



Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), marzo-abril 2026,
Volumen 10, Número 2.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v10i2

EVALUACIÓN DEL MUCÍLAGO DE THEOBROMA CACAO L. EN LA ELABORACIÓN DE CERVEZA ARTESANAL: INFLUENCIA DEL PROCESO OXIDATIVO DE LOS AZÚCARES UTILIZANDO DOS TIPOS DE AGUA

**EVALUATION OF THEOBROMA CACAO L. MUCILAGE
IN THE PRODUCTION OF ARTISANAL BEER: INFLUENCE
OF THE OXIDATIVE PROCESS OF SUGARS USING
TWO TYPES OF WATER**

Jonathan Steven Párraga Maquilon

Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador

Jefferson Marcelo Párraga Maquilon

Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador

Cinthy Elizabeth Zapata Zambrano

Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador

Karina Margoth De La Cruz Vichicela

Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador

Erick Antonio Caballero Noboa

Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Ecuador

Evaluación del mucílago de *Theobroma Cacao* L. en la Elaboración de Cerveza Artesanal: Influencia del Proceso Oxidativo de los Azúcares Utilizando dos Tipos de Agua

Jonathan Steven Párraga Maquilon¹

jonathan.parraga2016@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-1516-3537>

Facultad de Posgrado, Estudiante de Maestría en
Biotecnología Agropecuaria
Universidad Técnica Estatal de Quevedo
Ecuador

Jefferson Marcelo Párraga Maquilon

Jefferson.parraga2015@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0009-0005-4828-4190>

Facultad de Posgrado, Estudiante de Maestría en
Biotecnología Agropecuaria
Universidad Técnica Estatal de Quevedo
Ecuador

Cinthya Elizabeth Zapata Zambrano

cinthya.zapata2015@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0001-5975-549X>

Facultad de Posgrado, Estudiante de Maestría en
Biotecnología Agropecuaria
Universidad Técnica Estatal de Quevedo
Ecuador

Karina Margoth De La Cruz Vichicela

karina.delacruz2015@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0001-6457-7069>

Facultad de Posgrado, Estudiante de Maestría en
Biotecnología Agropecuaria
Universidad Técnica Estatal de Quevedo
Ecuador

Erick Antonio Caballero Noboa

erick.callero2016@uteq.edu.ec

<https://orcid.org/0000-0002-8937-3465>

Ingeniero agroindustrial Universidad Técnica
Estatal de Quevedo
Ecuador

RESUMEN

El mucílago de cacao es un subproducto del procesamiento del fruto que posee una composición rica en azúcares fermentables, agua, pectinas y sales minerales. Estas características lo convierten en un sustrato adecuado para el desarrollo de microorganismos, generando condiciones favorables para los procesos fermentativos en los que participan levaduras como *saccharomyces cerevisiae*. Debido a su potencial como fuente natural de nutrientes y microorganismos, el mucílago puede ser aprovechado en la elaboración de bebidas fermentadas, como la cerveza artesanal, aportando compuestos que influyen en la fermentación y en las características finales del producto. El objetivo del estudio fue analizar el efecto de la incorporación de mucílago de cacao y de dos tipos de agua, dura y blanda, sobre las propiedades microbiológicas y sensoriales de cervezas artesanales de estilo American Pale Ale e Irish Red Ale. Se aplicó un diseño experimental AxBxC, donde el factor A correspondió al tipo de agua, el factor B a la concentración de mucílago, veinte y treinta por ciento, y el factor C al estilo de cerveza empleado. Se realizaron análisis microbiológicos para determinar la presencia y comportamiento de microorganismos, así como evaluaciones sensoriales de aroma, apariencia, sabor y sensación en boca. Además, se efectuó un análisis molecular para identificar las levaduras presentes. Los resultados evidenciaron que el mucílago favorece la fermentación y mejora la calidad, constituyendo una alternativa innovadora y natural. Asimismo, se observaron diferencias significativas asociadas al tipo de agua y a la concentración empleada, lo que influyó en la aceptación del producto final general.

