fermentativos+ Esterilización + Pasteurizado (Interacción A*B*C).	105

CAPÍTULO VI 107

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 107

6.1.	Conclusiones.	107
6.2.	Recomendaciones	112
6.3.	Bibliografía	114

Índice de Tablas

Tabla 1. Equipos y materiales empleados en la elaboración del fermentado del mucílago de abacá.	16
Tabla 2. Equipos y materiales empleados para la determinación de sólidos solubles en el mucílago y fermentado del mucílago de abacá	16
Tabla 3. Equipos y materiales empleados para la determinación del pH	17
Tabla 4. Equipos y materiales empleados en la determinación de acidez en el mucílago y fermentado del mucílago de abacá.	17
Tabla 5. Equipos y materiales empleados para la determinación de proteína en el mucílago de abacá.	18
Tabla 6. Equipos y materiales empleados para la determinación de ceniza en el mucílago y fermentado de mucílago de abacá.	18
Tabla 7. Equipos y materiales empleados para la determinación de humedad del mucílago y fermentado de mucílago de abacá	19
Tabla 8. Equipos y materiales empleados para la determinación de grasa en el mucílago de abacá.	19
Tabla 9. Equipos y materiales empleados para la determinación de la densidad del mucílago y fermentado del mucílago de abacá.	20
Tabla 10. Equipos y materiales empleados para la determinación de cloruros en el fermentado de mucílago de abacá.	20
Tabla 11. Equipos y materiales empleados para la determinación de anhídrido sulfuroso libre en el fermentado de mucílago de abacá.	21
Tabla 12. Equipos y materiales empleados para la determinación de grados alcohólicos.....	21
Tabla 13. Equipos y materiales empleados para el recuento e identificación de poblaciones microbianas en el fermento del mucílago de abacá.....	22
Tabla 14. Equipos y materiales empleados en la realización de pruebas toxicológicas para determinar la presencia de metanol en el alcohol.	23
Tabla 15. Equipos y materiales empleados para la evaluación de la cinética de crecimiento de los microorganismos en el fermentado del mucílago de abacá.	23
Tabla 16. Factores de estudio y niveles evaluados, para establecer diferencias en las características del mucílago de abacá (<i>Musa textiles</i>) en el proceso de elaboración de alcohol..	27
Tabla 17. Tratamientos estudiados.....	28
Tabla 18. Esquema del análisis de varianza (ANOVA) para la evaluación de las características del mucílago de abacá (<i>Musa textiles</i>) en la elaboración de alcohol.	29
Tabla 19. Análisis físicos – químicos del mucílago de abacá.....	51
Tabla 20. Resultados de las pruebas de identificación de bacterias.....	53
Tabla 21. Análisis de varianza para sólidos solubles.....	58
Tabla 22. Análisis de varianza para pH inicial.	59
Tabla 23. Análisis de varianza para acidez titulable.	60
Tabla 24. Análisis de varianza para densidad.	61

Tabla 25.	Análisis de varianza para cenizas.	62
Tabla 26.	Análisis de varianza para humedad.....	63
Tabla 27.	Análisis de varianza para cloruros de sodio.....	64
Tabla 28.	Análisis de varianza para anhídrido sulfuroso libre.....	65
Tabla 29.	Análisis de varianza para grados alcohólicos.....	66
Tabla 30.	Análisis de varianza para la variable rendimiento.	67
Tabla 31.	Análisis de varianza para bacterias.	68
Tabla 32.	Análisis de varianza para levaduras.	69
Tabla 33.	Valores correspondientes a análisis físico químico de las variedades de Abacá estudiadas.	70
Tabla 34.	Valores correspondientes a análisis físico químico de los fermentativos estudiados.	73
Tabla 35.	Valores correspondientes a análisis físico químico de la esterilización aplicada.	77

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación geográfica de la investigación	15
Figura 2. Colores obtenidos a través del reactivo de Schiff para metanol	48
Figura 3. Levaduras aisladas e identificadas en el mucílago de abacá.....	52
Figura 4. Consumo de azúcar (variación de ° Brix) en la cinética de crecimiento.	54
Figura 5. Variación de pH durante la cinética de crecimiento.	55
Figura 6. Variación de acidez durante la cinética de crecimiento.....	56
Figura 7. Variación de acidez durante la cinética de crecimiento.....	57
Figura 8. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a las variedades de abacá (Bungalanon y Tangongon).....	72
Figura 9. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a los fermentativos (Flora natural y Levadura).	75
Figura 10. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a la esterilización (Pasteurizado y sin pasteurizar).....	79
Figura 11. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a la interacción AxB (Variedad*Fermentativo).....	82
Figura 12. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a la interacción AxC (Variedad x Esterilización).....	86
Figura 13. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a la interacción BxC (Fermentativo x Esterilización).	90
Figura 14. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a la interacción AxBxC (Variedad x Fermentativo x Esterilización).....	94

RESUMEN

Esta investigación, tuvo como objetivo, estudiar la cinética de del crecimiento, en el proceso fermentativo de abacá, con fines para la bioconservación y la producción de alcohol, considerando su posible uso a nivel industrial. Se realizó en la parroquia Monterrey, finca de la familia “Mayorga”. La experimentación fue desarrollada a través de un ANOVA, Trifactorial (Variedades: Tangononon y Bungalonon; Fermentativos: Flora Natural y Levadura; Esterillización: Pasteurizado y Sin Pasteurizar) bajo un esquema D.B.C.A. con 8 tratamientos y 3 repeticiones, se aplicó la prueba de Tukey ($p > 0,05$). Como resultado de la cinética de crecimiento se determinó una disminución de 1°brix, cada 24 horas; en cuanto a los parámetros físico-químicos del mucílago, se obtuvo: sólidos solubles: 10,73 y 10,19°brix, pH: 3,62 y 3,68, acidez titulable: 0,014g/l y 0,015g/l, cenizas: 11,81% y 13,60%, densidad relativa: 1,013 d₂₀ y 1,022 d₂₀, ASL: 0,010g/l y 0,014g/l para Bungalanon y Tangongon respectivamente. En función de los fermentativos, se establecieron: sólidos solubles 11,04° brix y 9,88° brix, pH: 3,64 y 3,67, acidez titulable: 0,02 y 0,01g/L, ASL: 0,008g/l y 0,015g/l, recuento bacteriano y de levaduras: 43000UFC/ml y 43916,67UFC/ml, para flora natural y levadura, de manera respectiva, siendo superior el uso de la levadura con 56 grados alcohólicos y 16% de rendimiento. El efecto de la esterilización obtuvo: sólidos solubles, 9,87° brix y 11,06°brix, pH: 3,62 y 3,69, cloruros: 0,34g/l y 0,30g/l, grados alcohólicos: 40,42 y 41,33, en pasteurizado y sin pasteurizar respectivamente.

PALABRAS CLAVE:

- **ABACÁ**
- **VARIEDADES**
- **ALCOHOL**
- **CINÉTICA DE CRECIMIENTO**

SUMMARY

The objective of this research was to study the kinetics of growth, in the abaca fermentation process, for purposes of bioconservation and alcohol production, considering its possible use at the industrial level. It was held in the Monterrey parish, estate of the "Mayorga" family. The experimentation was developed through an ANOVA, Trifactorial (Varieties: Tangononon and Bungalanon; Fermentatives: Natural Flora and Yeast; Sterilization: Pasteurized and Unpasteurized) under a D.B.C.A. With 8 treatments and 3 repetitions, the Tukey test was applied ($p > 0.05$). As a result of the growth kinetics a decrease of 1 ° brix was determined, every 24 hours; As for the physical-chemical parameters of the mucilage, it was obtained: soluble solids: 10.73 and 10.19 ° brix, pH: 3.62 and 3.68, titratable acidity: 0.014g / l and 0.015g / l, ashes: 11.81% and 13.60%, relative density: 1.013 d20 and 1.022 d20, ASL: 0.010g / l and 0.014g / l for Bungalanon and Tangongon respectively. Depending on the fermentatives, the following were established: soluble solids 11.04 ° brix and 9.88 ° brix, pH: 3.64 and 3.67, titratable acidity: 0.02 and 0.01g / L, ASL: 0.008g / l and 0.015g / l, bacterial and yeast count: 43000UFC / ml and 43916.67UFC / ml, for natural flora and yeast, respectively, the use of yeast with 56 alcoholic degrees and 16% yield being superior. The sterilization effect obtained: soluble solids, 9.87 ° brix and 11.06 ° brix, pH: 3.62 and 3.69, chlorides: 0.34g / l and 0.30g / l, alcoholic degrees: 40, 42 and 41.33, in pasteurized and unpasteurized respectively.

KEYWORDS:

- **ABACA**
- **VARIETIES**
- **ALCOHOL**
- **GROWTH KINETICS**

CAPÍTULO I

I. INTRODUCCIÓN

El abacá es una fibra de origen asiático. Filipinas, es líder en producción y exportación de esta fibra. En las islas, se producen alrededor de 50000 toneladas de cáñamo, por año (Suvarna, y otros, 2015) en 130000 hectáreas (Zambrano, 2015) . En Ecuador, según el III Censo Nacional Agropecuario, 14831 hectáreas fueron sembradas en el país, siendo las zonas con mayor producción, Santo Domingo (36%) y La Concordia (39%) (Rocha, 2016). La producción por hectárea, en Ecuador, se encuentra entre 1000 y 1500 kg (Boguero, Parducho, Mendoza, Abustan, & Lalusin, 2016).

El uso del abacá, se ha centrado de manera esencial en la extracción de fibra, que sirve de materia prima para las industrias de papel, pulpa, fibra artesanal, cordeles, entre otros (Parker, 2019), lo que produce un determinado porcentaje de biomasa, desaprovechada en campo.

La acumulación de los residuos generados por la cadena agroalimentaria, mundialmente se ha convertido en un aspecto negativo, no sólo para el ambiente, sino también para los productores, debido a los costos adicionales que su recolección, transporte y disposición final, generan (Hernández, 2017).

La consistencia de las plantas de abacá, está conformada por agua en aproximadamente un 90% y fibra entre 2 a 5% (Waller & Wilsby, 2019). La fibra de abacá, según (Sarigh, Lubis, Wirjosentono, & Eddyanto, 2018), está compuesta por lignina 13,60%, celulosa 66,43% y hemicelulosa 30,70%.

Los desechos de biomasa lignocelulósica, han ido recibiendo cada vez más atención, ya que constituyen una fuente alternativa renovable, abundante y económica, con un potencial energético importante, para la producción de una amplia gama de productos, como, los biocombustibles, químicos de importancia industrial y productos derivados de bioproductos (Irmak, 2017).

Los mucílagos, son compuestos, destacados por su capacidad para retener agua en diferentes partes de la planta (DerMarderosian & Beutler, 2014). Son utilizados, para obtener etanol, a través de la fermentación alcohólica y su posterior destilación (Salomone & Saija, 2014).

El conocimiento de las generalidades de los microorganismos en sus diferentes etapas (desarrollo y crecimiento) es esencial para comprender sus interacciones, no solamente como agentes causales de las enfermedades infecciosas, puesto que, también son parte del deterioro de alimentos y materiales. Por otra parte, su utilización orientada en beneficio de la industria farmacéutica, como en la industria alimentaria (manipuleo y producción) (Fernández & Colom, 2014).

Uno de los principales problemas es el no aprovechamiento del mucílago de abacá debido a que ha sido poco estudiado, esto indica la necesidad de buscar alternativas que permitan transformar este subproducto para mejorar la rentabilidad de esta actividad productiva. Por lo expuesto esta investigación tiene como propósito estudiar la cinética del crecimiento del proceso fermentativo del mucílago de abacá para la obtención de alcohol y derivados.

■■■■■ Objetivos

■■■■■ Objetivo general

Estudiar la cinética del crecimiento en el proceso fermentativo de abacá (*Musa textilis*) para la bioconservación y la producción de alcohol con fines industriales.

■■■■■ Objetivos específicos

- Determinar las características físico-químicas y microbiológicas del mucílago obtenido de dos variedades de abacá (*Musa textilis*) a fin de establecer parámetros de proceso en fermentación.
- Evaluar dos variedades de abacá (Bungalanon y Tangongon) y su incidencia en el proceso de elaboración de alcohol con fines industriales.
- Establecer la influencia de microorganismos fermentativos en la obtención de alcohol a partir del mucilago de abacá (*Musa textilis*).
- Determinar la influencia de la pasterización del mucilago de abacá (*Musa textilis*) (pasteurizado y sin pasteurizar), en el proceso de fermentación para la obtención de alcohol.
- Determinar el rendimiento de la producción del alcohol obtenido a partir del mucílago de abacá (*Musa textilis*), mediante el balance de materia prima.

██████████ Hipótesis**██████████ Hipótesis nulas.**

Ho: Las variedades de abacá no influyen en las características físico-químicas y microbiológicas para la elaboración de alcohol con fines industriales.

Ho: Los microorganismos fermentativos no influyen en la obtención de alcohol a partir del mucílago de abacá (*Musa textilis*).

Ho: La pasteurización del mucílago de abacá (*Musa textilis*) no influye en el proceso de fermentación para la obtención de alcohol.

██████████ Hipótesis alternativas

Ha: Las variedades de abacá influyen en la determinación de las características físico-químicas y microbiológicas para la elaboración de alcohol con fines industriales.

Ha: Los microorganismos fermentativos influyen en la obtención de alcohol a partir del mucílago de abacá (*Musa textilis*).

Ha: La pasteurización del mucílago de abacá (*Musa textilis*) influye en el proceso de fermentación para la obtención de alcohol.

CAPÍTULO II

II. REVISIÓN DE LITERATURA

Abacá

Taxonomía del abacá

Reino:	Plantae
Clase:	Liliopsida
Orden:	Zingiberales
Familia:	Musaceae
Género:	<i>Musa</i>
Especie:	<i>Musa textilis</i>

Fuente: (Ponce, 2015).

En Ecuador existen tres cultivares, Bungalón, Tangongón y Manguindanao, (Pontón, 2009), sin embargo, a continuación, se detallan solamente los dos primeros, que son las de interés para esta investigación.

- **Bungalonon**

Existen dos tipos, el rojo y el negro. Se caracteriza por producir fibras de color blanco y de textura suave, con un desarrollo prematuro; los pseudotallos son finos y de porte bajo, se identifican por el color café de su parte basal y un color verde brillante en la parte superior del pseudotallo (Castillo, 2011).

- **Tangongón**

Sus tipos son: rojo, meristemático y negro. Produce una fibra resistente, aunque se le considera de calidad rústica; los pseudotallos son gruesos y largos. Poseen una limitada producción de retoños (Castillo, 2011).

████████ Fermentación de los Alimentos

La fermentación ha sido utilizada desde hace mucho tiempo atrás, para la preservación y mejora de la, textura, sabor, propiedades funcionales de los alimentos y su vida útil. Actualmente, los alimentos fermentados, se han convertido en una estrategia dietética de importancia para la salud humana (Rezac, Kok, Heermann, & Hutkins, 2018).

África, es uno de los continentes con una cantidad considerable de alimentos fermentados. De hecho, el proceso de la fermentación continúa siendo realizado de manera esencial en el hogar (Díaz, Kellingray, & Narbad, 2019).

Existen una gran diversidad de alimentos fermentados, algunos de ellos son, los cereales no alcohólicos fermentados, leches fermentadas (quesos y yogurt), proteínas vegetales, bebidas alcohólicas (producidas a base de frutas, cereales, savia, miel y otros materiales) (Díaz, Kellingray, & Narbad, 2019).

Levaduras en la Fermentación

Inicio de la Fermentación

En esta fase se manifiestan las levaduras apiculadas (con apariencia de limoncillo), poseedoras de una reducida facultad fermentativa (hasta 4-5 %Vol.). Varias son escasamente favorables, debido a su producción de acidez volátil en niveles elevados, excepto *Schizosaccharomyces veronae*. Una levadura bastante conocida, de este tipo es, *Kloeckera apiculata*, que se presenta con frecuencia en las vinificaciones (Fernández L. , 2013).

Levaduras de poder fermentativo medio-alto

Cuando se sobrepasa el volumen de alcohol de 4-5 %, aparecen otras especies de levaduras, que controlan el proceso fermentativo, algunas de ellas son *Saccharomyces pastorianus* y *Saccharomyces cerevisiae var. ellipsoideus* (Fernández L. , 2013).

Levaduras de elevado poder fermentativo

Al obtener un volumen entre 10-11% de alcohol, existen otras levaduras que empiezan a dominar, ya que disponen de una eminente capacidad fermentativa. No obstante, este tipo de levaduras, no puede fermentar más de 13,5-14.5% de volumen de alcohol, aunque existen excepciones. A continuación se citan algunos ejemplos, *Saccharomyces oviformis*, *Saccharomyces ellipsoideus* y *Saccharomyces bayanus*, (Fernández L. , 2013).

Post Fermentación

Fernández (2013), este grupo comprende, dos sub agrupaciones, una bastante nociva y otra altamente beneficiosa. Se detallan a continuación:

- **Flores del vino**

Son levaduras aerobias, poseen un poder fermentativo débil. Se caracterizan formar un manto superficial fino, en los vinos de baja categoría, preservados bajo condiciones no adecuadas. Son extremadamente peligrosos, por la considerable acumulación de acetato de etilo (a partir de etanol), y ácido acético, lo que con el paso del tiempo puede producir un picado acético bacteriano. Levaduras representativas: *Candyda micoderma*, *Hansenula anomala*, y *Picchias* (Moyano & Quisingo, 2015).

- **Levaduras de flor**

Son las levaduras tradicionales de los vinos de finos de crianza. Las levaduras de este tipo agotan la glicerina totalmente, favoreciendo al potencial de óxido-reducción del mosto y así llevar a cabo la fermentación maloláctica; producen acetales (a base de acetaldehído y etanol), acetaldehído (a base del etanol). Estas levaduras son, *Saccharomyces italicus*, *Saccharomyces beticus* y *Saccharomyces moltuliensis* (Moyano & Quisingo, 2015).

■ Bioconservación

La bioconservación se encuentra definida como, el incremento de la seguridad y la vida útil de los alimentos, mediante la aplicación controlada de microorganismos naturales y sus compuestos antimicrobianos (Cortés, Díaz, & Salgado, 2018).

■ Crecimiento Microbiano

Es la amplificación íntegra y sistematizada de los componentes celulares, que implica el incremento de masa y por consiguiente, la multiplicación de las células. Para que se produzcan estos cambios, es indispensable la aportación oportuna de nutrientes y minerales (Escartin, 2017).

■ Fases del crecimiento

- **Fase de retardo:** Se produce la adaptación del microorganismo a la nueva situación, activando su metabolismo para desarrollarse de forma activa. La duración de esta etapa varía en función de la estabilidad de las condiciones que le rodean (Escartin, 2017).
- **Fase de aceleración transitoria:** Se distingue un desarrollo bastante notable, sin embargo, este no demuestra ser exponencial (Escartin, 2017).

- **Fase exponencial:** el crecimiento se produce de manera acelerada, cuando se presentan las siguientes condiciones, existen nutrientes en demasía, carece de inhibidores de crecimiento y los parámetros del medio ambiente, son idóneos para el desarrollo (Escartin, 2017).
- **Fase de aceleración:** con el transcurso del tiempo, las condiciones del medio se modifican, reduciendo la tasa de crecimiento (Escartin, 2017).
- **Fase estacionaria:** en este tramo, aparecen nuevos microorganismos que contrarrestan el deceso de sus similares (Escartin, 2017).
- **Fase de muerte:** la cantidad de microbios vivos se ve restringida exponencialmente, debido a la aparición de residuos tóxicos o al desgaste del sustrato en el entorno (Escartin, 2017).

Medida y determinación del crecimiento

- **Recuento directo:** Se trata de la exploración de magnitudes de suspensión de microbios, extremadamente bajas a través de microscopios, usando cámaras de Petroff-Hausser. La densidad debe ser de 10^5 por mL, para que la medición sea confiable (Bonifaz, 2014).

- **Medida de la masa de células:** se basa en la medición de la turbidez, ya que las células suspendidas, provocan la dispersión de la luz, provocando así la turbidez del cultivo (Bonifaz, 2014).
- **Recuento de viables:** Se trata de sembrar un determinado volumen de muestra en un medio de cultivo (sólido), conveniente para tasar las células viables, mediante el conteo de las unidades formadoras de colonia. La medida es viable para análisis estadístico cuando las UFC, son mayores a 300 (Bonifaz, 2014).

■ Cinética de crecimiento

La cinética microbiana se encarga de entender todas las manifestaciones y reacciones de la vida microbiana: crecimiento, supervivencia, muerte, adaptaciones, formación de producto, ciclos celulares e interacciones con el medio ambiente. En los procesos fermentativos industriales es de suma importancia estudiar el comportamiento cinético del microorganismo ya que de este depende el rendimiento del producto de interés, entre otras variables. Además, es importante ya que representa la pérdida o ganancia económica de los procesos (Flores, Gonzáles, Aguilar, & Rodríguez, 2014).

CAPÍTULO III

III. MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del área de Investigación

Ubicación Política

País	Ecuador
Provincia	Santo Domingo de los Tsáchilas
Cantón	La Concordia
Parroquia	Monterrey
Predio	Finca Mayorga
Dirección	Recinto Mocache 3

Ubicación Geográfica.

El área de investigación se encuentra ubicada en las siguientes coordenadas:

- ✓ Latitud: 0°03'42,9
- ✓ Longitud: 79°31'39,2
- ✓ 17 S = 663864
- ✓ UTM = 9993153



Figura 1. Ubicación geográfica de la investigación

Ubicación Ecológica

Zona de vida	Bosque húmedo Tropical
Altitud	226 msnm
Temperatura media	24,5 °C
Precipitación	2500 mm año-1
Humedad relativa	88%
Heliofanía	810 horas luz año-1
Suelos	Francos arenosos

MATERIALES

Elaboración del fermentado del mucílago de abacá.

Tabla 1. Equipos y materiales empleados en la elaboración del fermentado del mucílago de abacá.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Refractómetro <i>ATAGO N-1a</i>	Contenedores de acero con grado alimenticio	Sacarosa	Mucílago de abacá de la variedad bungalanon
	Vasos de precipitación de 2000 mL		
Potenciómetro	Botellas plásticas de 1,5 l	Levadura	Mucílago de abacá de la variedad tangongon
Balanza analítica <i>Sartorius BL - 210 S</i>	Trampas de aire	(<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)	
	Fundas negras	Flora natural	
	Parafilm		
	Papel aluminio		

Determinación de Sólidos Solubles en el mucílago y fermentado del mucílago de abacá

Tabla 2. Equipos y materiales empleados para la determinación de sólidos solubles en el mucílago y fermentado del mucílago de abacá

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Refractómetro <i>ATAGO N-1a</i>	Pisetas	Mucílago de abacá de la variedad bungalanon
		Mucílago de abacá de la variedad tangongon
<i>ATAGO N-1a</i>	Goteros	Fermentado del mucílago de abacá (Bungalanon)
		Fermentado del mucílago de abacá (Tangongon)

Materias para determinar pH en el mucílago fresco y mucílago fermentado de abacá

Tabla 3. Equipos y materiales empleados para la determinación del pH

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Potenciómetro	Vaso de precipitación de 200 ml. Agua destilada Solución buffer	Mucílago de abacá de la variedad bungalowon
		Mucílago de abacá de la variedad tangongon
		Fermentado del mucílago de abacá (Bungalowon)
		Fermentado del mucílago de abacá (Tangongon)

Determinación de Acidez titulable del mucílago y fermentado del mucílago de abacá.

Tabla 4. Equipos y materiales empleados en la determinación de acidez en el mucílago y fermentado del mucílago de abacá.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Potenciómetro	Agitador magnético	NaOH 0,1N Agua destilada	Mucílago de abacá de la variedad Bungalowon y Tangongon
Equipo de titulación	Matraces earlenmayer de 300 ml		Fermentado del mucílago de abacá (Bungalowon y Tangongon)
Agitador magnético	Vasos de precipitación de 200 ml.		
Thermo Lyne S46725			

■ Determinación de Proteína en el mucílago de abacá

Tabla 5. Equipos y materiales empleados para la determinación de proteína en el mucílago de abacá.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza analítica Sartorius BL - 210 S		Ácido sulfúrico concentrado	
Digestor Kjeldahl VELP DK6.	Tubos de destilación Matraz Erlenmeyer de 300 ml.	96% (d=1,84). NaOH al 35%.	Mucílago de abacá de la variedad
Cabina extractora de gases (Sorbona) SCI FINETECH FTFH-702	Gotero. Mortero.	Solución de Ácido Bórico al 2%.	bungalanon
Destilador Kjeldahl VELP UDK129230V	Agitador magnético.	HCL 0,1 N debidamente	Mucílago de abacá de la variedad tangongon
Agitador magnético Thermo Lyne S46725		Tabletas Catalizadoras. Indicador Kjeldahl.	

■ Determinación de cenizas en el mucílago y fermentado de mucílago de abacá.