Palabras claves: *pichia manshurica*, fermentación, irish red ale, english pale ale, identificación molecular

¹ Autor principal

Correspondencia: jonathan.parraga2016@uteq.edu.ec

Evaluation of Theobroma Cacao L. Mucilage in the Production of Artisanal Beer: Influence of the Oxidative Process of Sugars Using two Types of Water

ABSTRACT

Cocoa mucilage is a byproduct of fruit processing that is rich in fermentable sugars, water, pectins, and mineral salts. These characteristics make it a suitable substrate for microbial growth, creating favorable conditions for fermentation processes involving yeasts such as *Saccharomyces cerevisiae*. Due to its potential as a natural source of nutrients and microorganisms, the mucilage can be utilized in the production of fermented beverages, such as craft beer, contributing compounds that influence fermentation and the final characteristics of the product. The objective of the study was to analyze the effect of incorporating cocoa mucilage and two types of water—hard and soft—on the microbiological and sensory properties of craft beers in the American Pale Ale and Irish Red Ale styles. An AxBxC experimental design was applied, where factor A corresponded to the type of water, factor B to the mucilage concentration (20% and 30%), and factor C to the beer style used. Microbiological analyses were conducted to determine the presence and behavior of microorganisms, as well as sensory evaluations of aroma, appearance, flavor, and mouthfeel. In addition, a molecular analysis was performed to identify the yeasts present. The results showed that mucilage promotes fermentation and improves quality, making it an innovative and natural alternative. Furthermore, significant differences were observed depending on the type of water and the concentration used, which influenced the overall acceptance of the final product.

Keywords: *pichia manshurica*, fermentation, irish red ale, english pale ale, molecular identification

*Artículo recibido 20 marzo 2026
Aceptado para publicación: 15 abril 2026*



INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la producción mundial de cacao ha mostrado una tendencia creciente, con una participación relevante del continente africano. En el caso de América Latina, Ecuador destaca como uno de los principales productores, aportando aproximadamente el 4 % de la producción global, mientras que Brasil participa con cerca del 3 % (Alcívar *et al.*, 2019). De acuerdo con Piracoca (2022), el cacao se cultiva principalmente para la obtención de manteca de cacao y chocolate, productos que representan alrededor del 30 % del peso total del fruto. Durante su procesamiento también se generan diferentes subproductos, como la cáscara, la cascarilla y el mucílago o pulpa. Estos residuos presentan diversas aplicaciones en sectores como el alimentario, cosmético y agrícola, lo que permite incrementar el aprovechamiento del fruto y agregar valor a la cadena productiva del cacao. El aprovechamiento de estos subproductos ha despertado un creciente interés en la investigación científica, ya que su utilización puede contribuir al desarrollo de nuevos productos, a la reducción de desperdicios agroindustriales y a la promoción de procesos más sostenibles dentro del sector agroalimentario.

El mucílago de cacao se considera un recurso con potencial para su uso en procesos fermentativos debido a su contenido de azúcares, pectinas y ácido cítrico. Asimismo, esta materia prima alberga microorganismos como la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, ampliamente utilizada en procesos de fermentación (Ortiz *et al.*, 2015). En la elaboración de cerveza artesanal, estas levaduras cumplen un papel fundamental al transformar los azúcares presentes en el mosto en alcohol y dióxido de carbono durante la fermentación (Pilligua *et al.*, 2021). Como consecuencia de este proceso, también se generan compuestos que influyen en las características sensoriales de la bebida, tales como el aroma, el sabor y el color característicos de la cerveza (García *et al.*, 2021).

Desde una perspectiva bioquímica, Carbó y Guarner (2003) explican que la oxidación completa de la glucosa implica su transformación en dióxido de carbono (CO_2) y agua (H_2O), acompañada de la producción de aproximadamente 38 moléculas de ATP. Dentro de este proceso metabólico, la glucólisis constituye una ruta esencial para la obtención de energía en los organismos vivos. Esta vía metabólica permite la conversión de la glucosa en piruvato en presencia de oxígeno y genera una ganancia neta de dos moléculas de ATP de alta energía. Dicho proceso resulta fundamental para el funcionamiento celular y desempeña un papel importante en los mecanismos metabólicos asociados a la fermentación.



La composición mineral del agua tiene una influencia considerable en las características de diversos estilos de cerveza. Un ejemplo representativo es la ciudad de Burton-on-Trent en Reino Unido, famosa por sus aguas con alto contenido de sulfato de calcio, consideradas aguas duras, que han contribuido al desarrollo de cervezas tipo Pale Ale con propiedades distintivas. En contraste, la ciudad de Múnich en Alemania posee aguas blandas, lo que ha favorecido históricamente la producción de cervezas Lager oscuras. Por ello, analizar el proceso oxidativo de los azúcares presentes en el mucílago de cacao durante la elaboración de cerveza utilizando distintos tipos de agua representa una alternativa para promover la innovación, mejorar la calidad del producto y fomentar prácticas sostenibles en la industria cervecera, además de aportar conocimiento científico en este campo.

Las diferencias en la composición mineral entre aguas duras y blandas pueden influir de manera importante en el desarrollo del proceso fermentativo. Estas variaciones pueden afectar tanto la actividad metabólica y viabilidad de las levaduras como las propiedades finales de la cerveza obtenida. Asimismo, la incorporación de mucílago de cacao puede aportar nutrientes adicionales que favorezcan el crecimiento y la actividad de las levaduras durante la fermentación, además de contribuir a procesos como la clarificación de la bebida. En este contexto, el aprovechamiento de este subproducto del cacao representa una alternativa prometedora para optimizar la eficiencia del proceso fermentativo y reducir el uso de compuestos químicos sintéticos, respondiendo a las actuales demandas de sostenibilidad, seguridad alimentaria y reducción del impacto ambiental en la industria de bebidas fermentadas.

METODOLOGÍA

La presente investigación consistió en la elaboración de cerveza artesanal utilizando mucílago de *Theobroma cacao* L. Posteriormente, las muestras obtenidas fueron sometidas a análisis microbiológicos, sensoriales y molecular en los laboratorios de Biotecnología, Química y Microbiología estos laboratorios se encuentran ubicados en los predios del campus “La María”, en el km 7 ½ de la vía Quevedo–El Empalme, recinto San Felipe, cantón Mocache, provincia de Los Ríos, Ecuador. A su vez en el laboratorio de operaciones unitarias se realizaron las diferentes etapas del proceso experimental, que incluyeron la preparación del mosto cervecero con mucílago de cacao y el proceso de fermentación.



Análisis microbiológico de la cerveza artesanal con dos tipos de agua

Levaduras

Se llevó a cabo el análisis de mohos y levaduras utilizando el medio de cultivo Potato Dextrose Agar (PDA). Este medio fue esterilizado en autoclave a 118 °C durante 20 minutos. Posteriormente, se prepararon 24 placas Petri, en las cuales se vertió el agar y se dejó solidificar durante 15 minutos dentro de una cámara de flujo laminar.

A continuación, se inocularon 20 µL de la muestra madre en cada placa Petri. Luego, se realizó una distribución uniforme de la muestra mediante un asa de vidrio, con el fin de dispersarla homogéneamente sobre la superficie del medio de cultivo. Las placas se incubaron a una temperatura de 25 °C. Finalmente, después de 48 horas de incubación, se procedió al recuento de colonias para obtener los resultados del análisis, siguiendo la metodología establecida en la norma NTE INEN 1529-10 (1998).

Salmonella

Para la determinación de este análisis se utilizó el medio de cultivo SS Agar, el cual fue esterilizado previamente en autoclave a 118 °C durante 20 minutos. Se emplearon 24 placas Petri correspondientes a los diferentes tratamientos; en cada una se vertió el medio de cultivo y se dejó solidificar durante 15 minutos dentro de la cabina de flujo laminar.

Posteriormente, se depositaron 20 µL de la muestra madre en cada placa Petri. A continuación, se efectuó un extendido uniforme utilizando un asa de vidrio, con el propósito de distribuir la muestra de forma homogénea sobre la superficie del medio. Las placas fueron selladas con papel Parafilm, debidamente rotuladas y colocadas en la incubadora a una temperatura de 37 °C. Transcurridas 24 horas de incubación, se procedió a realizar el recuento de colonias, con el fin de obtener los resultados del análisis, siguiendo lo establecido en la norma NTE INEN 1529-15 (2009).