Tabla 6. Equipos y materiales empleados para la determinación de ceniza en el mucílago y fermentado de mucílago de abacá.

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Estufa MEMMERT UNB 500		Mucílago de abacá (bungalanon) Mucílago de abacá (tangongon)
Mufla automática BARNSTEAD	Crisoles de porcelana de 25 mL Pinza para crisol de 15 cm	Fermentado del mucílago de abacá (Bungalanon)
THERMOLYNE FD1500	Desecador de vidrio 250 MM	Fermentado del mucílago de abacá (Tangongon)

■ Determinación de humedad en el mucílago y fermentado de mucílago de abacá.

Tabla 7. Equipos y materiales empleados para la determinación de humedad del mucílago y fermentado de mucílago de abacá

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Estufa MEMMERT UNB 500. Balanza analítica Sartorius BL - 210S.	Crisoles de porcelana de 125 ml	Mucílago de abacá de la variedad bungalowon
		Mucílago de abacá de la variedad tangongon
		Fermentado del mucílago de abacá (Bungalowon)
		Fermentado del mucílago de abacá (Tangongon)

■ Determinación de grasa en el mucílago de abacá

Tabla 8. Equipos y materiales empleados para la determinación de grasa en el mucílago de abacá.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Balanza analítica	Mortero.	Éter etílico	Mucílago de abacá de la variedad bungalowon
Sartorius BL - 210 S	Probeta de 100 ml.		
Estufa MEMMERT	Pipetas.		
UNB 500.	Papel Filtro.		Mucílago de abacá de la variedad tangongon
Extractor de grasa	Espátula.		
VELP SCIENTIFIC	Pinza Universal.		
SER 148	Algodón liofilizado.		
Aparato de golfish	Dedales de Extracción.		
Desecador de vidrio	Vasos de recuperación del solvente.		
250 MM.	Vasos Beacker para grasa.		

Determinación de la densidad en el mucílago y fermentado del mucílago de abacá.

Tabla 9. Equipos y materiales empleados para la determinación de la densidad del mucílago y fermentado del mucílago de abacá.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Baño maría.			Mucílago de abacá de la variedad bungalanon
Balanza analítica	Picnómetros.	Agua destilada.	Mucílago de abacá de la variedad tangongon
Sartorius BL - 210 S.			Fermentado del mucílago de abacá (Bungalanon)
			Fermentado del mucílago de abacá (Tangongon)

Determinación de cloruros en el fermentado de mucílago de abacá.

Tabla 10. Equipos y materiales empleados para la determinación de cloruros en el fermentado de mucílago de abacá.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
		Permanganato de potasio	
	Matraz volumétrico	Ácido nítrico al 20%	
	Matraz Erlenmeyer	0,1 N de Nitrato de plata	Fermentado del mucílago de abacá (Bungalanon)
	Embudo	0,1 N de Tiocianato de potasio	
	Pipeta volumétrica		Fermentado del mucílago de abacá (Tangongon)
	Papel filtro	Sulfato férrico amónico	
	Vaso de precipitación	Hidróxido de bario	
		Agua destilada.	

Determinación de anhídrido sulfuroso libre en el fermentado de mucílago de abacá

Tabla 11. Equipos y materiales empleados para la determinación de anhídrido sulfuroso libre en el fermentado de mucílago de abacá.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Potenciómetro	Bureta de 25 mL	Ácido sulfúrico al 20% 0,2 N de Yodo 0,02 N de tiosulfato de Na	Fermentado del mucílago de abacá (Bungalanon)
	Vasos de precipitación de 250 ml Varilla de vidrio		Fermentado del mucílago de abacá (Tangongon)

Determinación de Grados Alcohólicos

Tabla 12. Equipos y materiales empleados para la determinación de grados alcohólicos

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Alcoholímetro	Probeta de 200 ml	Alcohol del Fermentado de mucílago de abacá (Bungalanon)
		Alcohol del Fermentado de mucílago de abacá (Bungalanon)

Recuento e identificación de poblaciones microbianas en el fermento del mucílago de abacá.

Tabla 13. Equipos y materiales empleados para el recuento e identificación de poblaciones microbianas en el fermento del mucílago de abacá

Equipos	Materiales/Reactivos	Muestras
	Tubos de ensayo.	
	Láminas Petri Film.	
	Mecheros	
	Medio de cultivo PDA.	
	Medio de cultivo Manitol.	
Incubadora.	Asas metálicas.	
Autoclave.	Portaobjetos	Fermentado del mucílago de abacá (Bungalanon)
Cámara de	Cubreobjetos	Fermentado del mucílago de abacá (Tangongon)
flujo laminar.	Aceite de inmersión.	
Microscopio	H ₂ O ₂ (Agua oxigenada)	
	KOH	
	Agua destilada	
	Azul de metileno	
	Safranina	
	Alcohol-acetona	

Pruebas toxicológicas para determinación de la presencia de metanol en el alcohol.

Tabla 14. Equipos y materiales empleados en la realización de pruebas toxicológicas para determinar la presencia de metanol en el alcohol.

Materiales/Equipos	Reactivos	Muestras
Vasos de precipitación.	Permanganato de potasio 1%.	
Balanza analítica Sartorius BL - 210 S.	Ácido sulfúrico puro.	
	Ácido oxálico	Alcohol del Fermentado de mucílago de abacá (Bungalanon)
	Ácido sulfúrico	
Pipeta automática.	Fuxina bisulfatada (reactivo de Schiff).	Alcohol del Fermentado de mucílago de abacá (Bungalanon)
Puntas desechables	Yodo.	
	Hidróxido de sodio.	

Evaluación de la cinética de crecimiento de los microorganismos

Tabla 15. Equipos y materiales empleados para la evaluación de la cinética de crecimiento de los microorganismos en el fermentado del mucílago de abacá.

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Balanza analítica Sartorius BL - 210 S.	Vasos de precipitación 300 ml	Fermentado del mucílago de abacá (Bungalanon)
	Vasos de precipitación 200 ml	
Agitador magnético Thermo	Vaso de precipitación 500 ml	Fermentado del mucílago de

Lyne S46725	Espátula	abacá (Tangongon)
Refractómetro ATAGO N-1 ^a	Matraces earlenmayer 300 ml	
Potenciòmetro	Hidròxido de Sodio al 0,1 N	
Espectrofotòmetro THERMO	Algodón	
ELECTRON GENESIS 10	Agua bidestilada	
VIS	Agua destilada	
	Goteros	
	Aguja calibre 16	
	Bureta de 25 ml	

MÉTODOS

Obtención de la Materia Prima

El mucílago fue recolectado en la finca del Sr. Julio Mayorga a través de la máquina extractora de fibra. En el caso de la variedad Tangononón (Tipo rojo), se recolectaron 20 litros de mucílago, de la extracción de 4 atados (denominados “tongos”, compuestos por 3 pseudotallos). Para la variedad Bungalonón, en cambio, se utilizaron 6 atados, para obtener la misma cantidad.

El mucílago fue almacenado en contenedores con hielo a fin de estabilizar la flora natural, esto permitió tener un producto apto para la preparación del fermentado y los análisis correspondientes.

Elaboración del Fermentado del mucílago de abacá

La elaboración del fermentado del mucílago de abacá, se realizó conforme a los tratamientos requeridos (Tabla 17). Durante la preparación de la materia prima, se procedió a cernir el mucílago, procurando eliminar los residuos de bagazo procedentes de la cosecha. Inmediatamente, se procedió a tomar lectura de los grados brix y pH presentes en cada variedad, a través del uso de un Refractómetro ATAGO N-1^a y el potenciómetro.

Para esta investigación se utilizaron 24 litros de mucílago de abacá para preparar las Unidades experimentales de la siguiente manera: se prepararon unidades experimentales (UE) de 1000 cc cada una (1 litro), de los cuales 2 UE de cada variedad (Bungalanon y Tangongon) se pasteurizó a una temperatura de 100 °C, enfriado el mucílago se adicionó sacarosa hasta alcanzar 21 °brix, posteriormente mientras que las otras dos muestras de cada variedad no se pasteurizo pero se las llevó hasta alcanzar 21 °brix , posteriormente se procedió a inocular 1 UE de cada variedad con 1g/l de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), y otra (de cada variedad) se le añadió 10 ml/l de flora natural, mediante diseño ANOVA 2x2x2 dando un total de 8 UE, esta investigación se realizó por triplicado, dando un total de 24 UE. Cada tratamiento (1 Litro) se depositó en envases estériles con trampa de agua para evitar la contaminación y se mantuvo a temperatura constante en ambiente controlado, durante el tiempo de fermentado (21 días). (ver tabla 17).

Obtención de alcohol a partir de la fermentación del mucílago de abacá

La determinación obtención de alcohol, se realizó conforme a los lineamientos aplicados por (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018), que son mencionados a continuación:

Inmediatamente después de evaluar las características físico-químicas del fermentado de mucílago de abacá se procedió a destilar 800 ml, mediante la utilización de un equipos de destilación de laboratorio (balón aforado, columna de refrigeración, plancha de calentamiento y

termómetro) ; cantidad que fue dividida en dos partes, y ubicada en un balón de 500 ml a temperatura de destilación.

■ Diseño Experimental

3.3.4.1. Factores de estudio .

Tabla 16. Factores de estudio y niveles evaluados, para establecer diferencias en las características del mucílago de abacá (*Musa textiles*) en el proceso de elaboración de alcohol.

Factores	Niveles
Variedades (V)	V1= Bungalonon V2= Tangongón.
Fermentativos (F)	F1= Flora natural F2= Levadura (<i>Saccharomyces cerevisiae</i>)
Esterilización (E)	E1= Pasteurizado E2= Sin pasteurizar.

3.3.4.2. Tratamientos.

Tabla 17. Tratamientos estudiados

Tratamiento	Código	Descripción
T1	v1f1e1	Bungalonón + flora natural + Pasteurizado.
T2	v1f1e2	Bungalonón + flora natural + Sin pasteurizar.
T3	v1f2e1	Bungalonón + levadura+ Pasteurizado.
T4	v1f2e2	Bungalonón + Levadura+ Sin pasteurizar.
T5	v2f1e1	Tangongón. + flora natural + Pasteurizado.
T6	v2f1e2	Tangongón. + flora natural + Sin pasteurizar.
T7	v2f2e1	Tangongón. + Levadura + Pasteurizado.
T8	v2f2e2	Tangongón. + Levadura + Sin pasteurizar.

3.3.4.3. Tipo de diseño

En esta investigación se aplicó un ANOVA de bloques al azar, con modelo factorial $A \times B \times C$, de los cuales considero: dos niveles en A (Variedades), dos niveles en B (Fermentativos) y dos niveles en C (Pasteurización), generando un total de 8 tratamientos.

3.3.4.4. Repeticiones

Considerando que se trata de una investigación de laboratorio. Para determinar normalidad en la toma de datos, considerando alta sensibilidad de los equipos utilizados en los ensayos, se realizaron tres repeticiones por tratamiento, que como resultado suman un total de 24 unidades experimentales (8 tratamientos x 3 réplicas).

3.3.4.5. Características de las unidades experimentales.

Para cada tratamiento se utilizó 1 litro de mucílago de abacá, considerando 8 tratamientos y 3 réplicas; para el experimento se utilizó 24 litros de materia prima, 12 litros de la variedad Bungalanon y 12 litros de la variedad Tangongon.

■ Análisis estadístico

3.3.5.1. Esquema de análisis de varianza

Tabla 18. Esquema del análisis de varianza (ANOVA) para la evaluación de las características del mucílago de abacá (*Musa textiles*) en la elaboración de alcohol.

Fuente de Variación		Grados de Libertad
Variedad	V-1	1
Fermentativos	F-1	1
Esterilización	E-1	1
Variedad x Fermentativos	(V-1)(F-1)	1
Variedad x Esterilización	(V-1)(E-1)	1
Fermentativos x Esterilización	(F-1)(E-1)	1
Variedad x Fermentativos x Esterilización	(V-1)(F-1)(E-1)	1
Replicas	R-1	2
Error Experimental		14
Total	(n - 1)	23

3.3.5.2. Análisis funcional

Para establecer diferencias de los resultados de las medias de los tratamientos se aplicó la prueba de significación de Tukey ($p < 0,05$), para identificar grupos independientes a fin de tomar una decisiones.

Variables e Indicadores.

3.3.6.1. Pruebas físico - químicas

3.3.6.1.1. Sólidos solubles del mucílago y el Fermentado del mucílago de abacá

La determinación de sólidos solubles se realizó conforme a la metodología aplicada por (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018), que se detalla a continuación:

Para determinar esta variable se colocó dos gotas de la muestra, en el prisma fino del refractómetro ATAGO N-1a, y posteriormente, se procedió a dar lectura de los sólidos solubles totales, en grados Brix.

3.3.6.1.2. pH en el mucílago de abacá y fermento de abacá

Para determinar esta variable, se realizó el procedimiento, detallado en la Norma Técnica (INEN 389, 1986), que se describe a continuación:

Antes de iniciar con las lecturas, se verificó el funcionamiento del potenciómetro, introduciéndolo en la solución buffer, con pH 4 a 30°C. Continuando con el procedimiento, se colocaron 25 cm³ de la muestra en un vaso de precipitación de 200 ml, dentro del cual posteriormente se añadieron 100 cm³ de agua destilada, agitando de manera suave, hasta que las partículas quedaron homogeneizadas. Finalmente, se procedió a tomar la lectura directa del pH del mucílago, introduciendo los electrodos del potenciómetro en el vaso de precipitación que contenía la muestra.

3.3.6.1.3. Acidez titulable en el mucílago y el fermentado del mucílago de abacá

La acidez titulable tanto para el mucílago como para el fermentado del mucílago de abacá, se efectuó a través de la aplicación de la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 0381, 1986), que se detalla a continuación:

Se tomaron 25 cm³ de la muestra en un matraz Erlenmeyer de 250 cm³ y se aforó con agua bidestilada (destilada hervida y enfriada), mezclando perfectamente la solución y sumergiendo los electrodos se tomó lectura del pH inicial. Posteriormente se fue añadiendo la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, gota a gota, agitando antes de medir el pH, hasta alcanzar un pH 6, y así

de manera sucesiva hasta alcanzar pH 7 y finalmente pH 8,3, registrando la cantidad de hidróxido de sodio consumido en cada uno de los puntos referentes. Finalmente, a través de interpolación se estableció el volumen exacto de solución 0,1 N de hidróxido de sodio añadido, correspondiente al pH 8,1 y se procedió a aplicar la siguiente fórmula:

$$A = \frac{(V_1 N_1 M) 10}{V_2}$$

Siendo:

A = g de ácido en 1 000 cm³ de producto.

V1 = cm³ de NaOH usados para la titulación de la alícuota.

N1 = normalidad de la solución de NaOH.

M = peso molecular del ácido considerado como referencia.

V2 = volumen de la alícuota tomada para el análisis.

3.3.6.1.4. Proteína Total (del mucílago de abacá).

La determinación de proteína se realizó conforme a los lineamientos descritos por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC 920.105, 1990) :

Al ser el mucílago un producto líquido, primero se procedió a concentrar la muestra eliminando la mayor cantidad de humedad posible, ubicándola en la estufa durante aproximadamente 72 horas hasta que se obtuvo una miel semisólida.

A. Digestión

Se pesaron 0,3 gramos de muestra y se colocó en el micro- tubo – digestor, añadiéndole una tableta catalizadora y 5ml de ácido sulfúrico concentrado. Los tubos digestores con las muestras fueron ubicados en el block-digest con el colector de humo funcionando. La digestión se llevó a cabo con una temperatura de 400°C, en un lapso de 2 horas. Al finalizar las muestras se tornaron de un color verde-azulado, se dejó enfriar a temperatura ambiente evitando la agitación.

B. Destilación

En cada micro- tubo se añadieron 15 ml de agua destilada. A continuación, el micro-tubo y el matraz de recepción, fueron colocados con 10 g/1,2 litros de agua. El sistema fue accionado y se le adicionaron 30 ml de hidróxido de sodio al 40%. Posteriormente, se recogieron aproximadamente 200 ml de destilado retirando el sistema de accesorios y apagando el equipo.

C. Titulación

Al destilado se le aumentaron 3 gotas de la solución indicadora y se procedió a titular con ácido clorhídrico al 0,1 N, utilizando un agitador mecánico, se registró el volumen de ácido consumido y se aplicó la siguiente fórmula para el cálculo correspondiente:

$$\%PB = \frac{(VHCL - Vb) * 1,401 * NHCL * F}{g\ muestra}$$

Donde:

1,401 = Peso atómico del nitrógeno

NHCL = Normalidad de Ácido clorhídrico 0,1 N

F = Factor de conversión (6,25)

VHCL = Volumen del ácido clorhídrico consumido en la titulación

Vb = Volumen del blanco (0,3)

3.3.6.1.5. Cenizas (en el mucílago y el fermentado del mucílago de abacá).

Para la determinación de este parámetro se empleó la siguiente metodología establecida en la (INEN 348, 1978):

Antes de iniciar con el proceso, se pesó el crisol vacío posteriormente se realizó una miel del mucílago de abacá, y de la misma manera con el fermentado, colocando 100 ml por réplica, en cápsulas de porcelana de 125 ml. Una vez que la miel estuvo lista, se dejó enfriar durante 10

minutos, se pesó cada crisol, luego se colocó en la mufla a 600°C durante 4 horas, y se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{c3 - c1}{c2 - c1} \times 100$$

Siendo:

C1= Masa del crisol vacío (gr)

C2=Masa del crisol con la muestra (gr)

C3=Masa del crisol con las cenizas (gr)

3.3.6.1.6. Humedad (en el mucílago fresco y mucílago fermentado de abacá).

La determinación de humedad se realizó conforme a la metodología aplicada por (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018), que se detalla a continuación:

Se tomó el dato del peso de un vaso de precipitación de 100 mL debidamente identificado con una balanza analítica Sartorius BL - 210 S (m1), donde posteriormente se colocaron 50 ml del mucílago, recipiente que fue pesado y registrado (m2), hasta que finalmente se colocó la muestra

en la estufa MEMMERT UNB 500 a 105 °C por 72 horas, pasado este período se procedió a tomar el registro del peso (m_3).

Los cálculos fueron realizados con la fórmula que se muestra a continuación:

$$\% \text{ humedad} = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \times 100$$

Dónde:

m_1 : masa de la capsula vacía y de su tapa, en gramos.

m_2 : masa del vaso de precipitación con la muestra antes del secado, en gramos.

m_3 : masa de la capsula con tapa más la muestra desecada, en gramos.

3.3.6.1.7. Grasa total (extracto etéreo) del mucílago de abacá

Para la determinación de grasa en la caracterización del mucílago de las dos variedades se utilizó la metodología descrita por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales: (AOAC 996.06, 1990).

En primera instancia, se ubicaron los vasos beakers en la estufa MEMMERT UNB 100°C , durante 60 minutos, para eliminar cualquier rastro de humedad, luego se trasladaron al desecador

de vidrio 250 MM y se pesaron en la balanza analítica Sartorius BL - 210 S, cuando estos alcanzaron la temperatura ambiente.

Continuando, se pesaron 2 g de la miel de abacá, sobre un papel filtro y se colocaron en el interior del dedal, taponando con suficiente algodón hidrófilizado, para proceder a introducir el papel filtro con el contenido, dentro del portadedal. Posteriormente, cada uno de los 6 vasos beaker, fueron llevados hacia los anillos metálicos del aparato de golfish, donde se les adicionaron 40 ml de solvente, al mismo tiempo que se apertura la circulación de agua.

Se colocaron los vasos en cada anillo, para ser trasladados a la hornilla del aparato golfish, ajustando al tubo refrigerante del extractor. Segundos después, se levantó la hornilla y se programó la temperatura a 55°C. El tiempo empleado para la extracción de grasa fue de 4 horas. Al finalizar la extracción, los calentadores fueron retirados con cuidado a través de la palanca del equipo, el vaso. Se retiró el portadetal con el dedal momentáneamente y se colocaron los vasos sustitutos, para recuperar el solvente.

A continuación, se elevaron los calentadores y se dejaron hervir hasta que, casi todo el solvente, estuvo dentro del vaso de recuperación, de forma secuencial, se bajaron los calentadores y se retiraron los vasos beaker, con el residuo de la grasa y el solvente. Los vasos con la grasa fueron ubicados en la estufa MEMMERT UNB 500 a 105°C hasta completar la evaporación del

solvente durante 30 minutos, posteriormente se dejó enfriar hasta temperatura ambiente en el desecador de vidrio 250 mm, se pesaron y registraron los datos. Se utilizó la siguiente fórmula:

$$G = \frac{W_2 - W_1}{W_0} \times 100$$

Dónde:

G = Porcentaje de grasa

W0= Peso de la muestra

W1= Peso del vaso beaker vacío

W2= Peso del vaso más la grasa

3.3.6.1.8. Densidad (en mucílago y el fermentado del mucílago de abacá).

Para determinar la densidad en ambos casos, se aplicó la siguiente metodología establecida por la Norma Técnica (INEN 391, 1986):

Un picnómetro completamente limpio y seco fue pesado mediante una balanza analítica Sartorius BL - 210 S, para posteriormente ser llenado con agua destilada (recientemente hervida y enfriada hasta 15°-18°C) hasta la marca respectiva, procurando evitar la formación de burbujas

de aire. La tapa del picnómetro fue sumergida dentro de un baño de agua a $20^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, durante 30 minutos.

Pasado dicho periodo, se retiró el picnómetro del baño para secarlo exteriormente por completo pesándolo nuevamente. Luego, se vació, secó y limpió cuidadosamente el objeto, para colocar en él la muestra hasta la marca respectiva, evitando la formación de burbujas de aire.

Posteriormente, se tapó y sumergió el picnómetro en el baño de agua a $20^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, durante media hora, otra vez, se retiró el picnómetro del baño, secándolo cuidadosamente por la parte exterior, y proceder a pesarlo. Los datos obtenidos, fueron reemplazados en la siguiente ecuación con una densidad relativa a $20/20^{\circ}\text{C}$:

$$d = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1}$$

Siendo:

m_1 = masa del picnómetro vacío, en g.

m_2 = masa del picnómetro con agua, en g.

m_3 = masa del picnómetro con la muestra, en g.

3.3.6.1.9. Determinación de cloruros de sodio (en el fermentado del mucílago de abacá).

La determinación del fermentado del mucílago, fue aplicada conforme los procedimientos de la Norma (INEN 353, 1978) detallada a continuación:

Se midieron 250 cm³ de muestra por repetición en un matraz earlenmayer de 500 ml, luego se agitó durante varios minutos, a fin de eliminar la mayor parte de anhídrido carbónico agitando. Luego, se colocaron 100 cm³ de cada réplica dentro de un matraz volumétrico de 300 cm³, neutralizándolos con la solución de hidróxido de bario, donde se utilizó la solución indicadora de fenolftaleína, para llevarla a volumen con agua destilada.

El filtrado, fue realizado con la ayuda de un papel filtro, plegado y lavado previamente con agua destilada tibia, despreciando las primeras porciones. Solamente 100 cm³ de la filtración se transfirieron a un matraz Erlenmeyer de 500 cm³; dentro del cual se agregaron 20 cm³ de una solución al 20% de ácido nítrico mediante una pipeta graduada de 25 ml, más 5 cm³ de otra solución saturada de permanganato de potasio a través de una pipeta de 5 ml. Posteriormente, se agitó y dejó reposar por un tiempo de 5 minutos hasta que se produjo la desaparición del color violeta.

Se añadió al filtrado, 10 cm³ de la solución de sulfato férrico amónico, 20 cm³ de éter etílico y 10 cm³ de la solución 0,1 N de nitrato de plata, mediante una pipeta de 25 ml. Al finalizar el

proceso, se valoró el exceso de nitrato de plata con la solución 0,1 N de tiocianato de potasio, hasta observar una coloración rojiza pálida persistente por lo menos durante cinco segundos. El contenido de cloruros en vinos se determinó mediante la ecuación que se presenta a continuación:

$$C = 116,9 \frac{(10N_1 - v_2N_2)}{V_1}$$

Siendo:

C = contenido de cloruros, expresado en gramos de cloruro de sodio por 1 000 cm³ de muestra.

N₁ = normalidad de la solución de nitrato de plata

N₂ = normalidad de la solución de tiocianato de potasio

V₁ = volumen de la muestra utilizada en el ensayo, en centímetros cúbicos (100 cm³)

V₂ = volumen de la solución de tiocianato de potasio empleado en la titulación, en centímetros cúbicos.

3.3.6.1.10. Anhídrido sulfuroso libre en el fermentado del mucílago de abacá

Este análisis se llevó a cabo, conforme al planteamiento descrito en la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 357, 1978):

Cada muestra (por réplica), fue dividida en dos partes, en las cuales se colocaron 50 cm³ de muestra y 10 cm³ de solución al 20% de ácido sulfúrico, en un vaso de precipitación de 100 ml.

Luego, se añadió la solución 0,02 N de yodo, por gotas, agitando continuamente, hasta apreciar un cambio brusco en la medición obtenida por el potenciómetro; se registró el volumen de reactivo adicionado.

En la segunda parte, se colocó la cantidad de solución 0,02 N de yodo registrada anteriormente, con un pequeño exceso, en un vaso de precipitación de 100 mL, dónde posteriormente se añadieron 10 cm³ de solución al 20% de ácido sulfúrico y luego se adicionaron 50 cm³ de la muestra restante; evitando la agitación del recipiente. Finalmente se realizó una titulación de la solución 0,02 N de tiosulfato de sodio, hasta observar cambios bruscos en la medición registrada por el potenciómetro. En la fórmula descrita a continuación, se reemplazaron los resultados obtenidos:

$$ASL = 0,64 \times (V_1 N_1 - V_2 N_2)$$

Siendo:

ASL = contenido de anhídrido sulfuroso libre, expresado en gramos por 1 000 cm³

V₁ = volumen de la solución de yodo empleada, en centímetros cúbicos.

N₁ = normalidad de la solución de yodo empleada

V₂ = volumen de la solución de tiosulfato de sodio usada en la titulación, en centímetros cúbicos.

N₂ = normalidad de la solución de tiosulfato de sodio usada en la titulación.

3.3.6.1.11. Grados alcohólicos.

Para determinar esta variable, se llevó a cabo el siguiente procedimiento, establecido por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 340, 1994):

El alcohol obtenido después de la destilación fue colocado en una probeta graduada, perfectamente limpia y seca. Seguidamente, el alcoholímetro fue limpiado e introducido con mucho cuidado en la probeta con que contenía la muestra, manteniéndolo así durante un lapso de 10 minutos, hasta que desaparecieron las burbujas de aire, que se forman en el seno del líquido. Finalmente, se efectuó la lectura, considerando el nivel real del líquido más no la elevación del menisco.

3.3.6.2. Pruebas Microbiológicas.

3.3.6.2.1. Recuento de la población microbiana del mucílago fermentado de abacá

Para el recuento se inoculó en láminas Petri film, según el procedimiento utilizado durante la investigación realizada por (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018):

Antes de comenzar con el procedimiento, se preparó una solución de peptona al 5% para 72 tubos de ensayo cada uno con 9 ml, donde se distribuyeron las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} , de las cuales se usaron solamente las disoluciones 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} .

Se procedió a inocular (levaduras y bacterias), transfiriendo 1 ml del inóculo a la superficie de la lámina de Petri film, y luego se cubrieron con la película superior, deslizándola cuidadosamente, evitando que la aparición de burbujas. Mediante el difusor, el círculo dentado limitó el área por la que se extendía el inóculo. Posteriormente se aplicó presión de manera suave, sobre el difusor para distribuir uniformemente la solución en forma equidistante, dentro de la lámina. Luego de 1 minuto, de espera el gel se solidificó.

El Petri film de bacterias, fue incubado a 37°C por 24 horas; y el de levaduras a 24°C por 72 horas. Transcurrido este período se procedió a efectuar el conteo.

El número de microorganismos se calculó con la siguiente fórmula según (Yousef & Carlstrom, 2003).

$$\text{Recuento} \left(\frac{\text{UFC}}{\text{ml}} \right) = \frac{\text{número de colonias por placa} \times \text{factor de dilución}}{\text{volumen inoculado en la placa}}$$

3.3.6.2.2. Identificación de poblaciones microbianas en el mucílago de abacá

a) Inoculación en medios de cultivo

Para la inoculación en medios de cultivo, se llevó a cabo el siguiente procedimiento:

Previamente se prepararon dos cajas Petri de cada tipo de medio; Agar manitol y PDA (potato dextrose agar). La siembra de los microorganismos, se llevó a cabo dentro de la cámara de flujo laminar esterilizada con anterioridad mediante el uso de alcohol al 90% y luz UV, que fue encendida 30 minutos antes de dicha actividad, con la ayuda de una micropipeta se colocó 1 ml de mucílago de cada variedad; Bungalón y Tangongón en cajas Petri diferentes. Finalmente, se sellaron las cajas Petri y se procedió a incubarlas (Agar manitol 37°C y PDA a 24°C) durante 24 y 72 horas, respectivamente.

b) Identificación de los microorganismos aislados

Tinción de Gram

El procedimiento que se llevó a cabo fue el siguiente:

Se transfirió una porción de la colonia previamente aislada desde la placa sembrada y se mezcló con una gota de agua destilada (usando un asa de platino) en el portaobjetos del

microscopio. Seguidamente, se mezcló homogéneamente difundiendo la masa bacteriana. A continuación, se dejó secar la extensión al ambiente, y se procedió a fijar la extensión sobre el calor, con suaves movimientos sobre la llama de un mechero. La tinción de Gram, se ejecutó de la siguiente forma:

Se cubrió la extensión con cristal violeta (Tinción primaria). Luego se lavó suavemente la extensión una vez teñida (después de 60 segundos) con gotas de agua destilada. Después, se saturó la extensión del portaobjetos con la solución de yodo de Gram para lavarla, a continuación, nuevamente con agua destilada tras 60 segundos de tratamiento. Posteriormente con un decolorante (mezcla de cetona y alcohol), se procedió a aplicar una gota, sobre el cristal durante 3 segundos para luego enjuagarlo con agua destilada. Consecutivamente, se cubrió la extensión con safranina (tinción secundaria) durante 60 segundos, para lavarla posteriormente, de igual manera, con agua destilada.

La extensión del portaobjetos, se observó a través del lente de microscopio 100X. Las células Gram positivas fueron marcadas por el color azul y las Gram negativas mediante la coloración, rosada; al finalizar se detalló la forma y las características de cada cepa.

3.3.6.2.3. Pruebas Bioquímicas para identificación bacteriana.

a. Prueba de Catalasa

Esta prueba se realizó en base al procedimiento realizado por (Olmos, Fuentes, Nieto, & Ramos, 2010). Sobre un porta objetos, se depositó una colonia desde la caja Petri, a través de un asa de metal, previamente flameada con un mechero, de manera cuidadosa para añadirle una gota del reactivo (peróxido de hidrógeno). Después de 20 segundos, se observaron los resultados, de la siguiente manera: formación de burbujas (+) y no formación de burbujas o muy escasa producción (-).

b. Prueba Oxidasa con KOH

Esta prueba se realizó conforme a la metodología de (Lagunas & Vega, 2013) donde sobre un porta objeto, se colocó una gota de KOH al 3 %. Mientras que, con un asa estéril se recolectó parte de una colonia bacteriana en estudio; consecuentemente, se mezcló la colonia en la gota de KOH, con movimientos giratorios durante 3 minutos, luego de los cuales, se realizaron las siguientes observaciones:

Si al separar el asa de la mezcla se formaba una hebra viscosa, la prueba era positiva e indicaría que se trataba de bacterias Gram negativas. Si al separar el asa no se formaba hebra alguna, la prueba sería negativa, e indicaría que las bacterias son Gram positivas.

3.3.6.3. Pruebas toxicológicas para determinar la presencia de metanol en el alcohol.

Para determinar la presencia de metanol se realizó la prueba toxicológica, descrita por (Aguilar, 2016), que se detalla a continuación:

- **Reacción de SCHIFF**

Esta reacción se realizó en una pequeña porción de la muestra, a la que se le añadió 1ml de permanganato de potasio al 1%, mezclándola de manera homogénea, para posteriormente adicionar unas gotas de ácido sulfúrico puro y así dejar en reposo, la solución por un lapso de 3 minutos. Pasado, dicho período, se agregaron algunas gotas de solución saturada de ácido oxálico (hasta que la mezcla se decoloró); mientras la mezcla iba adquiriendo una coloración madera, hasta decolorarse totalmente para añadir también, gotas de ácido sulfúrico puro, otra vez. Finalmente, se le añadió 1ml de fuxina bisulfatada (reactivo de Schiff) a la mezcla, con lo cual, al ser positiva para metanol, se tornaría de un color violeta intenso, tal y como se muestra en la siguiente figura:



Figura 2. Colores obtenidos a través del reactivo de Schiff para metanol

Fuente: (Aguilar, 2016).

3.3.6.4. Evaluación de la cinética de crecimiento de los microorganismos

Para la evaluación de la cinética del crecimiento, se elaboraron 4 medios a base de mucílago de abacá (*Musa textilis*) de las variedades Bungalanon y Tangongon: Bungalanon+ Pasteurización + Levadura (*S. cerevisiae*) Bungalanon+ Sin pasteurización + Levadura (*S. cerevisiae*) y Tangongon + Pasteurización + Levadura (*S. cerevisiae*); Tangongon + Sin pasteurización + Levadura (*S. cerevisiae*), antes de iniciar el proceso de fermentación se corrigió grados brix (21 ° brix), el pH óptimo en el cual se desarrollan mejor las levaduras está entre 4 y 5, por ende se corrigió el pH a 4,8.

Se colocó 1 g de levadura por litro de mucílago de abacá, posteriormente se embazó para dar inicio al proceso de fermentación

El consumo de brix, la variación de pH, acidez titulable y absorbancia, durante el proceso de fermentación fueron registrados cada 24 horas, durante 7 días.

3.3.6.5. Determinación del rendimiento de alcohol

La determinación del rendimiento se realizó conforme a la metodología aplicada por (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018), que se detalla a continuación:

Se midieron los milímetros iniciales del fermentado de mucílago de abacá que fueron utilizados durante la destilación, y el volumen final del alcohol obtenido. La siguiente fórmula, fue aplicada para calcular el porcentaje de rendimiento:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{ml de alcohol destilado}}{\text{ml de fermentado de mucílago de abacá}} \times 100$$

CAPÍTULO IV

IV. RESULTADOS

De la determinación de las características físico-químicas y microbiológicas del mucílago obtenido de dos variedades de abacá (*Musa textilis*).

Análisis físico – químicos del mucílago de abacá

Tabla 19. Análisis físicos – químicos del mucílago de abacá

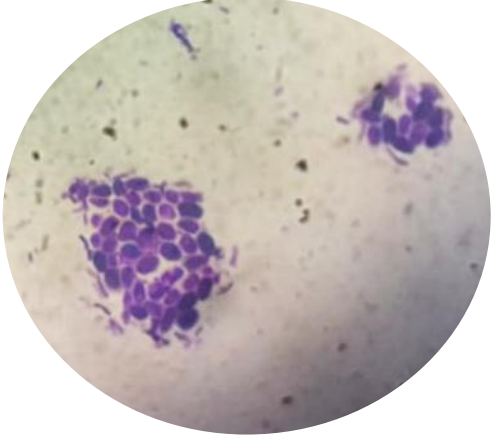
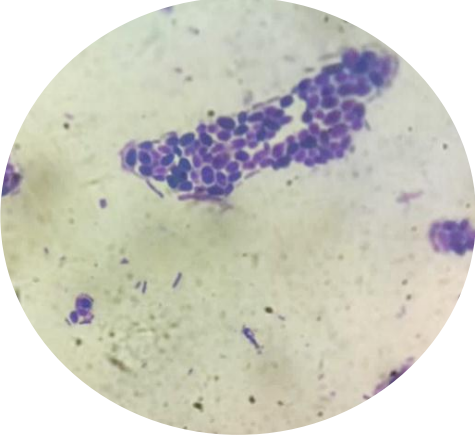
Parámetros analizados	Unidad	Bungalonon	Tangongon
Sólidos solubles	Brix	4	3
Acidez titulable	%	0,0073	0,0091
Ph		4,49	4,37
Grasa	%	0,6	0,25
Proteína	%	0,78	0,69
Humedad	%	96,8	98,1
Cenizas	%	9,12	8,1

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Con respecto a las características físico-químicas del mucílago de abacá, se encontró diferencia en sólidos solubles y pH, siendo Bungalanon mayor con 4 ° Brix y 4,49; mientras que, Tangongon presento 3° Brix y 4,37. En cuanto al porcentaje de acidez titulable, se observó

valores de: 0,0091 para Tangongon frente a Bungalanon con 0,0073. Con relación al contenido de grasa: Bungalanon (0,6%), presento valores superiores sobre Tangongon (0,25%), En humedad Tangongon (98,1%), se ubicó por encima de Bungalanon (96,8%) con una diferencia considerable. Para el caso de proteína y cenizas, se ha podido evidenciar, que Bungalanon (0,78% y 9,12%), posee un mayor porcentaje con respecto a Tangongon (0,69% y 8,1%) respectivamente.

Identificación de levaduras presentes en el mucílago de abacá.

Bungalanon	Tangongon
	
<p><i>Candida utilis</i> Lodder & Kreger-van (100x)</p>	<p><i>Candida utilis</i> Lodder & Kreger-van (100x)</p>

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

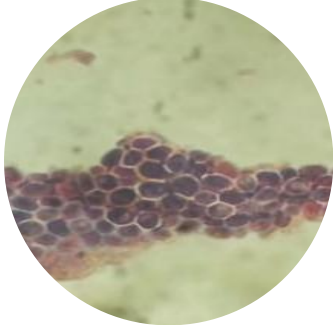
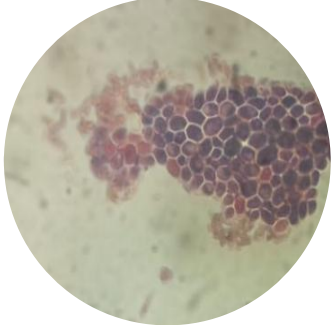
Figura 3. Levaduras aisladas e identificadas en el mucílago de abacá.

Para la identificación de levaduras en mucílago de abacá, se aplicó tinción de gram y se pudo identificar presencia de *Candida utilis* *Candida utilis* Lodder & Kreger-van con una resolución de 100x, en las variedades Tangongon y Bungalanon. (ver figura 3).

(Ferreira, 2009) menciona que como medios de cultivo para *Candida utilis* se han usado Hidrocarburos, desechos industriales tales como aguas residuales de las industrias de la celulosa, del café, almidón, procesamiento de alimentos y del papel, melaza de la industria azucarera, residuos de la industria vinícola, desechos de la industria láctea, residuos de cáscara de cítricos, entre muchos otros.

Identificación de bacterias presentes en el mucílago de abacá

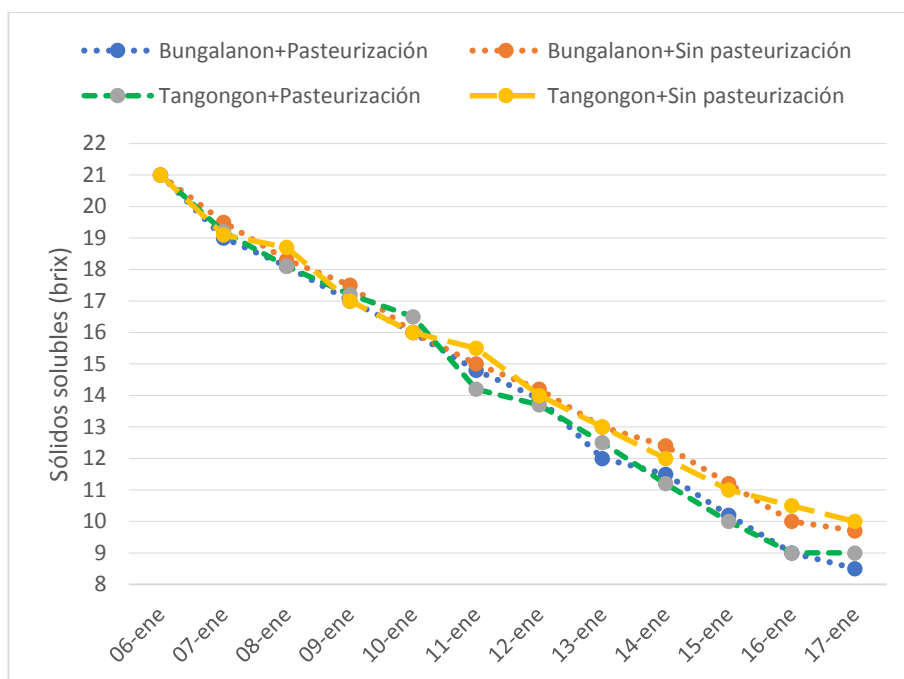
Tabla 20. Resultados de las pruebas de identificación de bacterias.

Bungalanon	Tangongon
Bacilos Gram - Catalasa positiva Oxidasa negativa	Bacilos Gram - Catalasa positiva Oxidasa negativa
	

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Mediante pruebas bioquímicas se logró determinar el género al que pertenecen las bacterias presentes en el mucílago de abacá (*Musa textilis*) de las variedades Bungalanon y Tangongon. Por tinción de Gram, se obtuvo bacilos Gram negativo; positivo a catalasa y oxidasa negativo (ver tabla 20).

Resultados de la cinética de crecimiento

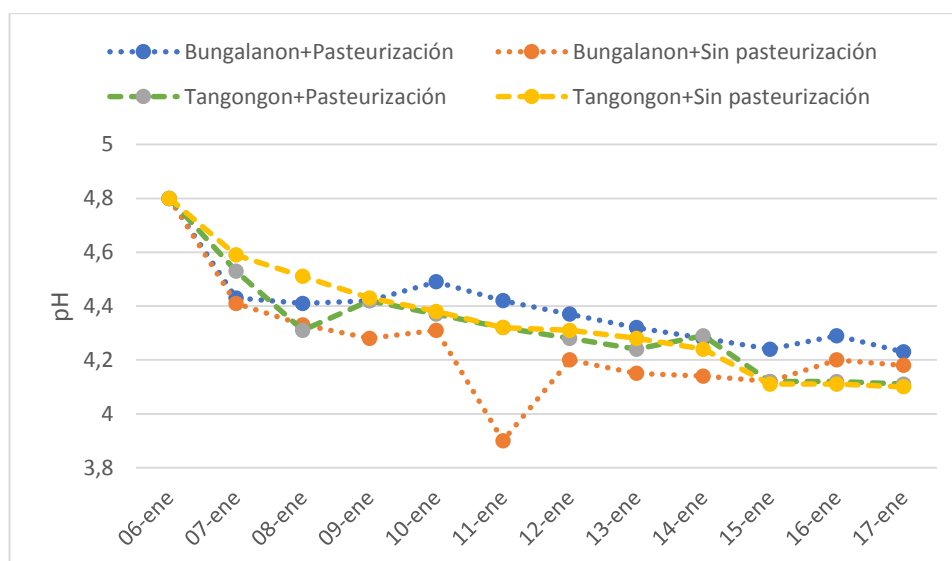


Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Figura 4. Consumo de azúcar (variación de °Brix) en la cinética de crecimiento.

Considerando un volumen de mosto de 1000cc con una concentración de sólidos solubles de 21 grados Brix, se aprecia un decrecimiento exponencial de °Brix, en las 24 horas iniciales

(latencia, exponencial y estacionaria), durante el proceso de fermentación. Como se observa en la figura 4, podemos notar un consumo promedio de brix: Bungalanon+Pasteurización+Levadura= 1,136; Bungalanon+Sin pasteurización+Levadura= 1,027 y Tangongon + Pasteurización + Levadura= 1,091; Tangongon + Sin pasteurización + Levadura = 1,0; a partir del décimo día el consumo de brix desacelera, situándose 8,5; 9,7; 9; 10 respectivamente.

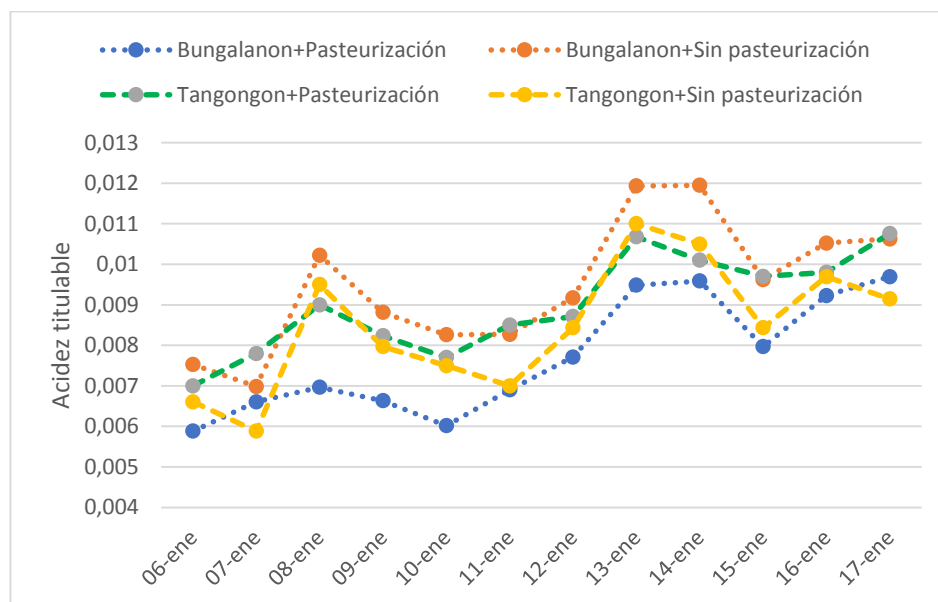


Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Figura 5. Variación de pH durante la cinética de crecimiento.

La fermentación empezó con un pH de 4,8; en la figura 5 se aprecian como los valores de pH descendieron drásticamente entre el primer y segundo día (24 horas), a partir del tercer día se observa que el pH tiende a estabilizarse. Podemos notar que diariamente hay una variación promedio de pH de: Bungalanon+Pasteurización+Levadura= 0,052; Bungalanon+Sin

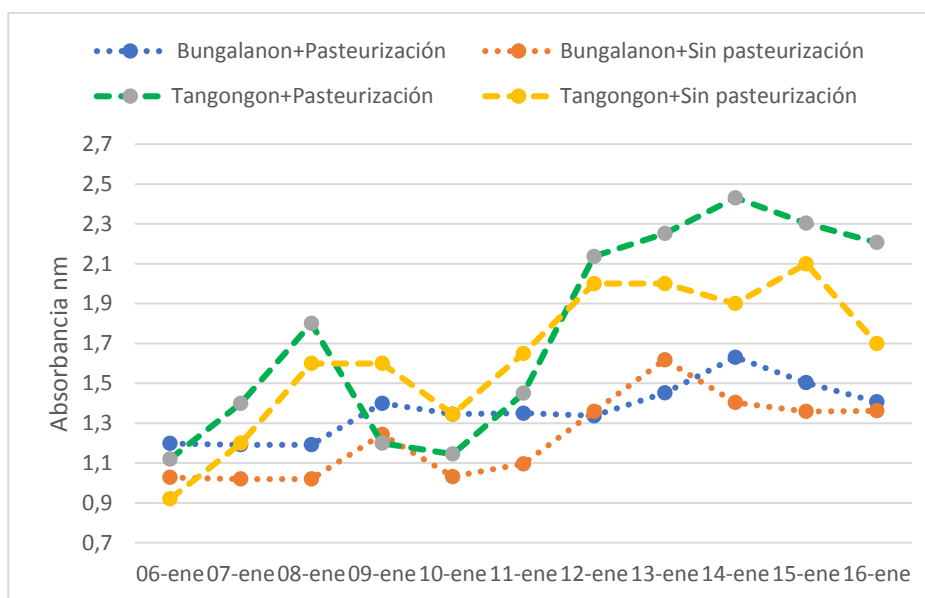
pasteurización+Levadura= 0,056 y Tangongon + Pasteurización + Levadura= 0,063; Tangongon + Sin pasteurización + Levadura = 0,064.



Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Figura 6. Variación de acidez durante la cinética de crecimiento

La acidez con la que comenzaron cada uno de los tratamientos fueron: Bungalanon+Pasteurización+Levadura= 0,0059; Bungalanon+Sin pasteurización+Levadura= 0,0075 y Tangongon + Pasteurización + Levadura= 0,0070; Tangongon + Sin pasteurización + Levadura = 0,0066. En la figura 6 se observa la constante dinámica de la acidez en cada uno de los tratamientos. La fermentación culminó con una acidez mayor a la inicial Bungalanon+Pasteurización+Levadura= 0,0097; Bungalanon+Sin pasteurización+Levadura= 0,0106 y Tangongon + Pasteurización + Levadura= 0,0108; Tangongon + Sin pasteurización + Levadura = 0,0091.



Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Figura 7. Variación de acidez durante la cinética de crecimiento

La absorbancia con la que comenzaron cada uno de los tratamientos fueron: Bungalanon+Pasteurización+Levadura= 1,198; Bungalanon+Sin pasteurización+Levadura= 1,028 y Tangongon + Pasteurización + Levadura= 1,121; Tangongon + Sin pasteurización + Levadura = 1,012. En la figura 7 se observa la constante dinámica de la absorbancia en cada uno de los tratamientos. La fermentación culminó con una absorbancia mayor a la inicial Bungalanon+Pasteurización+Levadura= 1,407; Bungalanon+Sin pasteurización+Levadura= 1,362 y Tangongon + Pasteurización + Levadura= 2,207; Tangongon + Sin pasteurización + Levadura = 1,701.

██████ Análisis de varianza para las variables de estudio.

██████ Análisis de varianza para: sólidos solubles.