Bacterias ácido láctica

Se llevó a cabo la determinación microbiológica de bacterias ácido lácticas utilizando el medio de cultivo Lactobacillus MRS Agar (MRS Agar), previamente esterilizado en autoclave a 118 °C durante 20 minutos. Para ello, se dispusieron 24 placas Petri, en las cuales se vertió el medio de cultivo y se dejó solidificar durante 15 minutos dentro de una cabina de flujo laminar, con el propósito de mantener



condiciones asépticas. Posteriormente, se inocularon 20 µL de la muestra madre en cada placa Petri. La muestra fue distribuida de forma homogénea sobre la superficie del medio mediante un asa de vidrio, realizando un extendido uniforme. Las placas fueron selladas con papel Parafilm, rotuladas adecuadamente y colocadas en incubación a 37 °C. Luego de 72 horas de incubación, se procedió a efectuar el recuento de colonias, con el fin de obtener los resultados del análisis, siguiendo lo establecido en la norma NTE INEN 1529-10 (1998).

Escherichia Coli.

Se llevó a cabo la determinación microbiológica de *Escherichia coli* utilizando el medio de cultivo TM 336-EMB Agar, el cual fue esterilizado previamente en autoclave a 118 °C durante 20 minutos. Para el procedimiento se dispusieron 24 placas Petri, en las que se vertió el medio de cultivo y se permitió su solidificación durante 15 minutos dentro de la cabina de flujo laminar, con el fin de mantener condiciones asépticas. Posteriormente, se inocularon 20 µL de la muestra madre en cada placa Petri. Seguidamente, las placas fueron selladas con papel Parafilm, debidamente rotuladas e incubadas a una temperatura de 36 °C. Tras 24 horas de incubación, se efectuó el recuento de colonias para la obtención de los resultados del análisis, de acuerdo con lo establecido en la norma NTE INEN 1529-8 (1990).

Análisis sensorial de la cerveza artesanal con dos tipos de agua

La evaluación sensorial se efectuó con la participación de 30 panelistas no entrenados en el ámbito cervecero, quienes realizaron la valoración de 24 muestras de cerveza artesanal mediante una prueba de catación sensorial. Las muestras correspondieron a cervezas artesanales elaboradas con mucílago de cacao, en combinación con diferentes tipos de agua y estilos de cerveza. Durante la evaluación se consideraron los atributos sensoriales de aroma, apariencia, sabor y sensación en boca, con el objetivo de identificar el tratamiento con mayor aceptación y desempeño sensorial dentro del estudio.

Análisis molecular de las levaduras presentes en el mosto final de la cerveza artesanal

Método de determinación: Identificación molecular por barcoding ITS para hongos.

Procedimiento:

- La extracción de ADN se efectuó mediante métodos convencionales, empleando aproximadamente 100 mg de muestra.



- La calidad e integridad del ADN obtenido se verificó mediante espectrofotometría de microvolumen y su visualización en gel de agarosa.
- Posteriormente, el ADN fue ajustado a una concentración aproximada de 20 ng/μL, con el fin de realizar su amplificación mediante la técnica de Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) utilizando los cebadores ITS1/ITS4.
- El producto amplificado por PCR fue sometido a un proceso de purificación previo a la secuenciación mediante el método de Sanger.
- Las secuencias obtenidas fueron posteriormente depuradas y ensambladas con el apoyo de herramientas bioinformáticas especializadas.
- Finalmente, la secuencia consenso generada fue comparada con la base de datos de nucleótidos del NCBI, con el objetivo de determinar la identificación taxonómica de las levaduras presentes en la muestra.

Diseño experimental y análisis estadístico

Diseño experimental

Para el cumplimiento de los objetivos planteados, se aplicó un diseño trifactorial $A \times B \times C$, del cual se obtuvieron ocho tratamientos experimentales. En relación con el primer, segundo y tercer objetivo, se establecieron tres repeticiones, cada una conformada por ocho unidades experimentales. Por otro lado, para el cuarto objetivo no se implementó un diseño experimental, debido a que el análisis se basó únicamente en la evaluación de características de tipo cualitativo.