Tabla 21. Análisis de varianza para sólidos solubles.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	1,76	1	1,76	3,37	0,0877
B: Fermentativos	8,05	1	8,05	15,42	0,0015*
C: Esterilización	8,52	1	8,52	16,32	0,0012*
Repetición	1,22	2	0,61	1,17	0,3388
AB	0,02	1	0,02	0,04	0,8461
AC	15,20	1	15,20	29,11	0,0001*
BC	3,01	1	3,01	5,76	0,0308*
ABC	6,10	1	6,10	11,68	0,0042*
Error	7,31	14	0,52		
Total	51,20	23			
Coficiente de variación	6,91				

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

En la tabla 21 de análisis de varianza para Sólidos solubles se evidencia diferencia significativa en el Factor B (Fermentativos) y Factor C (Esterilización) y en las interacciones A*C (Variedad*Esterilización), B*C (Fermentativos*Esterilización) y A*B*C (Variedad*Fermentativos*Esterilización) No obstante, en el Factor A (Variedades), las

repeticiones y en las interacciones A*B (Variedad*Fermentativos) no hay diferencia significativa.

■ Análisis de varianza para: pH inicial.

Tabla 22. Análisis de varianza para pH inicial.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	0,02	1	0,02	2,97	0,1066
B: Fermentativos	0,01	1	0,01	0,87	0,3670
C: Esterilización	0,03	1	0,03	3,65	0,0767
Repetición	0,01	2	4,6E-03	0,60	0,5639
AB	0,04	1	0,04	4,80	0,0459*
AC	0,10	1	0,10	13,22	0,0027*
BC	0,01	1	0,01	1,36	0,2633
ABC	0,01	1	0,01	1,70	0,2129
Error	0,11	14	0,01		
Total	0,34	23			
Coefficiente de variación	2,40				

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

En el análisis de varianza para pH (ver tabla 22), se aprecia diferencia significativa en las interacciones: A*B (Variedad*Fermentativos) y A*C (Variedad*Esterilización). No obstante, en

el Factor A (Variedad), Factor B (Fermentativos), Factor C (Esterilización), en las repeticiones y en las interacciones B*C (Fermentativos*Esterilización) y A*B*C (Variedad*Fermentativos*Esterilización) no hay diferencia significativa.

■ Análisis de varianza para: acidez titulable.

Tabla 23. Análisis de varianza para acidez titulable.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	5,0E-06	1	5,0E-06	3,27	0,921
B: Fermentativos	1,2E-04	1	1,2E-04	75,92	<0,0001*
C: Esterilización	3,4E-06	1	3,4E-06	2,19	0,1611
D: Repetición	3,1E-06	2	1,5E-06	1,00	0,3927
AB	4,5E-05	1	4,5E-05	29,43	0,0001*
AC	3,7E-07	1	3,7E-07	0,24	0,6295
BC	1,6E-04	1	1,6E-04	100,57	<0,0001*
ABC	1,5E-04	1	1,5E-04	94,08	<0,0001*
Error	2,2E-04	14	1,5E-04		
Total	5,0E-04	23			
Coefficiente de variación	8,20				

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

El análisis de varianza para acidez titulable muestra diferencia significativa en el Factor B (Fermentativos) y en las interacciones: A*B (Variedad*Fermentativos), B*C (Fermentativos*Esterilización) y A*B*C (Variedad*Fermentativos*Esterilización). No obstante, en el Factor A (Variedad), Factor C (Esterilización), en las repeticiones y en la interacción A*C (Variedad*Esterilización) no hay diferencia significativa (Tabla 23).

■ Análisis de varianza para: densidad.

Tabla 24. Análisis de varianza para densidad.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	6,2E-04	1	6,2E-04	22,42	0,0003*
B: Fermentativos	6,2E-04	1	6,2E-04	22,42	0,0003*
C: Esterilización	1,4E-04	1	1,4E-04	5,07	0,0410*
D: Repetición	6,0E-05	2	3,0E-05	1,09	0,3644
AB	4,8E-05	1	4,8E-05	1,74	0,2081
AC	8,8E-05	1	8,8E-05	3,19	0,0959
BC	1,1E-03	1	1,1E-03	41,51	<0,0001*
ABC	2,3E-03	1	2,3E-03	82,48	<0,0001*
Error	3,9E-04	14	2,8E-04		
Total	0,01	23			
Coeficiente de variación	0,51				

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

En la tabla 24, de análisis de varianza para densidad se aprecia diferencia significativa para el Factor A (Variedad), Factor, B (Fermentativos), Factor C (Esterilización), y en las interacciones B*C (Fermentativos*Esterilización) y A*B*C (Variedad*Fermentativos*Esterilización). Sin embargo, las repeticiones y las interacciones: A*B (Variedad*Fermentativos), A*C (Variedad*Esterilización) no presentaron diferencias significativas.

■ Análisis de varianza para: cenizas.

Tabla 25. Análisis de varianza para cenizas.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	19,14	1	19,14	45,76	<0,0001*
B: Fermentativos	1,34	1	1,34	3,20	0,0951
C: Esterilización	0,82	1	0,82	1,96	0,1838
Repetición	0,06	2	0,03	0,07	0,9347
AB	17,05	1	17,05	40,78	<0,0001*
AC	20,66	1	20,66	49,41	<0,0001*
BC	0,08	1	0,08	0,19	0,6675
ABC	1,89	1	1,89	4,51	0,0519
Error	5,85	14	0,42		
Total	66,89	23			
Coefficiente de variación	5,31				

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

El análisis de varianza para ceniza indica diferencia significativa para el Factor A (Variedad), y las interacciones: A*B (Variedad*Fermentativos) y A*C (Variedad*Esterilización). Sin embargo, Factor, B (Fermentativos), Factor C (Esterilización), las repeticiones no presentaron diferencias significativas.

■ Análisis de varianza para: humedad.

Tabla 26. Análisis de varianza para humedad.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	5,45	1	5,45	4,71	0,0476
B: Fermentativos	59,66	1	59,66	51,58	<0,0001*
C: Esterilización	1,52	1	1,52	1,31	0,2708
Repetición	1,51	2	0,75	0,65	0,5363
AB	64,29	1	64,29	55,58	<0,0001*
AC	2,00	1	2,00	1,73	0,2102
BC	49,54	1	49,54	42,83	<0,0001*
ABC	12,50	1	12,50	10,81	0,0054*
Error	16,19	14	1,16		
Total	212,65	23			
Coeficiente de variación	1,17				

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

El análisis de varianza para humedad indica diferencia significativa en el Factor, B (Fermentativos) y las interacciones: A*B (Variedad*Fermentativos), B*C (Fermentativos*Esterilización) y A*B*C (Variedad*Fermentativos*Esterilización). No obstante, en Factor A (Variedad), Factor C (Esterilización), repeticiones y la interacción, A*C (Variedad*Esterilización), no hubo diferencia significativa (Tabla 26).

■ Análisis de varianza para: cloruros de sodio.

Tabla 27. Análisis de varianza para cloruros de sodio.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	0,01	1	0,01	2,27	0,1540
B: Fermentativos	0,11	1	0,11	20,59	0,0005*
C: Esterilización	0,01	1	0,01	2,59	0,1300
Repeticiones	3,7E-03	2	1,8E-03	0,35	0,7104
AB	0,52	1	0,52	98,11	<0,0001*
AC	0,16	1	0,16	30,03	0,0001*
BC	0,79	1	0,79	150,18	<0,0001*
ABC	0,23	1	0,23	42,90	<0,0001*
Error	0,07	14	0,01		
Total	1,90	23			
Coefficiente de variación	22,61				

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Los datos expuestos en la tabla 27, presentaron diferencias significativas para el factor, B (Fermentativos) y las interacciones, A*B (Variedad*Fermentativos), A*C (Variedad*Esterilización), B*C (Fermentativos*Esterilización) y A*B*C (Variedad*Fermentativos*Esterilización). Situación que fue distinta para los factores: A (Variedad) y C (Esterilización).

■ Análisis de varianza para: anhídrido sulfuroso libre.

Tabla 28. Análisis de varianza para anhídrido sulfuroso libre

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	3,7E-05	1	3,7E-05	21,29	0,0004*
B: Fermentativos	2,3E-04	1	2,3E-04	128,83	<0,0001*
C: Esterilización	5,5E-05	1	5,5E-05	31,16	0,0001*
Repeticiones	2,4E-06	2	1,2E-06	0,68	0,5241
AB	8,0E-05	1	8,0E-05	45,21	<0,0001*
AC	1,8E-04	1	1,8E-04	102,60	<0,0001*
BC	6,8E-05	1	6,8E-05	38,80	<0,0001*
ABC	1,8E-05	1	1,8E-05	10,36	0,0062*
Error	2,5E-05	14	1,8E-06		
Total	6,9E-04	23			
Coefficiente de variación	11,49				

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

A través de los datos de la tabla 28, se pueden observar las diferencias significativas halladas en los factores: A (Variedad), B (Fermentativos) y C (Esterilización); y en las interacciones: A*B (Variedad*Fermentativos), A*C (Variedad*Esterilización), B*C (Fermentativos*Esterilización) y A*B*C (Variedad*Fermentativos*Esterilización).

■ Análisis de varianza para: grados alcohólicos.

Tabla 29. Análisis de varianza para grados alcohólicos.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	128,34	1	128,34	27,92	0,0001*
B: Fermentativos	2450,26	1	2450,26	533,04	<0,0001*
C: Esterilización	0,84	1	0,84	0,18	0,6749
Repeticiones	0,15	2	0,07	0,02	0,9843
AB	518,01	1	518,01	112,69	<0,0001*
AC	698,76	1	698,76	152,01	<0,0001*
BC	25,01	1	25,01	5,44	0,0351
ABC	178,76	1	178,76	38,89	<0,0001*
Error	64,35	14	4,60		
Total	4064,49	23			
Coefficiente de variación	5,14				

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Los datos que se muestran en la tabla 29, manifestaron diferencias significativas en los factores: A (Variedad), B (Fermentativos); y en las interacciones: A*B (Variedad*Fermentativos), A*C (Variedad*Esterilización), y A*B*C (Variedad*Fermentativos*Esterilización). Mientras tanto, para los factores: C (Esterilización), y la interacción; B*C (Fermentativos*Esterilización), no se encontraron diferencias significativas.

■ Análisis de varianza para: rendimiento.

Tabla 30. Análisis de varianza para la variable rendimiento.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	0,04	1	0,04	0,07	0,7910
B: Fermentativos	82,05	1	82,05	145,80	<0,0001*
C: Esterilización	0,11	1	0,11	0,20	0,6651
Repeticiones	1,50	2	0,75	1,33	0,2949
AB	18,80	1	18,80	33,41	<0,0001*
AC	14,27	1	14,27	25,36	0,0002*
BC	8,31	1	8,31	14,77	0,0018*
ABC	7,87	1	7,87	13,98	0,0022*
Error	7,88	14	0,56		
Total	140,83	23			
Coefficiente de variación	6,00				

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Las diferencias significativas se presentan en el factor B (Fermentativos); y las interacciones: A*B (Variedad*Fermentativos), A*C (Variedad*Esterilización), B*C (Fermentativos*Esterilización), y A*B*C (Variedad*Fermentativos*Esterilización). No obstante, en los factores: A (Variedad) y C (Esterilización), no se muestran diferencias significativas (ver tabla 30).

■ Análisis de varianza para: bacterias.

Tabla 31. Análisis de varianza para bacterias.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	$1,486013 \times 10^{+9}$	1	$1,486013 \times 10^{+9}$	142,35	<0,0001*
B: Fermentativos	$3,070926 \times 10^{+8}$	1	$3,070926 \times 10^{+8}$	29,42	0,0001*
C: Esterilización	$4,104243 \times 10^{+9}$	1	$4,104243 \times 10^{+9}$	395,15	<0,0001*
Repeticiones	$3,097396 \times 10^{+7}$	2	$1,548698 \times 10^{+7}$	1,48	0,2604
AB	$1,267301 \times 10^{+8}$	1	$1,267301 \times 10^{+8}$	12,14	0,0036*
AC	$2,586488 \times 10^{+9}$	1	$2,586488 \times 10^{+9}$	247,76	<0,0001*
BC	$2,78426 \times 10^{+7}$	1	$2,78426 \times 10^{+7}$	2,67	0,1247
ABC	$2,860051 \times 10^{+8}$	1	$2,860051 \times 10^{+8}$	27,40	0,0001*
Error	$1,46151 \times 10^{+8}$	14	$1,043936 \times 10^{+7}$		
Total	$9,10154 \times 10^{+9}$	23			
Coefficiente de variación	8,20				

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

En la tabla 31, se observan las diferencias significativas presentadas en el factor A (Variedades), B (Fermentativos) y C (Esterilización); y en las interacciones: A*B (Variedad*Fermentativos), A*C (Variedad*Esterilización) y A*B*C (Variedad*Fermentativos*Esterilización). Sin embargo, en la interacción B*C (Fermentativos*Pasteurización), no se encontraron diferencias significativas.

■ Análisis de varianza para: levaduras.

Tabla 32. Análisis de varianza para levaduras.

Fuente de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A: Variedad	$4,266667 \times 10^{-7}$	1	$4,266667 \times 10^{-7}$	2,51	0,1355
B: Fermentativos	$2,604167 \times 10^{-9}$	1	$2,604167 \times 10^{-9}$	153,13	<0,0001*
C: Esterilización	$2,94 \times 10^{-8}$	1	$2,94 \times 10^{-8}$	17,29	0,0010*
Repeticiones	$3,25 \times 10^{-6}$	2	$1,625 \times 10^{-6}$	0,10	0,9095
AB	$1,0935 \times 10^{-9}$	1	$1,0935 \times 10^{-9}$	64,30	<0,0001*
AC	$1,666667 \times 10^{-7}$	1	$1,666667 \times 10^{-7}$	0,98	0,3390
BC	$1,768167 \times 10^{-9}$	1	$1,768167 \times 10^{-9}$	103,97	<0,0001*
ABC	$1,5 \times 10^{-6}$	1	$1,5 \times 10^{-6}$	0,09	0,7708
Error	$2,380833 \times 10^{-8}$	14	$1,700595 \times 10^{-7}$		
Total	$6,062 \times 10^{-9}$	23			
Coficiente de variación	12,31				

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Las diferencias significativas se muestran en el factor B (Fermentativos) y C (Esterilización); además de las interacciones: A*B (Variedad*Fermentativos), A*B (Variedades*Fermentativos) y B*C (Fermentativos*Esterilización). Mientras que en el factor A (Variedades), en las interacciones A*C (Variedad*Esterilización) y A*B*C (Variedad*Fermentativos*Esterilización), no se existieron diferencias significativas (ver tabla 32).

Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de las variedades: Tangongon y Bungalanon.

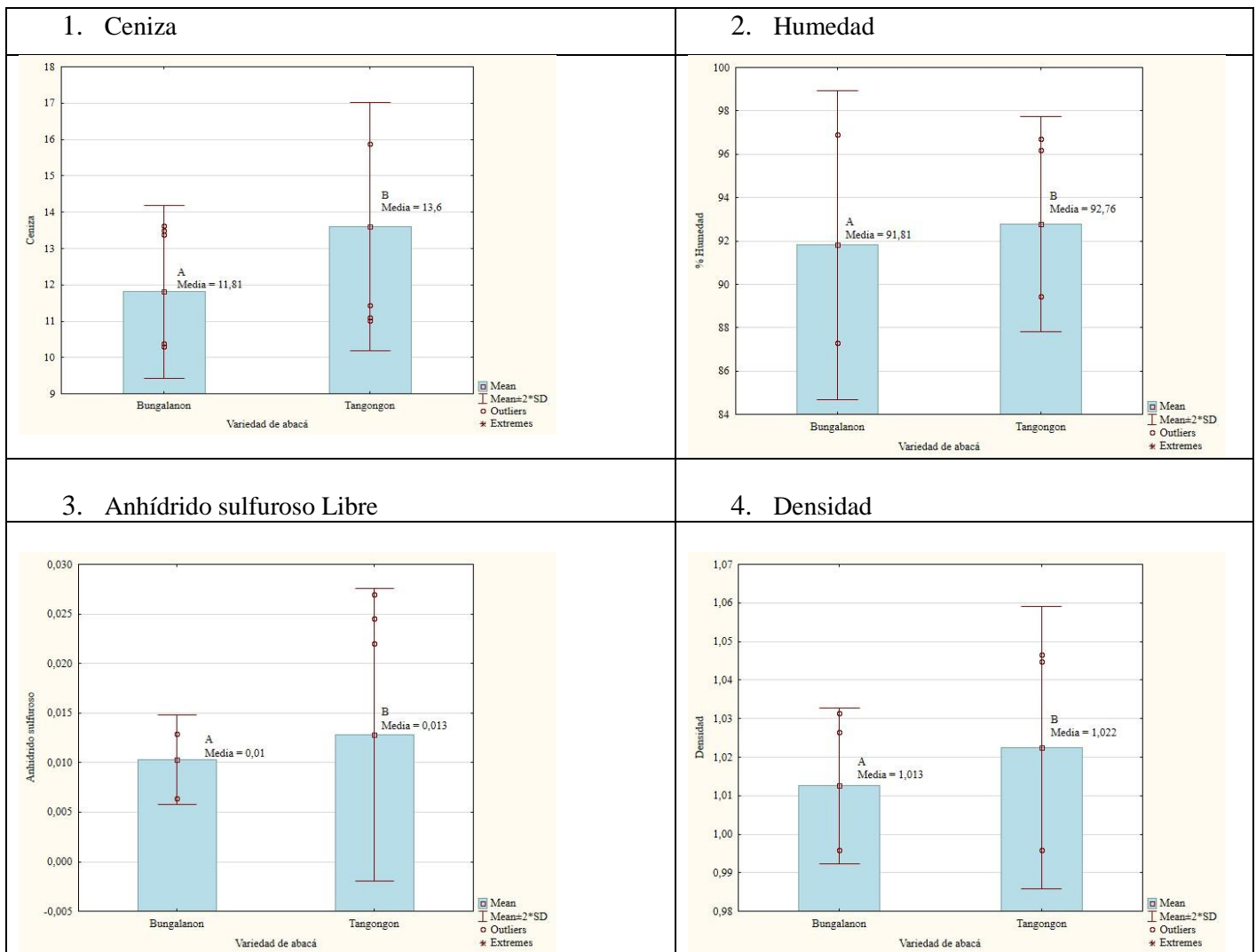
Tabla 33. Valores correspondientes a análisis físico químico de las variedades de Abacá estudiadas.

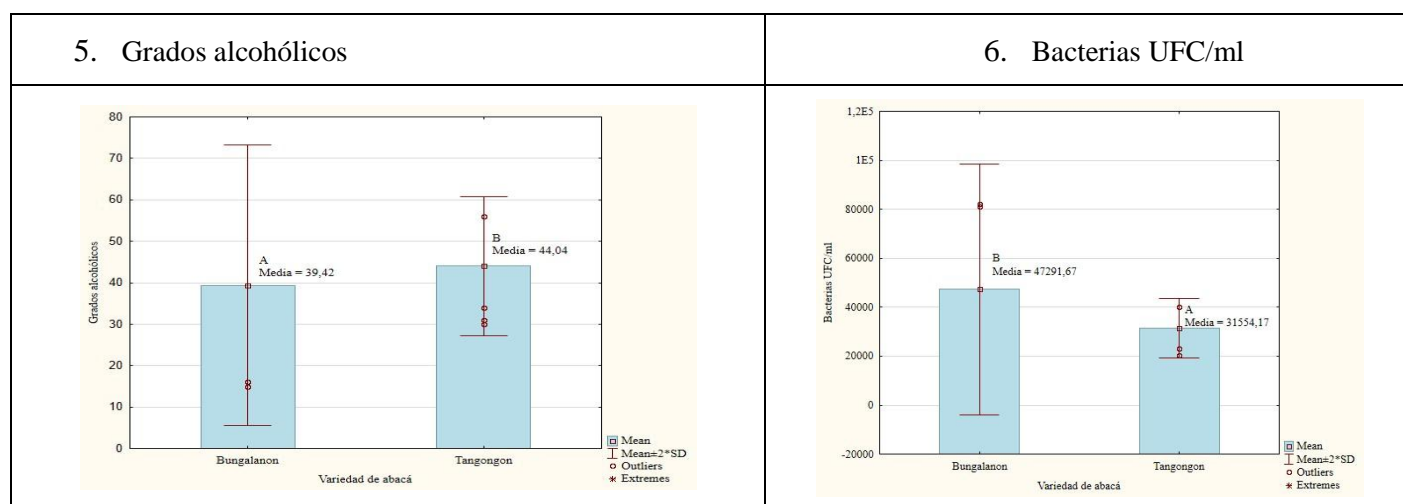
Factor A	Sólidos Solubles	pH	Acidez	Cloruros	Rendimiento	Levaduras (UFC/ml)
Bungalanon	10,73	3,62	0,014	0,30	12,55	34833,33
Tangongon	10,19	3,68	0,015	0,34	12,46	32166,67

En la tabla 33, se aprecian los resultados obtenidos, donde: pH no se encontró diferencia significativa entre las dos variedades sin embargo se pudo determinar valores de 3,62 y 3,68 respectivamente para las variedades Bungalanon y Tangongon, en cuanto a acidez, no se halló diferencia significativa entre las variedades utilizadas, puesto que los resultados obtenidos fueron de 0,014 en Bungalanon y 0,015 en Tangongon, en sólidos solubles no existió diferencia significativa entre variedades, ya que se pudo apreciar valores de 10,73 en Bungalanon y 10,19 en Tangongon, en cloruros, no se presentó diferencia significativa, porque los valores obtenidos fueron de 0,30 en Bungalanon y 0,34 en Tangongon; en rendimiento, no detectó diferencia

significativa, obteniéndose cantidades de 12,55 en Bungalanon y 12,46 en Tangongon, finalmente, en levaduras, tampoco se motró diferencia significativa, no obstante se logró

establecer 34833,33 UFC/ml en Bungalanon y 32166,67 UFC/ml en Tangongon. Mientras que, en humedad, ceniza, densidad, anhídrido sulfuroso libre, grados alcohólicos y bacterias, sí se hallaron diferencias significativas.





Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Figura 8. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a las variedades de abacá (Bungalanon y Tangongon).

Aplicando la Prueba de Tukey se encontró (La figura 8) diferencia significativa en: ceniza situando el valor mas alto en Tangongon (13,60%) frente a Bungalanon (11,81); humedad 91,81% (Bungalanon) y 92,76% (Tangongon); densidad 1,013 (Bungalanon) y 1,022 (Tangongon); anhídrido sulfuroso libre 0,010 g/l (Bungalanon) y 0,013 g/l (Tangongon); grados alcohólicos 39,42 (Bungalanon) y 44,04 (Tangongon) y Bacterias 47291,67 UFC/ml (Bungalanon) y 31554,17 (Tangongon).

Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de los fermentativos: Flora natural y Levadura.

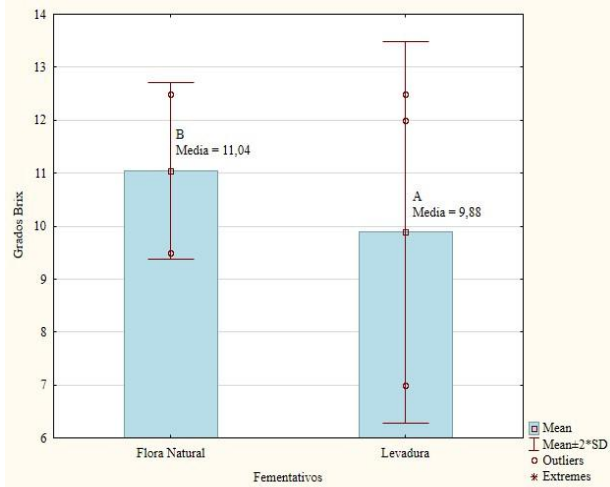
Tabla 34. Valores correspondientes a análisis físico químico de los fermentativos estudiados.

Factor B	pH inicial	Cenizas
Flora Natural	3,67	12,47
Levadura	3,64	12,94

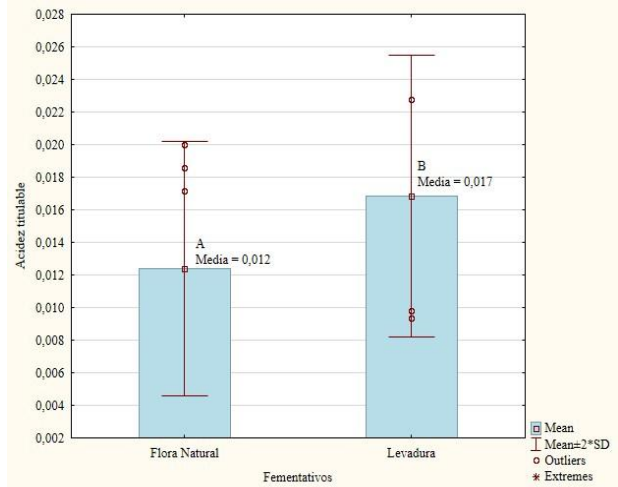
Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

En la tabla 34, se encuentran los resultados obtenidos, donde: en pH no se encontró diferencia significativa entre los fermentativos aplicados, no obstante, se logró determinar valores de 3,67 y 3,64 respectivamente para la Flora natural y levadura, de manera respectiva, en cenizas, de la misma manera, no se halló diferencia significativa entre los fermentativos empleados, sin embargo, se establecieron cantidades de 12,47 en Flora natural y 12,94 en Levadura. Entre tanto para acidez titulable, humedad, ceniza, densidad, cloruros de sodio, anhídrido sulfuroso libre, rendimiento grados alcohólicos, bacterias y levaduras, sí se existieron diferencias significativas.

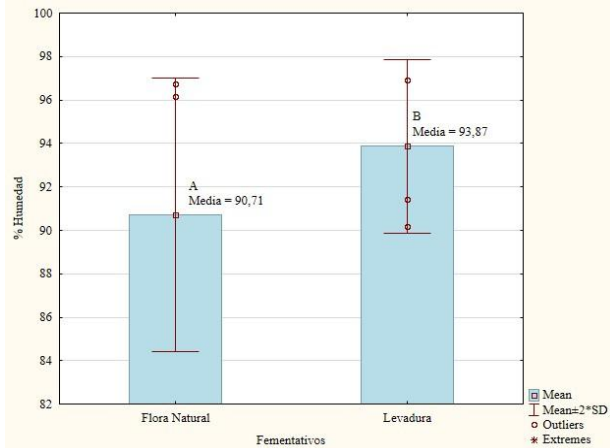
1. Sólidos solubles



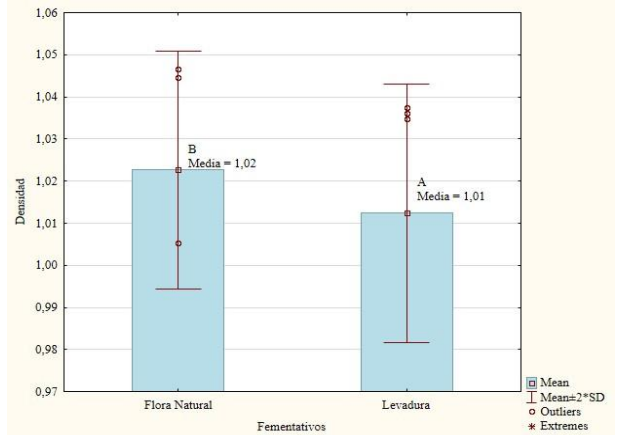
2. Acidez titulable



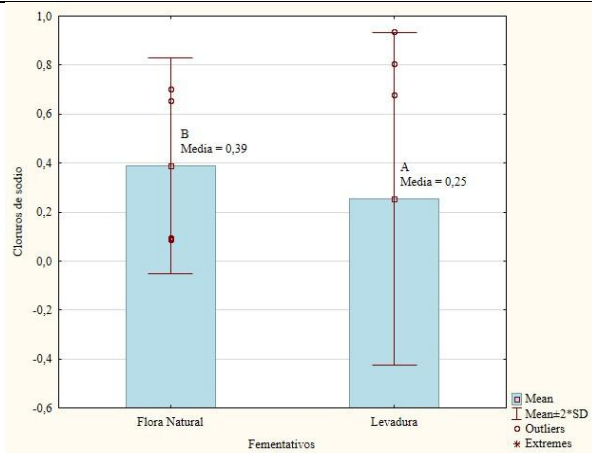
3. Humedad (%)



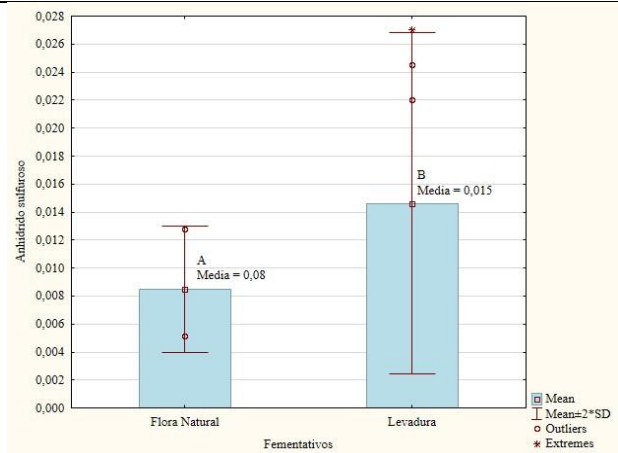
4. Densidad

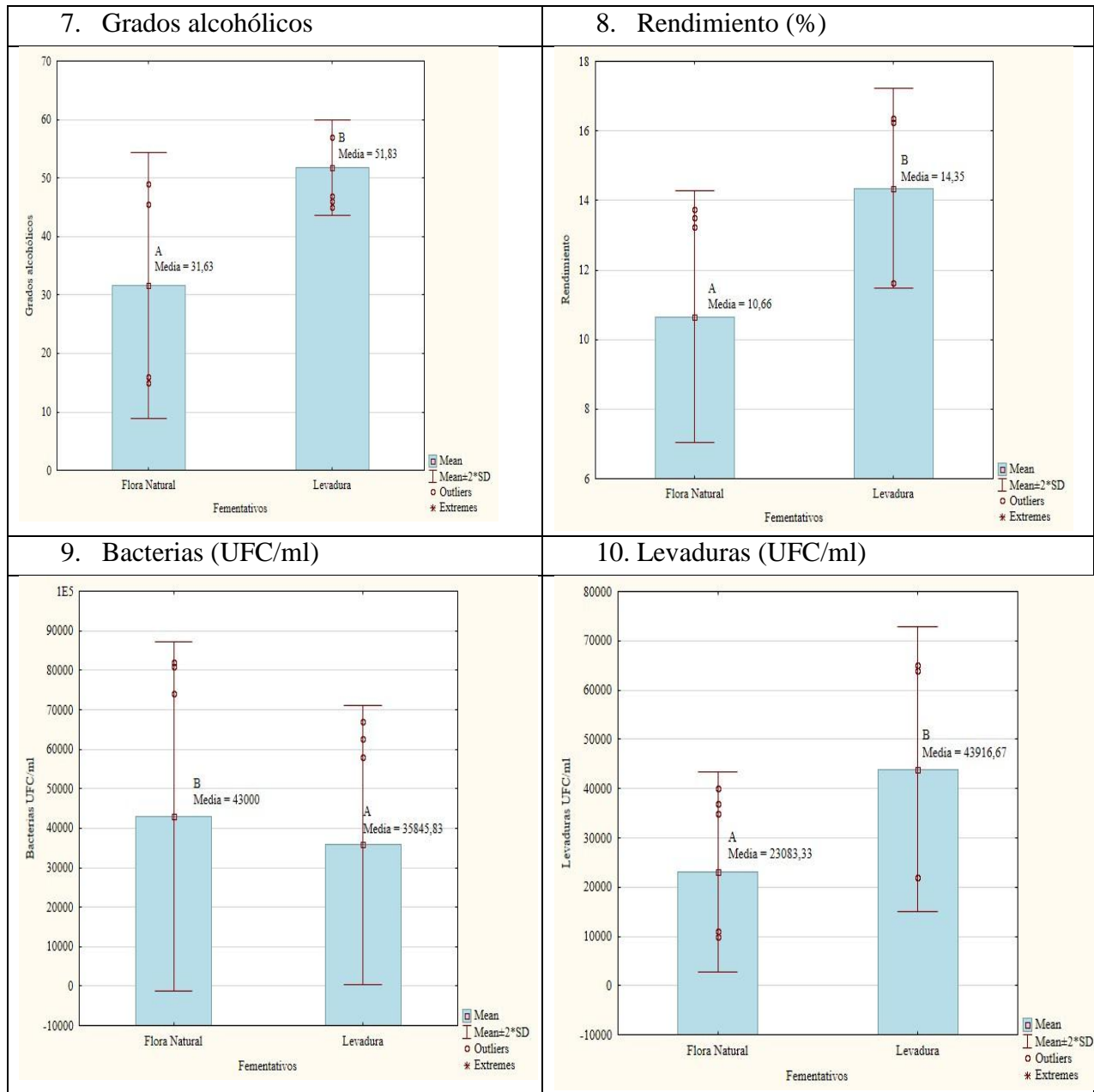


5. Cloruros de sodio



6. Anhídrido sulfuroso libre





Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Figura 9. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a los fermentativos (Flora natural y Levadura).

En la figura 9, se puede visualizar que, para las variables, sólidos solubles, densidad, cloruros de sodio y bacterias, fue la flora natural, el tratamiento con mayores cantidades 11,04° Brix, 1,02 g/l, 0,39 g/l y 43000 UFC/ml respectivamente. No obstante, la fermentación realizada con *Saccharomyces cerevisiae*, obtuvo datos más relevantes en cuanto a, acidez titulable, humedad, anhídrido sulfuroso libre, grados alcohólicos, rendimiento y levaduras con 0,017 g/l, 93,87%, 0,015 g/l, 51,83, 14,35% y 43916,67 UFC/ml de manera respectiva.

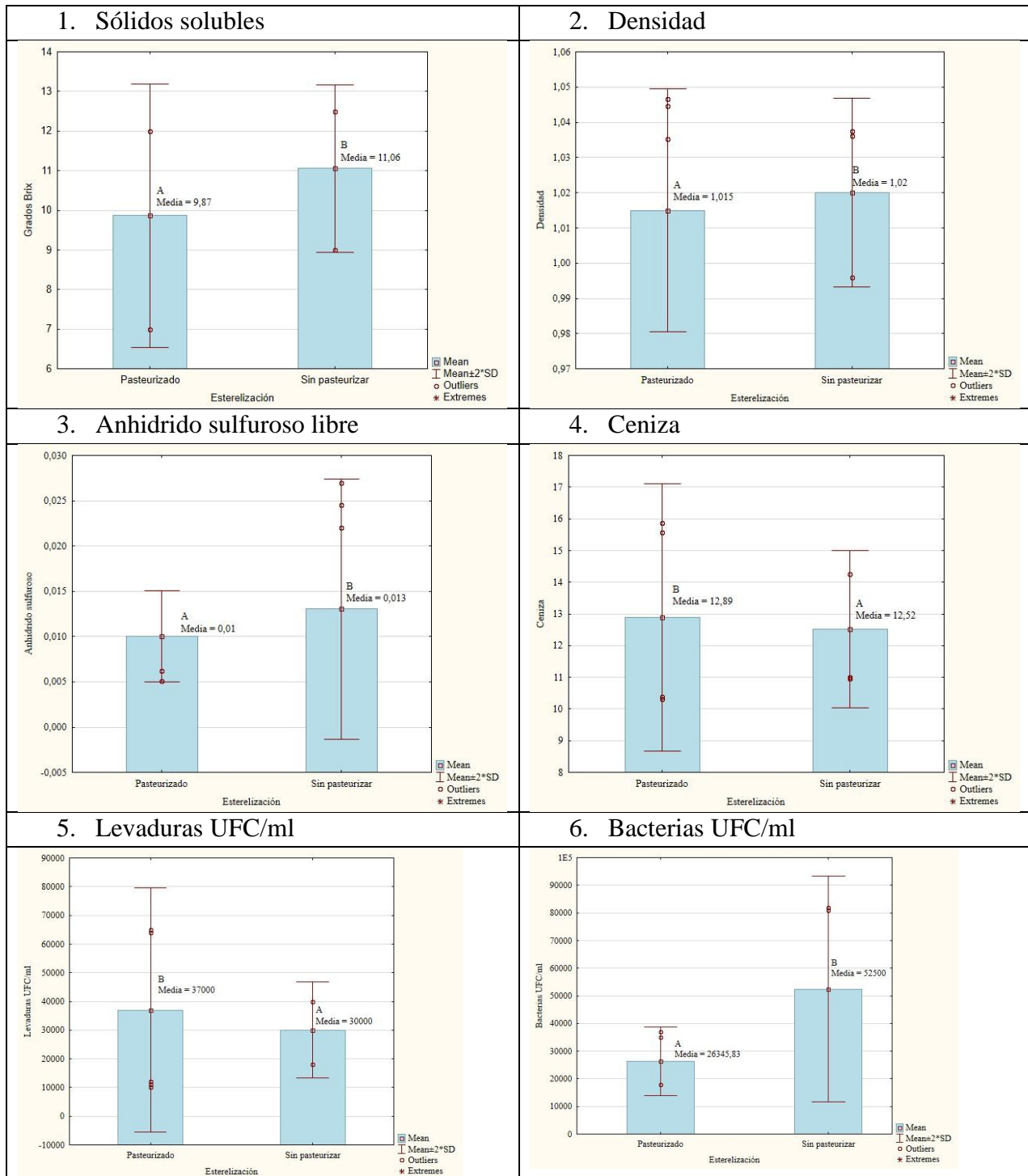
Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de la esterilización: Pasteurizado y Sin Pasteurizar.

Tabla 35. Valores correspondientes a análisis físico químico de la esterilización aplicada.

Factor C	pH	Acidez titulable	Humedad	Cloruros de sodio	Grados alcohólicos	Rendimiento	Bacterias (UFC/ml)
E1	3,62	0,014	92,54	0,34	41,54	12,57	26345,83
E2	3,69	0,015	92,04	0,30	41,92	12,44	52500

Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

En la tabla 35, se exponen los resultados obtenidos, donde no se encontró diferencia significativa conforme a los tipos de esterilización aplicados; se determinó valores de 3,62 y 3,69 para pasteurización y sin pasteurización, de manera respectiva, en acidez titulable, se establecieron cantidades de 0,014 en Flora natural y 0,015 en Levadura, en humedad, los valores hallados en pasteurización fueron del 92,54% y sin pasteurizar de 92,04%, en cloruros de sodio, se halló 0,34 g/L en la pasteurización y en sin pasteurizar 0,30 g/L., en rendimiento, el valor de la pasteurización fue de 12,57% y en sin pasteurizar, 12,44%, finalizando con bacterias, en donde se obtuvo 26345,83 UFC/ml en la pasteurización y 52500 UFC/ml sin pasteurizado. Mientras que, para sólidos solubles, ceniza, densidad, anhídrido sulfuroso libre, grados alcohólicos y levaduras, sí se existieron diferencias significativas.

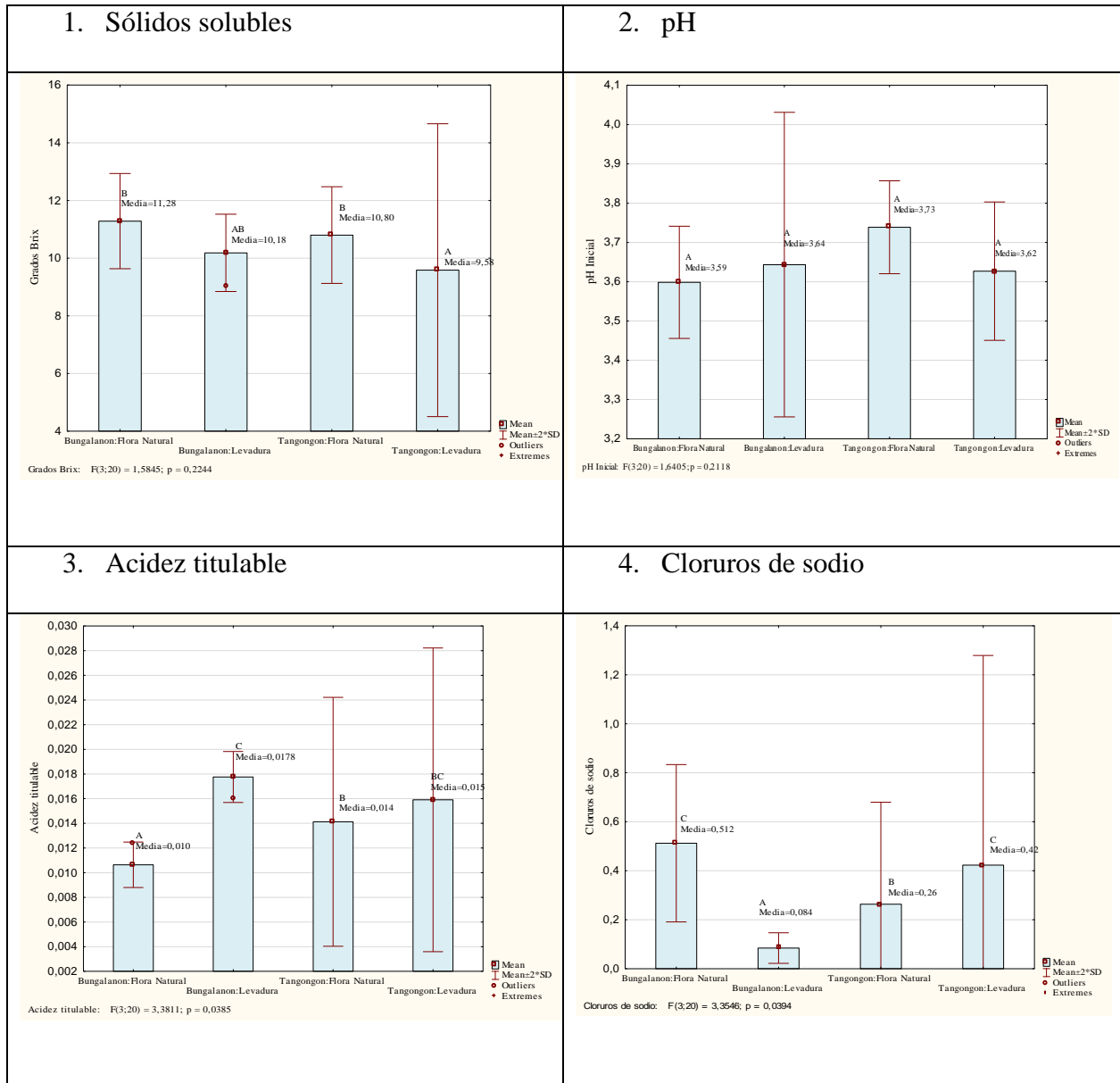


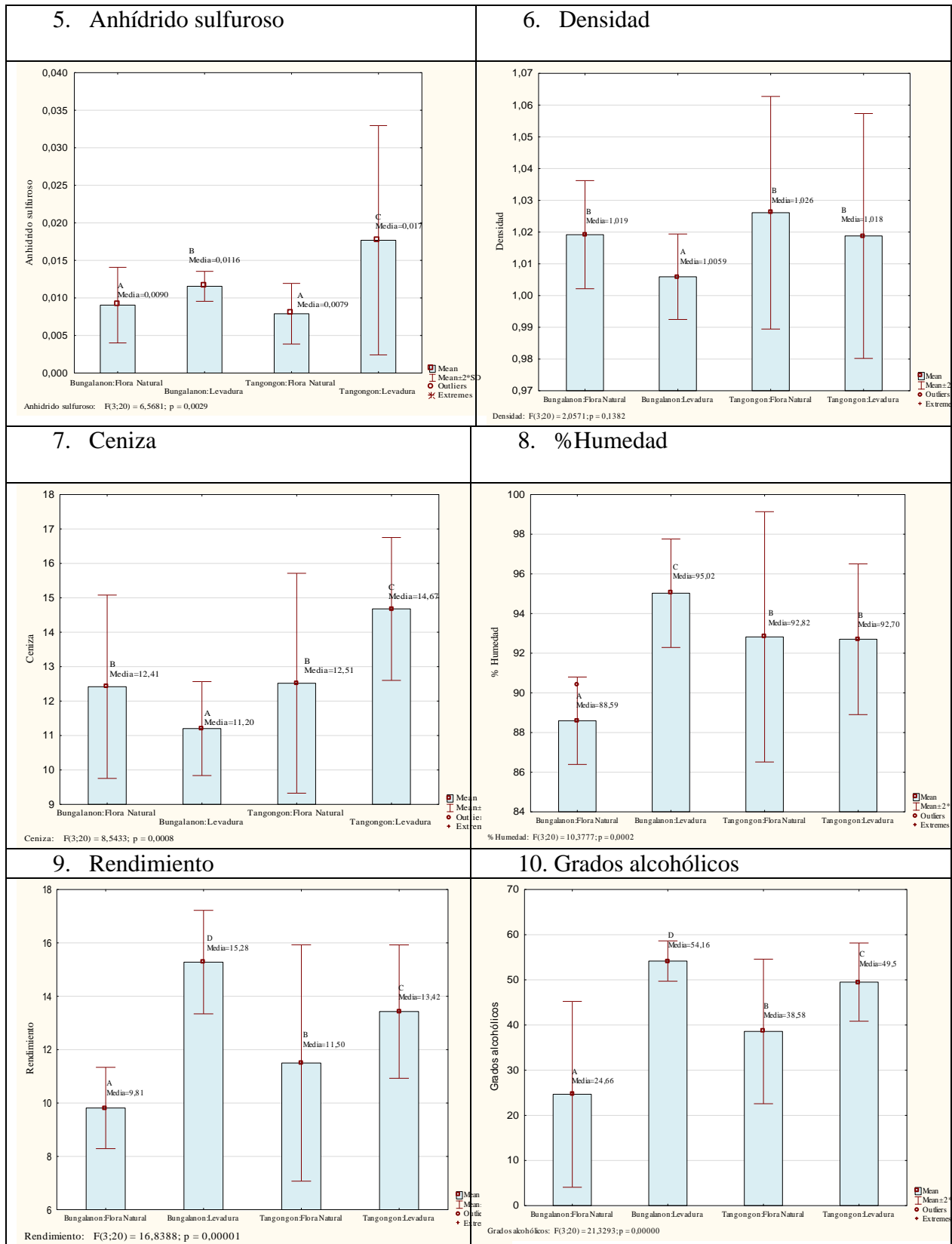
Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

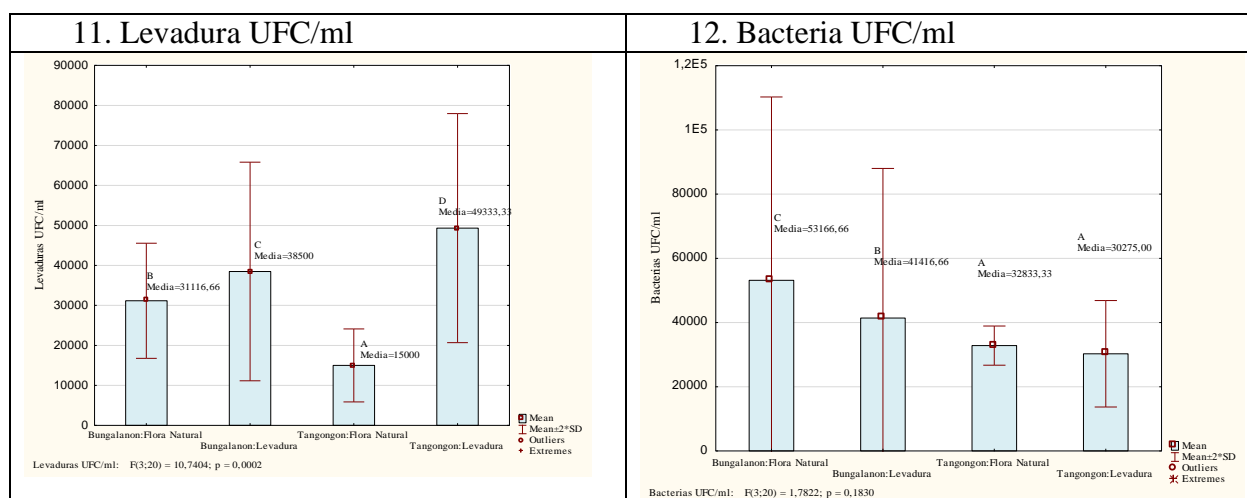
Figura 10. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a la esterilización (Pasteurizado y sin pasteurizar).

En la figura 10, se evidencia diferencia significativa para las variables sólidos solubles en donde sin pasteurización se presentó un valor más alto (11,06 °brix) frente al pasteurizado (9,87 °brix); ceniza 12,89% (pasteurizado) y 12,52% (sin pasteurizar); densidad 1,015 (pasteurizado) y 1,020 (sin pasteurización); anhídrido sulfuroso libre 0,010 g/l (pasteurizado) y 0,013 g/l (sin pasteurización).

Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de la interacción: Ax B (Variedad* Fermentativo)







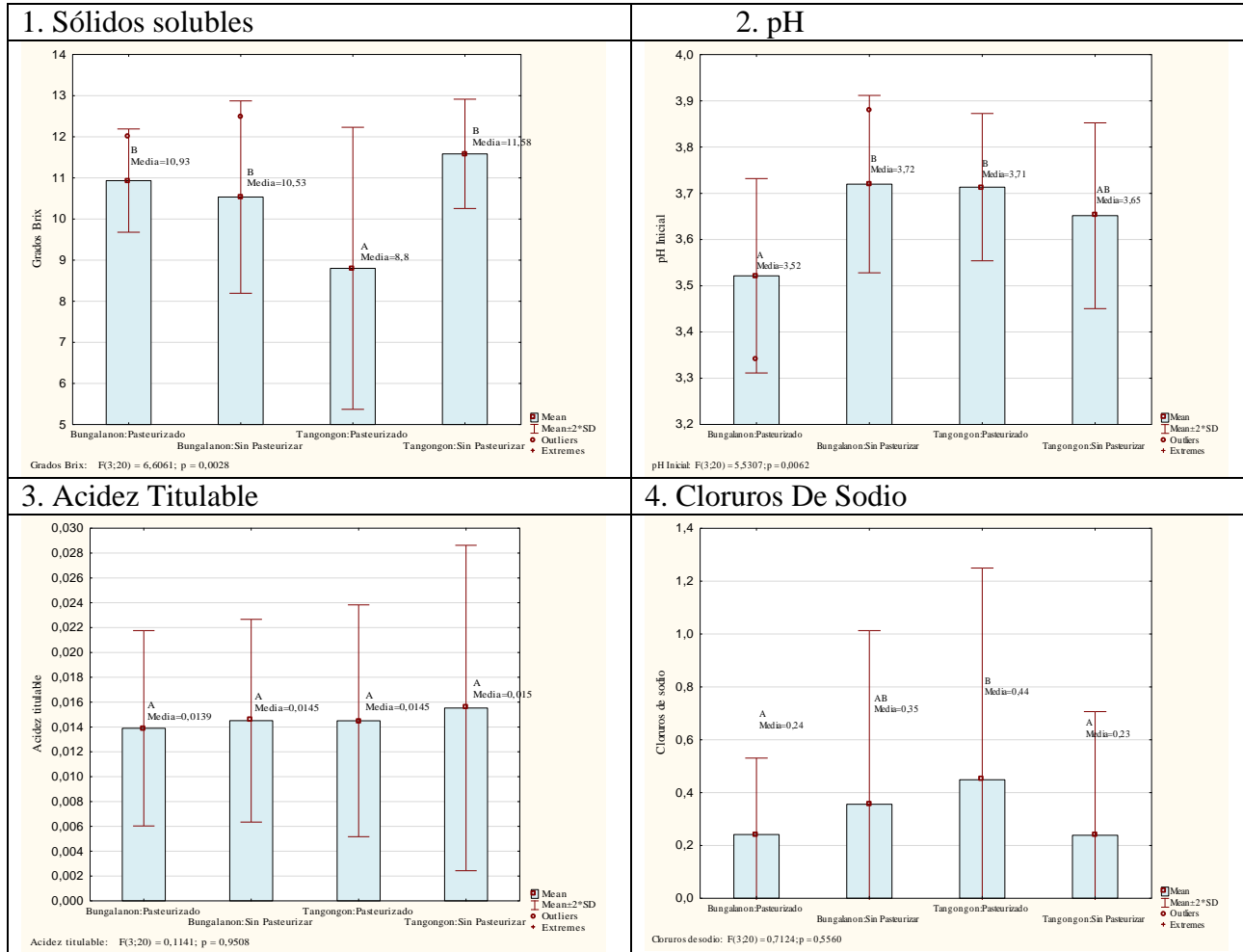
Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

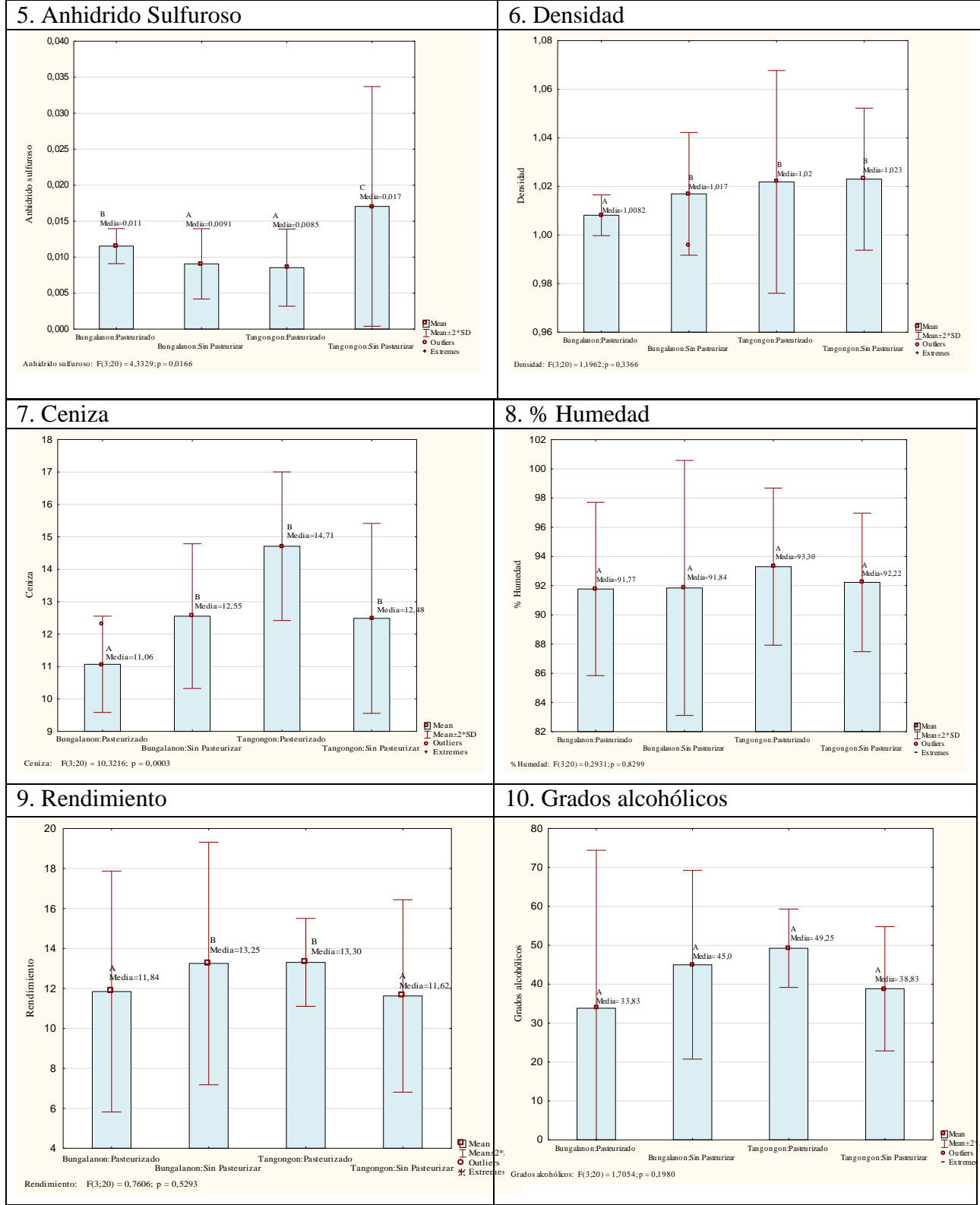
Figura 11. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a la interacción AxB (Variedad*Fermentativo).

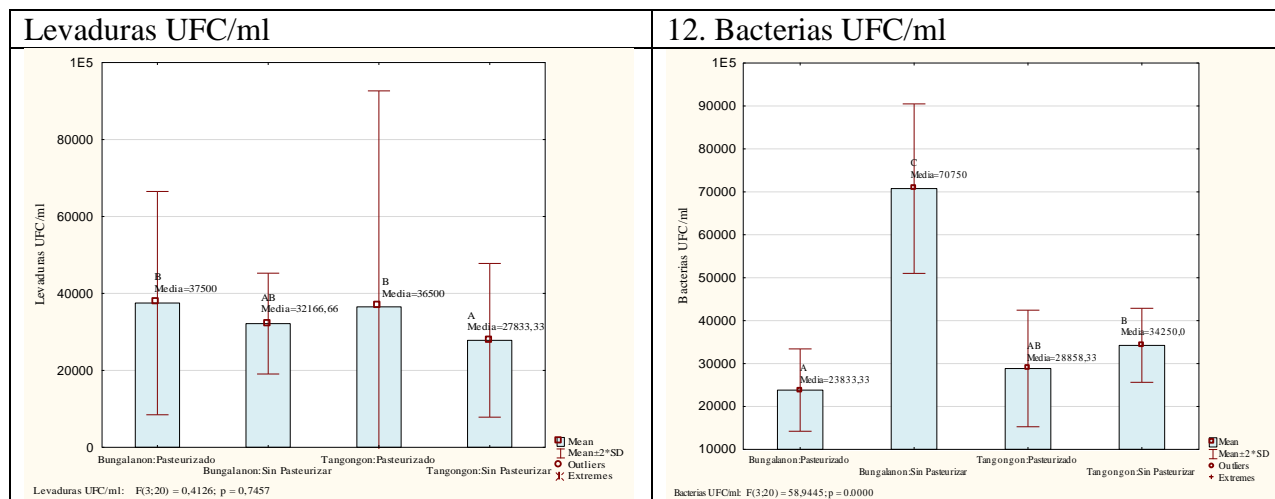
La Figura 11 muestra los valores de Tukey ($p < 0.05$). Se determinó diferencia significativa en: sólidos solubles ($^{\circ}$ brix), siendo el valor más alto en Bungalanon + Flora Natural (11,28) y el valor más bajo en Tangongon + Levadura (9,58); para la acidez el contenido más alto se presentó en Bungalanon + Levadura (0,0178) y el más bajo en Bungalanon + Flora Natural (0,010); para cloruro de sodio se evidencio un mayor contenido en Bungalanon + Flora Natural (0,512) y el menor valor en Bungalanon + Levadura (0,084); para anhídrido sulfuroso se reportó un valor máximo en Tangongon + Levadura (0,017) y el más bajo en Tangongon + Levadura (0,0079); para densidad se encontraron valores altos en Tangongon + Flora Natural (1,026) y el valor más bajo en Bungalanon + Levadura (1,0059); en la variable ceniza se encontró el valor más alto (14,67) en la combinación Tangongon + Levadura y valores más bajos en la combinación Bungalanon + Levadura (11,20); en la variable Humedad se encontró valores altos en la

interacción Bungalanon + Levadura (95,02%) y valores más bajos en Bungalanon + Flora Natural (88,59%), para la variable rendimiento se encontró valores más altos en Bungalanon + Levadura (15,28) y valores más bajos en Bungalanon + Flora Natural (9,81); en cuanto a Bacterias UFC/ml los valores más altos se presentaron en Bungalanon + Flora Natural (53166,66) y los más bajos en Tangongon + Flora Natural y + Tangongon + Levadura (32833,33 y 30275,00); en la variable Levaduras UFC/ml se observa los más altos en Tangongon + Levadura (49333,33) valores más bajos en Tangongon + Flora Natural (15000); y para la variable grados alcohólicos se observa los más altos en Bungalanon + Levadura (54,16) y valores más bajos en Bungalanon + Flora Natural (24,66). Mientras que para la variable pH no se presentó diferencia significativa entre los tratamientos.

Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de la interacción: Ax C (Variedad* Esterilización)







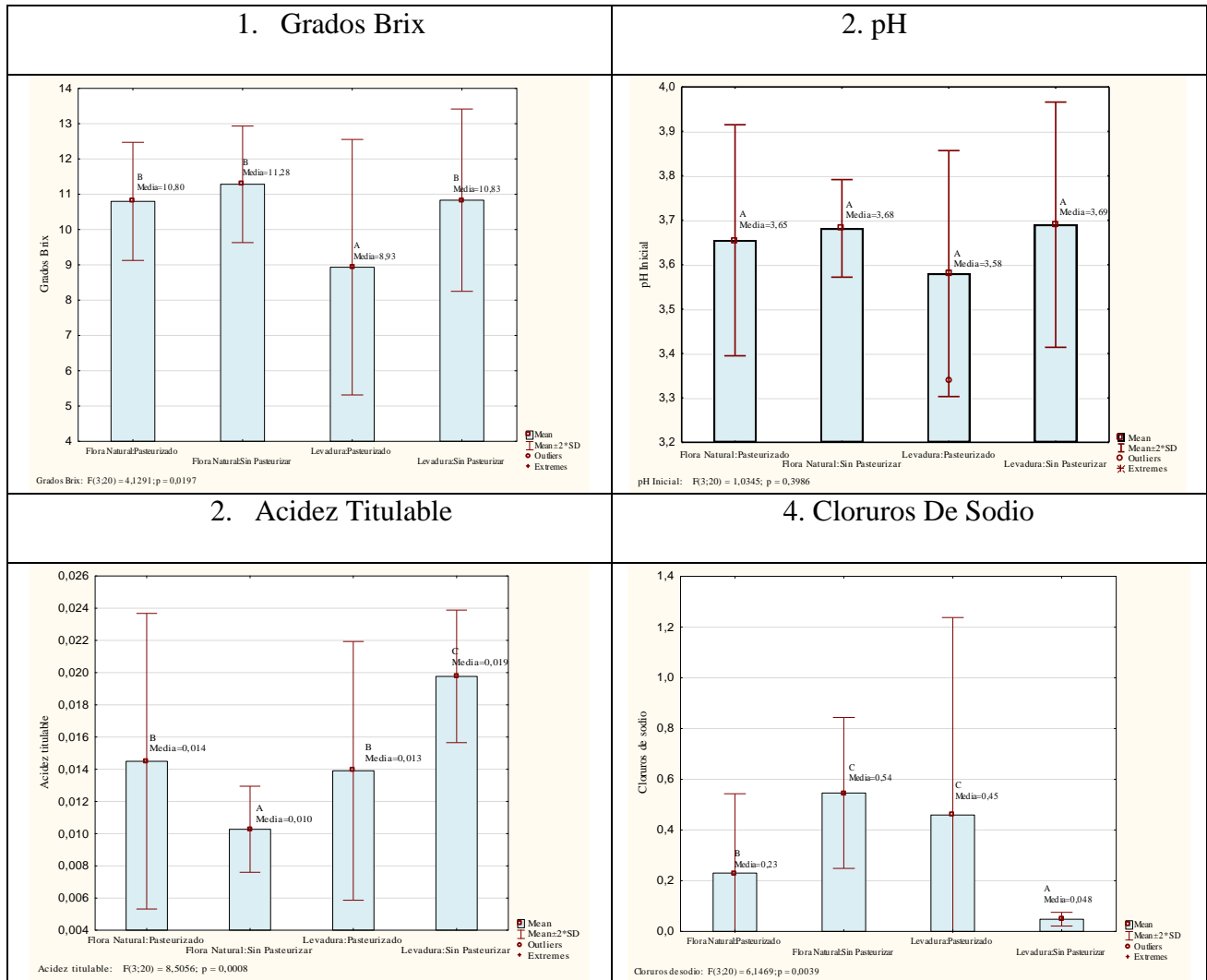
Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Figura 12. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a la interacción AxC (Variedad x Esterilización).

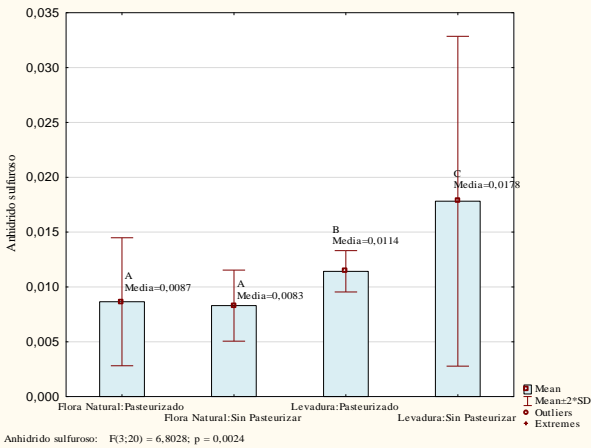
La Figura 12 muestra los valores de Tukey ($p < 0,05$). La interacción AxC para la variable sólidos solubles presentó el valor más alto Bungalanon + Pasteurizado (10,93), Bungalanon + Sin Pasteurizar (10,54) y Tangongon + Sin Pasteurizar (11,58) y la que presentó un valor menor fue la combinación de Tangongon + Pasteurizado (8,8). Para la variable pH el valor más alto fue Bungalanon + Sin Pasteurizar (3,72), Tangongon + Pasteurizado (3,71) Tangongon + sin pasteurizar (3,65) y un valor menor con Bungalanon + Pasteurizado (3,52). Para cloruros de sodio el valor más alto fue Tangongon + Pasteurizado (0,44) y el valor más bajo Tangongon + Sin Pasteurizar (0,23). La variable Anhídrido sulfuroso presentó diferencia significativa siendo la interacción más baja la combinación Tangongon + Pasteurizado (0,0085) y la interacción más alta fue Tangongon + Sin pasteurizar (0,017). La variable densidad presentó los valores más altos

en Bungalanon + Sin Pasteurizar (1,017), Tangongon + Pasteurizado (1,02) y Tangongon + Sin Pasteurizar (1,023), y el valor menor fue en Bungalanon + Pasteurizado (1,0082); en ceniza se encontró valores altos en Tangongon + Pasteurizado (14,71), en Bungalanon + Sin Pasteurizar (12,55) y Tangongon + Sin Pasteurizar (12,48) y los valores más bajos en Bungalanon + Pasteurizado (11,06); para la variable rendimiento se encontró valores más altos en Bungalanon + Sin Pasteurizar (13,25) y Tangongon + Pasteurizado (13,30), y valores más bajos en Tangongon + Sin Pasteurizar (11,62) y Bungalanon + Pasteurizado (11,84); en la variable Bacterias UFC/ml los valores más altos se presentaron en Bungalanon + Sin Pasteurizar (70750), Tangongon + sin Pasteurizar (34250), en y valores más bajos en Bungalanon + Pasteurizado (23833,33) y Tangongon + Pasteurizado (28858,33). Mientras que para las variables acidez titulable, humedad y grados alcohólicos no se presentó diferencia significativa entre las interacciones.

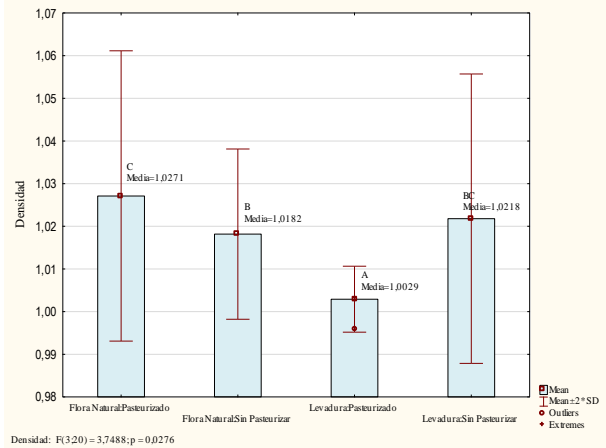
Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de la interacción: BxC (Fermentativo x Esterilización)



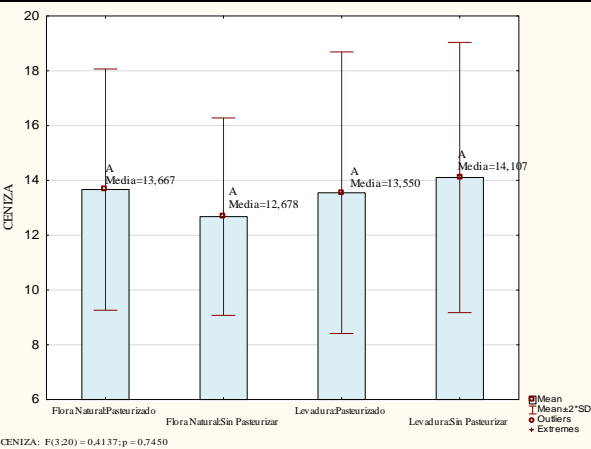
5. Anhidrido Sulfuroso



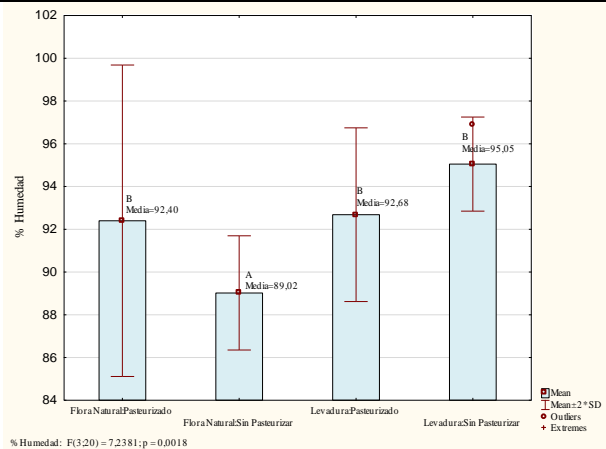
6. Densidad



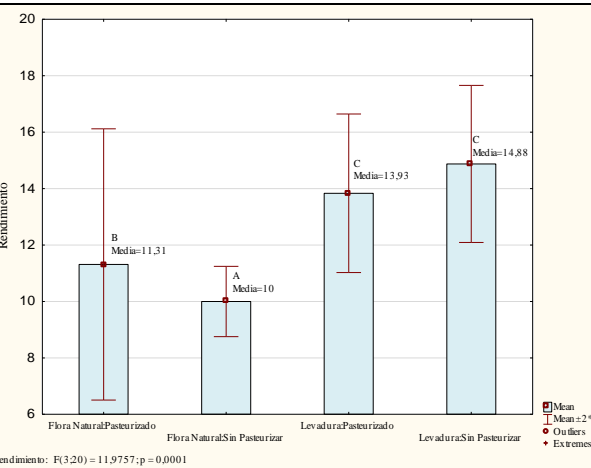
7. Ceniza



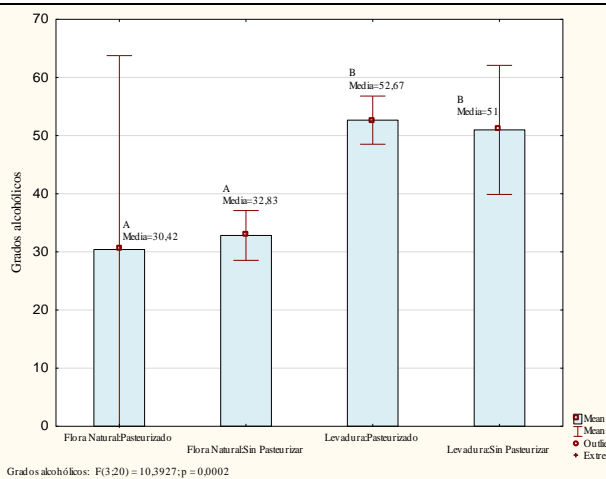
8. % Humedad

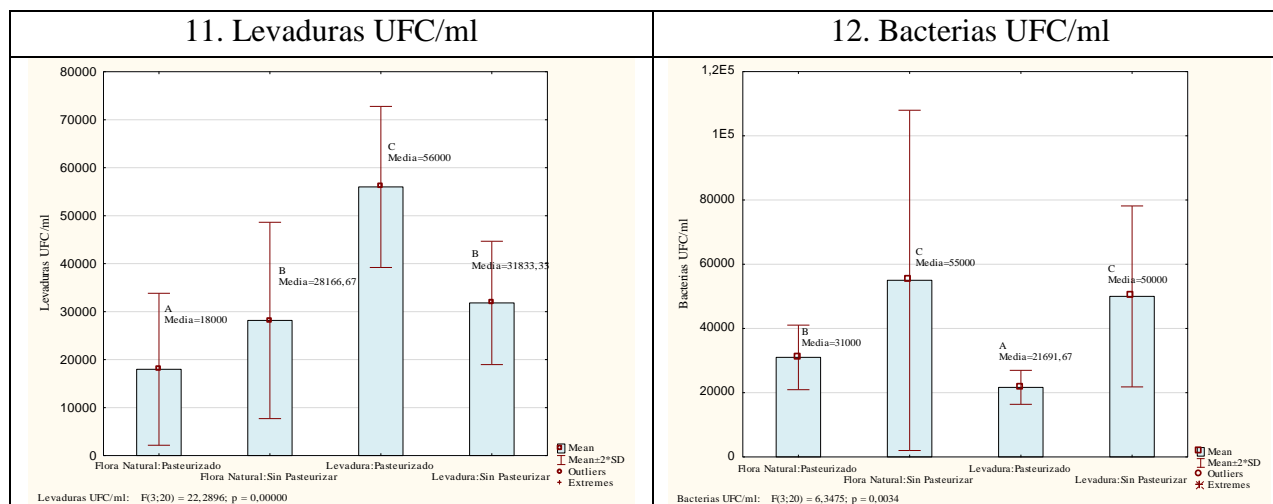


9. Rendimiento



10. Grados alcohólicos





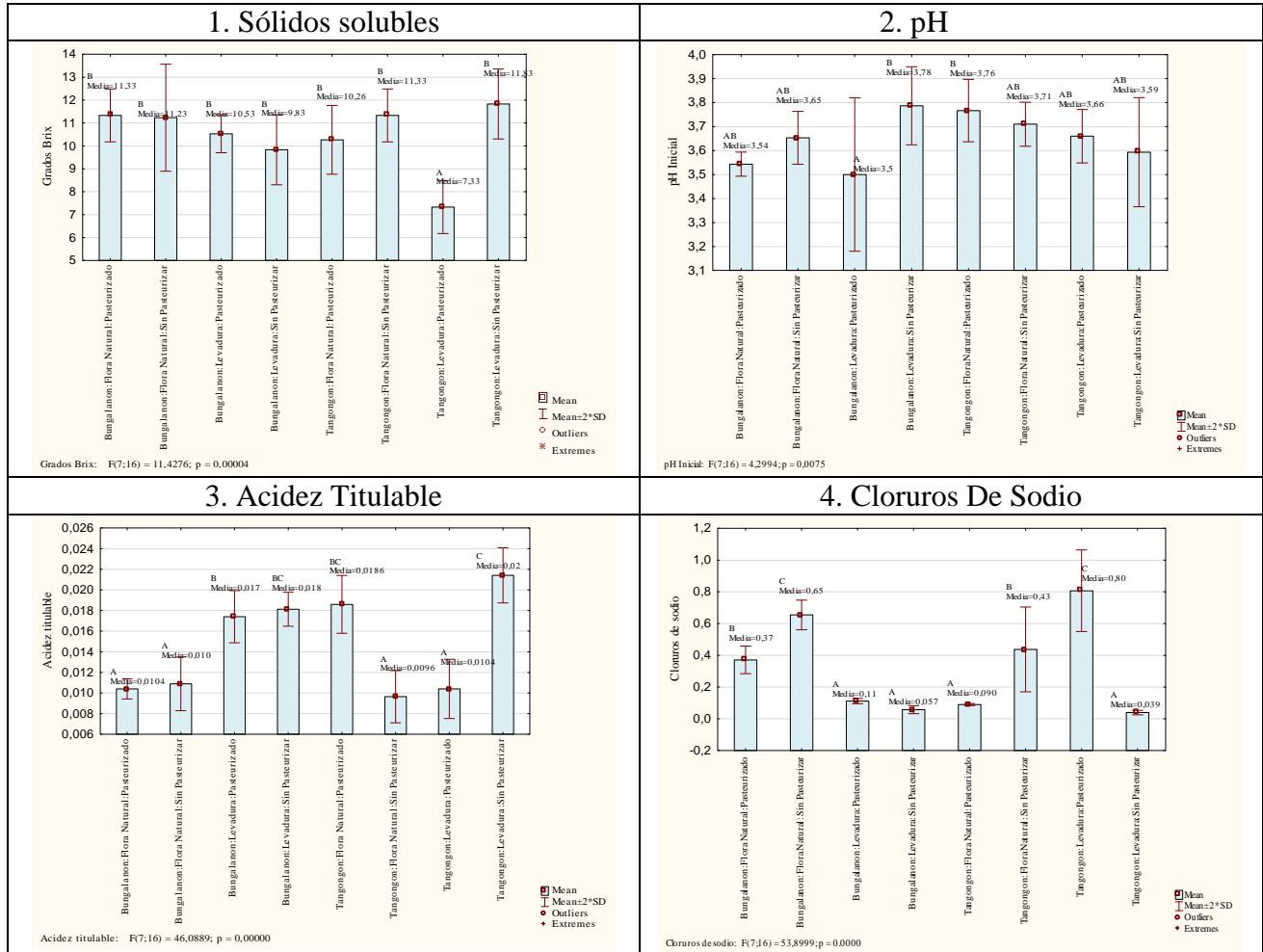
Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Figura 13. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a la interacción BxC (Fermentativo x Esterilización).

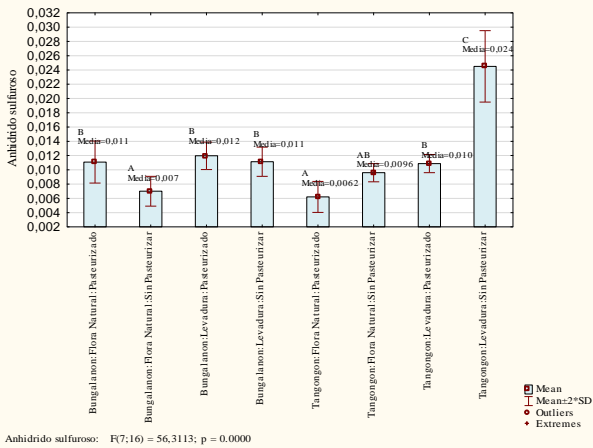
La Figura 13 muestra los valores de Tukey ($p < 0.05$). Se determinó diferencia significativa en: sólidos solubles siendo los valores más altos en Flora Natural+Sin Pasteurizar (11,28) y el más bajo en Levadura + Pasteurizado (8,93); para acidez titulable el mayor valor corresponde a Levadura+Sin Pasteurizar (0,019) y el menor corresponde a Flora Natural + Sin Pasteurizar (0,010); para cloruro de sodio más alto se presentó en Flora Natural+Sin Pasteurizar (0,54) y el valor más bajo en Levadura + Sin Pasteurizar (0,048); mientras que para anhídrido sulfuroso el mayor valor obtenido fue en Levadura+Sin Pasteurizar (0,0178) y el valor más bajo en Flora Natural + Sin Pasteurizar (0,0083); para densidad se evidencio mayor porcentaje en Flora Natural+Pasteurizado (1,0271) y el menor valor corresponde a Levadura + Pasteurizado (1,0029); en humedad se encontró valores altos en Levadura+Sin Pasteurizar, Levadura+Pasteurizado y

Flora Natural+Pasteurizado (95,05; 92,68 y 92,40) y valores más bajos en Flora Natural + Sin Pasteurizar (89,02), para la variable rendimiento se encontró valores más altos en Levadura+Sin Pasteurizar, Levadura+Pasteurizado (14,88 y 13,93) y valores más bajos en Flora Natural + Sin Pasteurizar (10); en cuanto a Bacterias UFC/ml los valores más altos se presentaron Flora Natural+Sin Pasteurizar y Levadura+Sin Pasteurizar (55000 y 50000) y los más bajos en Levadura + Pasteurizado (21691,67); en la variable levaduras UFC/ml se observa los más altos en Levadura+Pasteurizado (56000) valores más bajos en Flora Natural+Pasteurizado (18000); y para la variable grados alcohólicos se observa los más altos en Levadura+Pasteurizado y Levadura+Sin Pasteurizar (52,67 y 51) y valores más bajos en Flora Natural+Sin Pasteurizar y Flora Natural+Pasteurizado (32,83 y 30,42). Mientras que en la variable pH inicial y en la variable ceniza no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos.

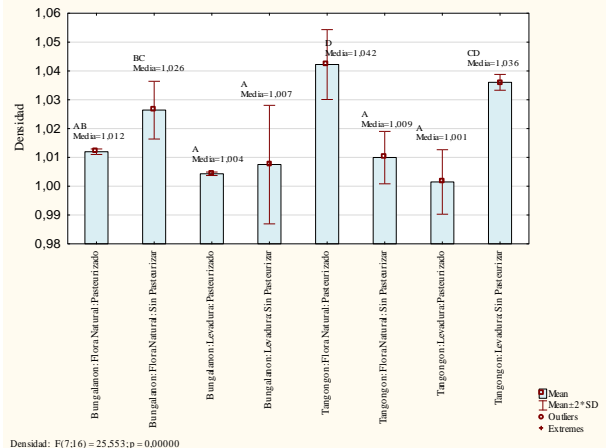
Resultados (Tukey $p < 0,05$) del estudio de la interacción: AxBxC (Variedades*Fermentación*Esterilización).



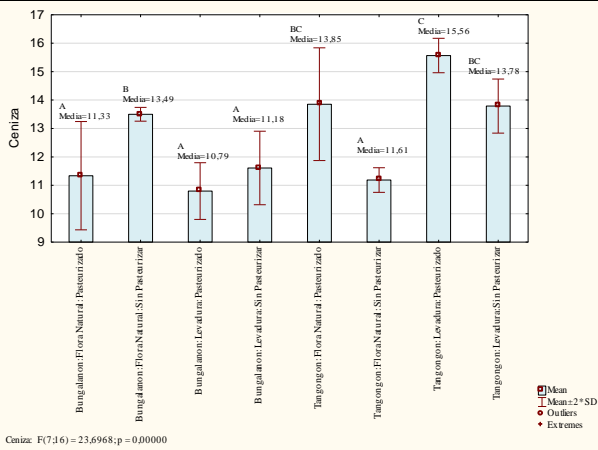
5. Anhidrido Sulfuroso



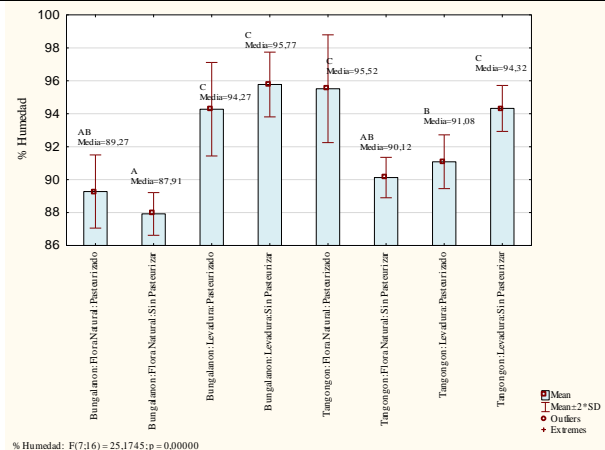
6. Densidad



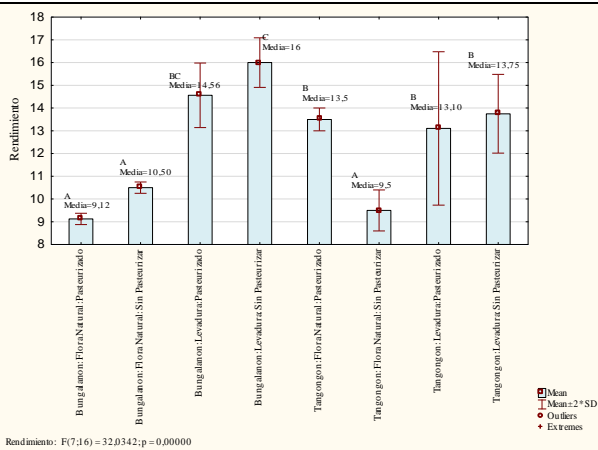
7. Ceniza



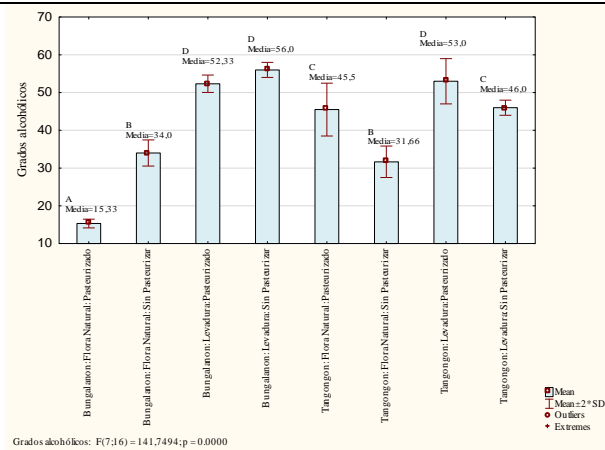
8. % Humedad

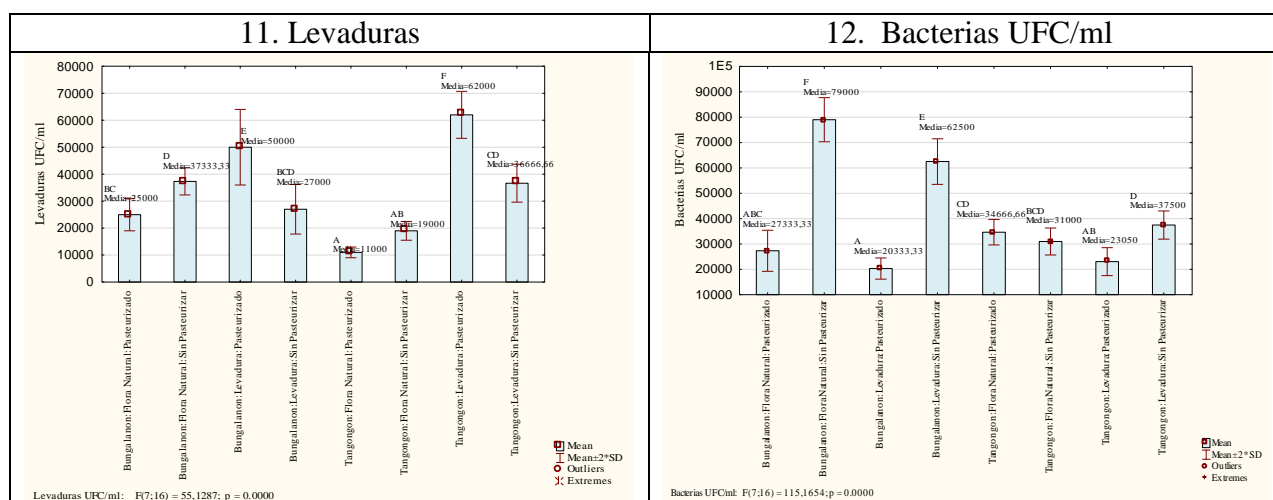


9. Rendimiento



10. Grados alcohólicos





Elaborado por: Álvarez, N y Guevara, D (2020)

Figura 14. Resumen de los resultados de las variables que tuvieron diferencia significativa en cuanto a la interacción AxBxC (Variedad x Fermentativo x Esterilización).

Como se observa en la figura 14 en el mucilago fermentado. En los sólidos solubles el tratamiento con un valor bajo 7,33° Brix fue en la combinación de Tangongon + Levadura + Pasteurizado y el valor más alto fue de 11,83° Brix con Tangongon + Levadura + Sin Pasteurizar; para la variable pH se encontró un valor bajo de 3.5 con Bungalanon + Levadura + Pasteurizado y un valor alto fue de 3.78 con Bungalanon + Levadura + Sin Pasteurizar; la acidez titulable se encontró un valor bajo de 0,0096 con Tangongon + Flora natural + Sin pasteurizar y el valor mayor de 0,02 con Tangongon + Levadura + Sin pasteurizar; en cloruros el valor menor fue de 0,039 con Tangongon + Levadura + Sin pasteurizar y el valor mayor fue de 0,80 con Tangongon + Levadura + Pasteurizado; para la variable anhídros sulfurosos se encontró un valor bajo de 0,0062 con Tangongon + Flora Natural + Pasteurizado y un valor mayor de 0,024 con Tangongon + Levadura + Sin pasteurizar; para la densidad se obtuvo un valor más bajo de 1,001

en la combinación Tangongon+ Levadura + Pasteurizado y un valor mayor fue de 1,042 con Tangongon + Flora Natural + Pasteurizado; para ceniza se evidenció un valor bajo de 10,79 en la combinación Bungalanon + Levadura + Pasteurizado y el mayor fue 15,56 con Tangongon + Levadura + Pasteurizado; en humedad se halló un valor bajo 87,91 con Bungalanon + Flora Natural + Sin Pasteurizar y un valor alto de 95,77 con Bungalanon + Levadura + Sin Pasteurizar; con respecto a rendimiento se evidenció un valor bajo de 9,12 con Bungalanon + Flora Natural + Pasteurizado y un valor alto de 16 con Bungalanon + Levadura + sin pasteurizar; para la variable Bacterias UFC/ml se encontró un valor bajo de 20333,33 con Bungalanon + Levadura + Pasteurizado y un valor alto de 79000 con Bungalanon + Flora Natural + Sin Pasteurizar; en levaduras UFC/ml se observa un valor bajo de 11000 con Tangongon + Flora Natural + Pasteurizado y un valor alto de 62000 con Tangongon + Levadura + Pasteurizado; y para la variable grados alcohólicos se observa un valor bajo de 15,33 con Bungalanon + Flora Natural + Pasteurizado y un valor alto de 56,00 con Bungalanon + Levadura + Sin Pasteurizar.

CAPÍTULO V

V. DISCUSIÓN

■ Características físico-químicas y microbiológicas del mucílago de abacá

Con respecto a las características físico-químicas del mucílago de abacá se evidenciaron valores altos de ceniza en Bungalanon (9,12%) y Tangongon (8,1%), en relación a los obtenidos por (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018) en el análisis físico-químico del mucílago de cacao Nacional (3,96) y CCN 51 (1,88), (Medina & Pagano , 2003) mencionan que el contenido de ceniza está asociado al contenido mineral y, en consecuencia, depende del manejo agronómico.

El alto contenido de humedad en el mucílago de abacá Bungalanon (96,8%) y Tangongon (98,1%), se debe a que la plantas de abacá, está conformada por agua aproximadamente un 90% (Waller & Wilsby, 2019).

Los microorganismos identificados en el mucílago de abacá en las dos variedades en estudio fue *Candida utilis* *Candida utilis* Lodder & Kreger-van, esto puede deberse al ambiente o medio en las que estas se desarrollan (Ferreira, 2009) menciona que como medios de cultivo para *Candida utilis* se han usado Hidrocarburos, desechos industriales tales como aguas residuales de las industrias de la celulosa, del café, almidón, procesamiento de alimentos y del papel, melaza de

la industria azucarera, residuos de la industria vinícola, desechos de la industria láctea, residuos de cáscara de cítricos, entre muchos otros.

Cinética de crecimiento

En cada uno de los medios preparados se inició el proceso de fermentación con 21 ° Brix (Figura 4) y este disminuía paulatinamente con el transcurso del tiempo. (Garzón & Hernandez Londoño, 2009) manifiestan que la cantidad de azúcares en el medio genera un limitante para el proceso fermentativo. Por ende, a medida que transcurre el tiempo, la cantidad de levaduras va aumentando progresivamente y va disminuyendo el contenido de azúcar (Aguilar, Espinoza, Ávila, & Garcia, 2015).

En cuanto al pH se inició con 4,8 este valor se encuentra en el rango (4 – 5) establecido para el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* (Fajardo & Sarmiento, 2007). En este rango óptimo, las levaduras tienen mayor velocidad de crecimiento y rendimiento (Aguilar, Espinoza, Ávila, & Garcia, 2015). En el proceso de fermentación, el pH tiende a disminuir debido a la producción de ácidos (Rios, 2005).

De las Variedades de abacá.

Con respecto a las variedades en estudio, se logró apreciar que el mucílago fermentado de abacá de ambas variedades no mostró diferencia significativa en la variable sólidos solubles siendo estos valores 10,73 °brix (Bungalanón) y 10,19 °brix (Tangongon), (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018) mencionan que el contenido de sólidos solubles en mucílago fermentado de cacao es 10,17° Brix.

La variable pH no mostró diferencia significativa con respecto al Factor A, siendo estos Bungalanon 3,62 y Tangongon 3,68 y dichos valores se asemejan a los obtenidos por (Tapia Medrano, 2016) 3,15 en el vino de manzana.

En cuanto a la acidez titulable en la variedad Bungalanon se obtuvo 0,014 g/L y en Tangongon 0,015 g/L estos valores se encuentran dentro de los parámetros de la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 374, 2015), que menciona que el máximo de acidez aceptable es de 1,5 g/L.

El contenido de ceniza obtenido en el mucílago fermentado de abacá en las dos variedades mostró diferencia significativa siendo estos en Tangongon 13,60% y Bungalanon 11,81%, dichos valores difieren de los obtenidos por (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018) ya que en el mucílago fermentado de cacao obtuvieron para la variedad Nacional 3,96% y 1,88% del cacao

CCN-51; dicha diferencia según (Medina & Pagano , 2003) se debe a que el contenido de ceniza está asociado al contenido mineral y, en consecuencia, depende del manejo agronómico.

La variable densidad relativa mostró diferencia significativa entre las variedades de abacá Bungalanon con 1,013 d₂₀ y Tangongon 1,022 d₂₀, sin embargo esto valores se encuentran dentro de los óptimos para Vinos de licor (moscatel): 1,0500-1,0700 d₂₀ (García Cazorla & Xirau Vayreda, 2000).

La variable anhídrido sulfuroso muestra diferencia significativa con respecto a las variedades, la variedad Tangonon 0,014 g/L y Bungalanon 0,010 g/L, sin embargo, dichos valores se encuentran dentro de los parámetros establecidos en la norma NTE INEN 374 en donde el máximo es 0,04 g/L ASL.

De los agentes de fermentación.

(De Borbón, Escudero, & Lucato, 2019), citan que, a mayor cantidad de sólidos solubles, incrementa la densidad del mosto, que en este caso fue de 1,02 d₂₀ para la flora natural y de 1,01 d₂₀ para la levadura, situación que se sustenta la cantidad de grados brix, obtenidos mediante la utilización de la flora natural (11,04) frente al uso de *Saccharomyces cerevisiae* (9,88). Sin embargo, (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018), manifestaron haber obtenido 9,08° Brix mediante la flora natural y 9,83° Brix, a través de la utilización de *Saccharomyces cerevisiae*, un panorama que es distinto a las nuestro, ya que según las autoras, los tratamientos en donde se experimentó con la flora natural, poseían una mayor diversidad en la microbiota del Fermentado del mucílago de cacao (*Hanseniaspora uvarum* y *Saccharomyces cerevisiae*), mientras que los tratamientos con levadura, existió un solo microorganismo (*Saccharomyces cerevisiae*).

Según (Poma, 2016), el pH de los mostos, se debe encontrar entre 3,5 a 4,0 rango, dentro del cual se encuentran los valores obtenidos, mediante el uso la levadura (3,64) y la flora natural (3,67); la flora del mosto, ejerce una presión de selección, donde se desarrollan estrictamente las levaduras de tipo fermentativo, lo que impide la proliferación de microorganismos no deseados.

(Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018), obtuvieron un pH de 3,80 en los tratamientos con flora natural y 3,78 con levadura, valores que no difieren sobre los nuestros e incluso, se encuentran dentro del rango, citado anteriormente.

La acidez titulable, permite obtener información de los ácidos libres, que actúan sobre el color e higiene del producto final. Al reducirse la acidez, la microbiología del Fermentado, se vulnera, de la misma manera, se reduce el aroma y brillo (Lara, 2015). En nuestra investigación, los valores obtenidos fueron de 0,02 y 0,01 para *S. cerevisiae* y flora natural, respectivamente; mientras que (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018), obtuvieron 1,22 con flora natural y 1,26 con levadura, no obstante, (Zoeklein, Fugelsang, Gump, & Fred, 2001), argumentan que la acidez fija varía en función de algunos factores como, la variedad, las prácticas culturales y las condiciones edafo-climáticas del cultivo, productor de materia prima para la fermentación.

El anhídrido sulfuroso libre, disminuye de manera gradual, debido a la oxidación, que lo transforma en sulfato; la fracción libre, es poseedora de un gran porcentaje de las propiedades de los vinos, siendo la más importante su acción antiséptica (Hidalgo, 2018), durante este estudio, los valores obtenidos fueron, 0,015 con la levadura y 0,008 con la flora natural.

Los cloruros de sodio por su parte, son los responsables de la salinidad en los vinos (Sonegheti, Pezzini, Silva, Ferraro, & Nascimento, 2015), durante esta investigación, se obtuvo 0,39 con la flora natural y 0,25 con la levadura.

(Lucero, 2015) manifestó que al reducirse los sólidos solubles, la cantidad de etanol incrementa, así como la concentración de CO₂; criterio que permitió determinar la eficacia de conversión a través de *Saccharomyces cerevisiae* en la fermentación alcohólica, ya que, en nuestro caso, los sólidos solubles se redujeron ampliamente comparado con la flora natural; sin embargo, al finalizar el estudio, se pudo notar la superioridad del uso de la levadura, donde se

obtuvieron 56 grados alcohólicos con un 16% de rendimiento, en cuanto a la producción de etanol. Dicho resultado se compara con la investigación realizada por (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018), durante la cual a través del uso de la flora natural durante la fermentación del mucílago de cacao, los grados alcohólicos fueron de 47,42 con un rendimiento del 18,03%, superior a la obtenida por nosotras, en la variable rendimiento.

(Polo, Ferrer, & Pardo, 2008), hallaron en vinos jóvenes antes de ser filtrados 0,12 – 1200 UFC/ml de levaduras y 700000 - 360000 UFC/ml de bacterias; valores que fueron menores a los obtenidos, ya que al finalizar la fermentación, se encontraron 43000 UFC/ml en el recuento bacteriano del tratamiento con flora natural, mientras que mediante el empleo de *S. cerevisiae*, se registraron 43916,67 UFC/ml de levaduras, valor que sobresalió de los rangos expuestos anteriormente.

Del acondicionamiento del mucílago (Pasteurización y sin pasteurización).

En cuanto a la variable sólidos solubles se logra evidenciar una diferencia significativa siendo así 9,87 °brix (pasteurizado) y 11,06 °brix (sin pasteurizar), (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018) también registran menor contenido de sólidos solubles en el vino pasteurizado (9,08 °brix) con respecto al sin pasteurizar.

El pH no muestra diferencia significativa en pasteurización 3,62 y sin pasteurizar 3,69; (Tenorio Sanz, y otros, 2014) mencionan que el pH en los vinos varía entre 3 a 4, el de un vino

blanco se encuentra aproximadamente entre 3,0-3., mientras que el de un vino tinto entre 3,3 y 3,6.

La variable cloruros (cloruro de sodio) no mostró diferencia significativa, los datos obtenidos 0,34 g/l (pasteurizado) y 0,30 g/l (sin pasteurizar) se encuentran dentro de los parámetros establecidos por la Norma Técnica Ecuatoriana (INEN 0374, 2015) en donde se acepta un máximo de 2 g/l; sin embargo en el Reglamento Bromatológico sobre bebidas alcohólicas fermentadas (Normativa y avisos legales de Uruguay, 1994) mencionan que el contenido de cloruros no debe superar los 0.5 g/l.

En la investigación se registra menor grados de alcohol en las muestras pasteurizadas (40,42), mientras que las muestras no pasteurizadas hay un leve incremento (41,33) (León & Jaimes Portilla, 2017) evidenciaron que la pasteurización afectó la producción de alcohol, debido al contenido de microorganismos contenidos en la fruta y el ambiente.

De las interacciones variedades + fermentativos (Interacción A*B)

En cuanto a la interacción de las variedades + fermentativos usados, se evidenció que Bungalanon+ Levadura y Tangongon +Levadura, tuvieron mayor consumo de grados brix (10,18 y 9,58), por ende, obtuvieron más grados alcohólicos (54,16 y 49,5) y mejor rendimiento (15,28 y 13,42). (Vázquez & Dacosta, 2007) mencionan que la fermentación alcohólica es una bioreacción

que permite degradar azúcares en alcohol y que la levadura principal responsable de esta transformación es *Saccharomyces cerevisiae*.

En acidez titulable , cloruros y anhídrido sulfuroso los valores obtenidos de cada interacción se encuentran dentro de los establecidos por la NTE (INEN 374, 2015) siendo el máximo de 1,5 g/l, 2g/l y 0,04 g/l, respectivamente.

De la interacción Variedad+ esterilización (Interacción A*C).

En la interacción Variedad+ esterilización, presentó mayor rendimiento de alcohol en Tangongon +Pasteurización (13,30) y Bungalanon +sin pasteurizar (13,25) (León & Jaimes Portilla, 2017), evidenciaron que en el mosto de mora la pasteurización afectó la producción de alcohol, debido al contenido de microorganismos contenidos en la fruta y el ambiente, limitando la tarea de fermentar únicamente a la cantidad de levadura añadida.

Las interacciones Bungalanon+ Pasteurización y Tangongon+ Pasteurización obtuvieron contenidos más altos de UFC/ml (37500 y 36500) y más bajos en Bacterias (23833,33 y 28858,33) (Carretero Casado, 2009) menciona que la estabilidad microbiológica de las bebidas alcohólicas puede aumentarse con distintos procedimientos: o acción del calor (pasteurización).

De la la interacción Fermentativos+ Esterilización (Interacción B*C).

Con respecto a la interacción Fermentativos+ Esterilización, se evidenció más grados alcohólicos en Levadura+ pasteurización (52,67) y Levadura+ sin pasteurizar (51,0). (Carretero Casado, 2009) manifiestan que con la esterilización no sólo mueren organismos indeseables, sino también levaduras vínicas y, sobre todo, bacterias necesarias para el desdoblamiento de los ácidos, sin embargo, las levaduras encargadas de la fermentación alcohólica (*Saccharomyces cerevisiae*) pueden incorporarse con facilidad (Vázquez & Dacosta, 2007).

Efecto de los factores Variedades + Fermentativos+ Esterilización + Pasteurizado (Interacción A*B*C).

El tratamiento con menor cantidad de grados alcohólicos fue el T1 (Bungalanon + Flora natural + Pasteurizado) sustentado por su rendimiento, que también fue menor con 9,12%; mientras que la producción más alta de etanol, se obtuvo con el T4 (Bungalanon + Levadura + Sin Pasteurizar) con 56 grados alcohólicos y con un rendimiento del 16%, siendo este el mayor de todos los datos recopilados; en este caso, los sólidos solubles se vieron reducidos a 9,83 grados brix. (Lucero, 2015), también manifiesta que, la producción de alcohol cesa, cuando los microorganismos son inactivados, debido a las concentraciones de etanol en el medio; razón que sustenta, dichos resultados.

En la investigación se registra menor grados de alcohol en las muestras pasteurizadas (40,42), mientras que las muestras no pasteurizadas hay un leve incremento (41,33) (León & Jaimes Portilla, 2017) evidenciaron que la pasteurización afectó la producción de alcohol, debido al contenido de microorganismos contenidos en la fruta y el ambiente limitando la tarea de fermentar únicamente a la cantidad de levadura añadida.

CAPÍTULO VI

VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones.

- Con respecto a las características físico-químicas del mucílago de abacá se evidenciaron valores altos de ceniza y esto se debe posiblemente a que el contenido de ceniza está asociado al contenido mineral y, en consecuencia, depende del manejo agronómico.
- Se encontró un alto contenido de humedad en el mucílago, en las dos variedades estudiadas, y esto se debe a que las plantas de abacá, está conformada por agua aproximadamente un 90% (Waller & Wilsby, 2019).
- El estudio microbiológico permitió identificar en las dos variedades en estudio: *Candida utilis* *Candida utilis* Lodder & Kreger-van, esto posiblemente al ambiente o medio en las que estas se desarrollan.
- En cuanto a la Cinética de crecimiento en cada uno de los medios preparados se notó una disminución de 1 ° Brix cada 24 horas, hasta llegar a la etapa de estacionaria a los 11 días con situándose en 9 ° Brix en el mosto pasteurizado mientras que en el no pasteurizado se situó en 109 ° Brix , en la etapa previo a la destilación.

- Con respecto a pH se inició con 4,8 este valor bajo hasta un rango (4 – 5) durante el periodo de fermentación, establecido para el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*.
- Con relación a las variedades en estudio, se logró apreciar que el mucílago fermentado de abacá de ambas variedades no mostró diferencia significativa en: sÓlidos solubles registrándose valores de 10,73 °brix (Bungalanón) y 10,19 °brix (Tangongon).
- En pH no se encontró diferencia significativa con respecto entre las dos variedades, y se registró valores en: Bungalanon 3,62 y Tangongon 3,68 valores similares a los obtenidos por (Tapia Medrano, 2016) 3,15 en el vino de manzana. En cuanto a la acidez titulable en la variedad Bungalanon se obtuvo 0,014 g/L y en Tangongon 0,015 g/L estos valores se encuentran dentro de los parámetros de la Norma Técnica Ecuatoriana.
- En ceniza las dos variedades mostraron diferencia significativa con valores (Tangongon 13,60% y Bungalanon 11,81%), dichos valores difieren de los en el mucilago fermentado de cacao Nacional y CCN-51; posiblemente debido debe al contenido de ceniza está asociado al contenido mineral.
- En densidad relativa existió diferencia significativa entre las variedades de abacá Bungalanon con 1,013 d₂₀ y Tangongon 1,022 d₂₀, y los valores se encontraron dentro de los óptimos para Vinos de licor (moscatel).
- El contenido de anhídrido sulfuroso mostro mayor contenido la variedad Tangonon 0,014 g/L frente a Bungalanon 0,010 g/L, estos valores, por debajo de (NTE INEN 374 en donde el máximo es 0,04 g/L ASL).

- Con respecto a ° brix, mediante la utilización de la flora natural se llegó a 11,04 frente a la aplicación de *Saccharomyces cerevisiae* (9,88). En pH de los mostos, se obtuvieron valores, mediante el uso la levadura (3,64) y la flora natural (3,67), estos dentro de parámetros normales (3,4-4,0).
- La acidez titulable, permite obtener información de los ácidos libres, que actúan sobre el color e higiene del producto final. Al reducirse la acidez, los valores fueron de 0,02 y 0,01 para *S. cerevisiae* y flora natural, respectivamente; valores por debajo de lo obtenido por (Vera Sigcha & Zambrano Mora, 2018), 1,22 con flora natural y 1,26 con levadura, esto posiblemente debido a factores como, la variedad, las prácticas culturales y las condiciones edafo-climáticas del cultivo, productor de materia prima para la fermentación.
- El anhídrido sulfuroso libre, los valores obtenidos fueron, 0,015 con la levadura y 0,008 con la flora natural. Mientras que los cloruros de sodio responsables de la salinidad en los vinos, durante esta investigación, se obtuvo valores de: 0,39 con la flora natural y 0,25 con la levadura. En cuanto a los sólidos solubles, estos se redujeron considerablemente, comparado con la flora natural; sin embargo, al finalizar el estudio, se pudo notar la superioridad del uso de la levadura, donde se obtuvieron 56 grados alcohólicos con un 16% de rendimiento, en cuanto a la producción de etanol.
- Se encontraron 43000 UFC/ml en el recuento bacteriano del tratamiento con flora natural, mientras que mediante de *S. cerevisiae*, 43916,67 UFC/ml de levaduras, valor

que sobresalió de los rangos en vinos jóvenes antes de ser filtrados 0,12 – 1200 UFC/ml de levaduras y 700000 - 360000 UFC/ml de bacterias.

- En sólidos solubles se evidencio diferencia significativa: 9,87 °brix (pasteurizado) y 11,06 °brix (sin pasteurizar). El pH no mostro diferencia significativa en pasteurización 3,62 y sin pasteurizar 3,69; y los valores se situaron dentro de los que reporto: (Tenorio Sanz, y otros, 2014) que va entre 3 a 4, el de un vino blanco, mientras que el de un vino tinto entre 3,3 y 3,6.
- Con respecto a cloruros: no existió diferencia entre los dos mostos, y se pudo determinar valores de: 0,34 g/l (pasteurizado) y 0,30 g/l (sin pasteurizar) parámetros establecidos dentro Norma (INEN 0374, 2015) .
- Con respecto a grados de alcohol se reportaron valores en muestras pasteurizadas (40,42), y en no pasteurizadas, un leve incremento (41,33).
- En cuanto a l efecto de las variedades en los fermentativos usados, se evidenció que Bungalanon+ Levadura y Tangongon +Levadura, tuvieron mayor consumo de grados brix (10,18 y 9,58), por ende, obtuvieron más grados alcohólicos (54,16 y 49,5) y mejor rendimiento (15,28 y 13,42). En acidez titulable, cloruros y anhídrido sulfuroso los valores obtenidos de cada interacción se encuentran dentro de los establecidos por la NTE (INEN 374, 2015) .

- Respecto al efecto ejercido por las Variedades en el proceso de esterilización, presentó mayor rendimiento de alcohol en Tangongon +Pasteurización (13,30) y Bungalanon +sin pasteurizar (13,25). Las interacciones Bungalanon+ Pasteurización y Tangongon+ Pasteurización obtuvieron contenidos más altos de UFC/ml (37500 y 36500) y más bajos en Bacterias (23833,33 y 28858,33).
- Con respecto al efecto de los agentes Fermentativos en la Esterilización, se evidenció más grados alcohólicos en Levadura+ pasteurización (52,67) y Levadura+ sin pasteurizar (51,0).
- Co relación al efecto de las variedades en fermentativos y acondicionamiento del mosto, el tratamiento con menor cantidad de grados alcohólicos fue el T1 (Bungalanon + Flora natural + Pasteurizado) sustentado por su rendimiento, que también fue menor con 9,12%; mientras que la producción más alta de etanol, se obtuvo con el T4 (Bungalanon + Levadura + Sin Pasteurizar) con 56 grados alcohólicos y con un rendimiento del 16%, siendo este el mayor de todos los datos recopilados; en este caso, los sólidos solubles se vieron reducidos a 9,83 grados brix.
- Tambien se registró, menor grados de alcohol en las muestras pasteurizadas (40,42), frente a las muestras no pasteurizadas (41,33) posiblemente, debido al contenido de microorganismos contenidos en el producto y el ambiente, limitando la tarea de fermentar únicamente a la cantidad de levadura añadida.

Recomendaciones

- De acuerdo con los datos obtenidos con respecto a las variedades, se recomienda la variedad Bungalanon ya que alcanzó más grados alcohólicos y mejor un rendimiento.
- Para garantizar la seguridad y prolongar la vida útil del producto fermentado se recomienda pasteurizar el mucilago, a fin de poder controlar la fermentación.
- Se necesita implementar accesorios para las extractoras de fibra de abacá, que permita la recolección del mucilago sin contaminarse, ya que al ser el mucilago, un derivado sin valor comercial para los productores, no cuenta con las condiciones necesarias de recolección.
- Es importante, mantener la temperatura de destilación controlada (60 grados centígrados), para evitar la humedad del alcohol, ya que esta disminuye la pureza del alcohol etílico, y además disminuir el riesgo de presencia de metanol.
- Para la industria orientada a la producción de alcohol etílico a partir del mucílago de abacá, se recomienda utilizar levaduras, sin pasteurización, para mejorar el rendimiento,

además es importante viabilizar la creación de microorganismos especializados en la transformación de sólidos de abacá, esto mediante la replicación del medio y purificación de la levadura, a fin de tener un producto seguro y de buen rendimiento.

- Con respecto al contenido de metanol, al determinarse negativo (test de prueba cualitativa), se recomienda este producto para uso alimentario o consumo humano a su vez.
- Considerando que el estudio no es concluyente en varios aspectos es recomendable emprender nuevas investigaciones puntuales, que permitan establecer aspectos de manejo a fin de recolectar el mucilago y mantener la línea de frío para que no sufra variaciones que podrían afectar al producto final.
- Debe establecerse estudios económicos a fin de establecer la posibilidad mediante un plan de negocios emprender la producción de etanol a partir del mucilago de abacá, combinando con algún subproducto agroindustrial que permita incrementar sólidos solubles, esto podría ser mucilago de cacao.

Bibliografía

- INEN 374. (2015). BEBIDAS ALCOHOLICAS. VINO DE FRUTAS. REQUISITOS. 3. Quito, Ecuador: Norma Técnica Ecuatoriana.
- Aguilar, K. (2016). *ISSUU*. Obtenido de https://issuu.com/kattheriineaguilar/docs/pruebas_de_identificacion_del__meta
- AOAC 920.105. (1990). *Determinación de proteínas. Método de Khejdal*. Obtenido de <http://www.youblisher.com/p/1123224-AOAC-920-105-Analisis-de-Proteinas/>
- AOAC 996.06. (1990). Determinación del contenido de grasa total en un alimento.
- Boguero, A., Parducho, M., Mendoza, M., Abustan, M., & Lalusin, A. (2016). Molecular Screening of Abaca (*Musa textilis* L. Nee) Accessions Using Microsatellite Markers Associated with Resistance to Bunchy Top Virus. *Philippine Journal of Crop Science*, 13-19.
- Bonifaz, R. (2014). *Estudio microbiológico de la flora oral en neonatos mediante parto vaginal en el Hospital Provincial Docente de Riobamba, en el período Mayo-Octubre del año 2013*. Riobamba: Universidad Nacional de Chimborazo.
- Carretero Casado, F. (2009). Proceso de fermentación de bebidas alcohólicas. Barcelona: Universidad Politecnica de Catalunya. Obtenido de <https://upcommons.upc.edu/>
- Castillo, L. (2011). *Proyecto de factibilidad de exportación de fibra de abacá a Inglaterra en el período 2011 - 2020*. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial.
- Cortés, A., Díaz, M., & Salgado, M. (2018). Bioconsevación, alimentos y pescado. *Agro productividad*, 11-16.
- De Borbón, L., Escudero, L., & Lucato, L. (2019). *Biblioteca digital de la Universidad Nacional de Cuyo*. Obtenido de https://bdigital.uncuyo.edu.ar/objetos_digitales/13773/zona-este.pdf
- DerMarderosian, A., & Beutler, J. (2014). The review of natural products. *Journal of Consumer Health on the Internet*, 291-292.
- Díaz, M., Kellingray, L., & Narbad, A. (25 de Septiembre de 2019). Comparison of the microbial composition of African fermented foods using amplicon sequencing. *Scientific Reports*. Obtenido de <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2018.01785/full>
- Escartin, A. (Septiembre de 2017). *Repositorio: Universidad Veracruzana*. Recuperado el 30 de Enero de 2019, de <https://www.uv.mx/mca/files/2018/01/Escartin-Torres-Alejandra.pdf>

- Fernández, A., & Colom, K. (2014). *Bacterias y Salud: La importancia de conocerlas y controlar su crecimiento*. Baliabideak.
- Fernández, L. (2013). *Determinación del tiempo de crecimiento exponencial de la levadura Saccharomyces carlsbergensis, en tanques verticales cilindro cónicos, en la fase de fermentación del proceso de elaboración de cerveza pilsener, Cervecería Nacional S.A. planta Quito*. Quito: Universidad Tecnológica Equinoccial.
- Ferreira, L. (2009). Modelagem de crescimento celular e consumo de dióxido de carbono por cianobacterias cultivadas em fotobiorreactores. . Brasil: UNICAMP.
- Flores, A., Gonzáles, V., Aguilar, C., & Rodríguez, R. (Agosto de 2014). Recuperado el 19 de Enero de 2019, de https://www.researchgate.net/publication/264442301_Cinetica_microbiana_de_microorganismos_biofertilizantes
- García Cazorla, J., & Xirau Vayreda, M. (2000). Manual enología . *Técnicas usuales de análisis en enología*. España: PANREAC QUIMICA, S.A.
- Hernández, C. (2017). *Obtención de bioetanol a partir de hidrolizados de residuos de fruta*. Oviedo: Universidad de Oviedo.
- Hidalgo, J. (2018). *Tratado de enología*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.
- INEN 0374. (2015). *NTE INEN 0374: Bebidas alcohólicas. Vino de frutas. Requisitos*. Obtenido de <https://archive.org/details/ec.nte.0374.1987/page/n3>
- INEN 0381. (1986). *Determinación de acidez titulable. Método potenciométrico dereferencia*. Quito: Instituto Ecuatoriano de Normalización. Obtenido de <https://studylib.es/doc/6465588/nte-inen-0381--conservas-vegetales.-determinaci%C3%B3n-de>
- INEN 340. (1994). BEBIDAS ALCOHÓLICAS. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ALCOHOL ETÍLICO. MÉTODO DEL ALCOHOLÍMETRO DE VIDRIO. Quito, Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- INEN 348. (1978). Determinación de ceniza. Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- INEN 353. (1978). Bebidas alcohólicas. Determinación de cloruros en vino. Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- INEN 357. (1978). Bebidas alcohólicas. Determinación de anhídrido sulfuroso libre . Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- INEN 389. (1986). Determinación de la concentración del Ión Hidrógeno. Norma Ecuatoriana.

- INEN 391. (1986). Determinación de la densidad relativa. Ecuador: Instituto Ecuatoriano de Normalización.
- Irmak, S. (22 de Febrero de 2017). *Intechopen*. Recuperado el 1 de Diciembre de 2019, de <https://www.intechopen.com/books/biomass-volume-estimation-and-valorization-for-energy/biomass-as-raw-material-for-production-of-high-value-products>
- Lagunas, S., & Vega, L. (2013). *MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y MICOLOGÍA*. México: Subdirección Académica. Obtenido de http://veterinaria.uaemex.mx/_docs/607_970_MP%20Bacteriolog%C3%ADa%20y%20Micol%C3%ADa.pdf
- Lara, A. (2015). *Acidificación de mostos mediante las técnicas tradicional y de resinas de intercambio catiónico. Efectos en la calidad de vinos rosados y tintos*. Universidad de La Rioja.
- León , M., & Jaimes Portilla, J. (2017). Efecto de la pasteurización y la temperatura de incubación en la fermentación alcohólica del mosto de mora. Colombia: Universidad de Pamplona, Facultad de Ingenierías y Arquitectura. Programa Ingeniería de Alimentos.
- Lucero, P. (2015). *Efecto del uso de levaduras y concentración de °Brix en las características fisicoquímicas y sensoriales de vino de fresa con miel*. Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano.
- Medina, M., & Pagano , F. (2003). Caracterización de la pulpa de guayaba (*Psidium guajava* L.) tipo “Criolla Roja”. Caracas: Universidad Central de Venezuela.
- Moyano, Á., & Quisingo, O. (2015). *Realizar el diseño y construcción de un fermentador para producción de alcohol a partir de la remolacha*. Riobamba: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Normativa y avisos legales de Uruguay. (1994). Bebidas alcohólicas fermentadas. *Vinos. Definición para vinos*. Reglamento Bromatológico Nacional.
- Olmos, A., Fuentes, C., Nieto, J., & Ramos, S. (2010). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. España: EIMC. Obtenido de <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>
- Parker, R. (30 de Agosto de 2019). *Market Expert24*. Obtenido de <https://www.marketexpert24.com/2019/08/30/philippines-abaca-fiber-market-projected-to-witness-vigorous-expansion-by-2019-2027-leading-vendors-like-ching-bee-trading-corporation-tag-fibers-and-selinrail-international-and-manila-province/>

- Polo, L., Ferrer, S., & Pardo, I. (2008). Eficacia de la microfiltración en la elaboración de vinos embotellados. *Revista de enología*.
- Poma, P. (2016). *Efecto de tres niveles de concentración de levadura Saccharomyces cerevisiae cepa CH 158 SIHA en la fermentación del zumo de aguaymanto (Physalis peruviana L.)*. Huancayo: Universidad Nacional del Centro del Perú.
- Ponce, J. (2015). *Producción de Fibra de Abacá (Musa textilis) con Abonadura Orgánica*. Quevedo: Universidad Estatal de Quevedo.
- Pontón, P. (2009). *Estudio del efecto de encolado de fibra de abacá en el mejoramiento de su capacidad de tisaje*. Quito: Escuela Politécnica Nacional.
- Rezac, S., Kok, C., Heermann, M., & Hutkins, R. (2018). Fermented Foods as a Dietary Source of Live Organisms. *Frontiers in Microbiology*.
- Rocha, G. (2016). *Estrategias comerciales para la exportación de la fibra de abacá al mercado del Reino Unido*. Guayaquil: Universidad de Guayaquil.
- Salomone, R., & Saija, G. (2014). *Pathways to Environmental Sustainability*. Switzerland: Springer International Publishing.
- Sarigh, S., Lubis, R., Wirjosentono, B., & Eddyanto. (2018). Characteristic of Abaca (Musa textilis) Fiber from Aceh Timur as Bioplastic. *AIP Conference Proceedings*.
- Sonegheti, M., Pezzini, A., Silva, E., Ferraro, M., & Nascimento, A. (2015). Chloride concentration in red wines: influence of terroir and grape type. *Food Science and Technology*.
- Suvarna, A., Katagi, A., Pasanna, J., Kumar, S., Badyankal, P., Vasudeva, S., & Bennehalli, B. (2015). Mechanical Properties of Abaca Fiber Reinforced Urea Formaldehyde Composites. *Material Science Research India*, 12(1).
- Tapia Medrano, K. L. (2016). Estudio de vino de manzana variedad Emilia (Malus communis-Reineta Amarilla de Blenheim) a diferentes concentraciones de frutas y grados de dulzor. Ambato, Ecuador: Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera de Ingeniería en Alimentos.
- Tenorio Sanz, M., Aparicio Cediell, I. M., Pádena León, J. M., García, M., Perez, M., Redondo, A., . . . Zapata, M. (2014). El vino y su análisis. España: Departamento de Nutrición y Bromatología II. Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid.
- Vallejo Torres, C. A., Díaz Ocampo, R., Morales Rodríguez, W., Soria Velasco, R., Vera Chang, J. F., & Baren Cedeño, C. (2016). *Utilización del mucílago de cacao, tipo nacional y trinitario, en la obtención de jalea*. Quevedo: Revista ESPAMCIENCIA. Obtenido de

<https://docplayer.es/41409903-Utilizacion-del-mucilago-de-cacao-tipo-nacional-y-trinitario-en-la-obtencion-de-jalea.html?fbclid=IwAR1EcAUU9SPk2f3dT4Y3pFdms8cRCvI10mMLHBnpmwFp6YU0RRg51WnZ1GM>

- Vázquez, H., & Dacosta, O. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. México: Departamento de Sistemas, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Azcapotzalco. Obtenido de <http://www.scielo.org>
- Vera Sigcha, C. S., & Zambrano Mora, A. I. (18 de 12 de 2018). Evaluación de las características del mucílago de cacao (*Theobroma cacao* L.) en la obtención de alcohol etílico. Santo Domingo, Ecuador.
- Waller, V., & Wilsby, A. (2019). *Abaca in the Philippines*. Stockholm.
- Yousef, A., & Carlstrom, C. (2003). *Microbiología de los Alimentos: Manual de laboratorio*. Zaragoza-España.: Acribia, SA.
- Zambrano, D. (2015). *La organización logística para la exportación de fibra de abacá por la empresa Furukawa plantaciones*. Guayaquil: Universidad de Guayaquil.
- Zoeklein, B., Fugelsang, K., Gump, B., & Fred, S. (2001). *Análisis y producción de vino*. . Zaragoza: Ed. Acribia.