Factores de Estudio

Tabla 1. Factores que intervinieron en el estudio

Factores	Simbología	Descripción
A: Tipos de Aguas	a_0	Dura
	a_1	Blanda
B: Concentración de mucílago	b_0	20 %
	b_1	30 %
C: Tipos de Cerveza	c_0	English Pale Ale
	c_1	Irish Red Ale

Arreglo multifactorial

Se utilizó el arreglo factorial $A*B*C+1$, con los niveles en $A=2$, $B=2$ y $C=2$ dando como resultado un total de 8 tratamientos

Tabla 2. Combinación de los Tratamientos propuestos

Nº	Simbología	Descripción
1	$a_0 b_0 c_0$	Agua (Dura) + Concentración de mucílago 20 % + English Pale Ale
2	$a_0 b_0 c_1$	Agua (Dura) + Concentración de mucílago 20 % + Irish Red Ale
3	$a_0 b_1 c_0$	Agua (Dura) + Concentración de mucílago 30 % + English Pale Ale
4	$a_0 b_1 c_1$	Agua (Dura) + Concentración de mucílago 30 % + Irish Red Ale
5	$a_1 b_0 c_0$	Agua (Blanda) + Concentración de mucílago 20 % + English Pale Ale
6	$a_1 b_0 c_1$	Agua (Blanda) + Concentración de mucílago 20 % + Irish Red Ale
7	$a_1 b_1 c_0$	Agua (Blanda) + Concentración de mucílago 30 % + English Pale Ale
8	$a_1 b_1 c_1$	Agua (Blanda) + Concentración de mucílago 30 % + Irish Red Ale
9	English Pale Ale	Cerveza artesanal sin mucílago
10	Irish Red Ale	Cerveza artesanal sin mucílago

Análisis estadístico

Los datos cuantitativos fueron analizados mediante estadística descriptiva, considerando parámetros como media, desviación estándar, error estándar y coeficiente de variación. Asimismo, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el propósito de determinar la existencia de diferencias significativas entre los tratamientos evaluados. Cuando se detectaron diferencias estadísticamente significativas, se aplicó la prueba de comparación múltiple de medias de Tukey, empleando un nivel de confianza del 95 %. Previo a la ejecución de estos análisis, se comprobó el cumplimiento de normalidad y homogeneidad de varianzas de los datos. Todo el procesamiento y análisis estadístico se efectuó utilizando los programas InfoStat/L y Microsoft Excel.

Proceso de adquisición del mucílago de cacao

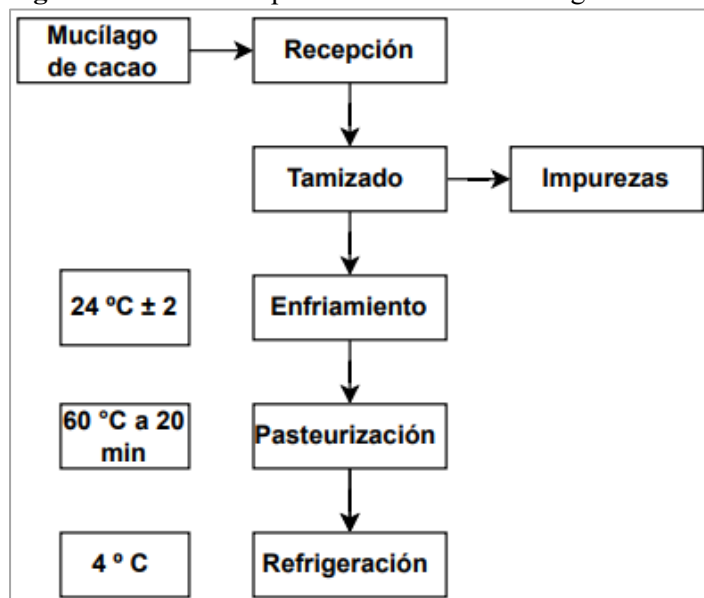
La materia prima fue obtenida de la finca “Voluntad de Dios”, situada en el sector Fumisa, a lo largo de la vía Camarones, en el recinto Río Chila. El mucílago de cacao fue recolectado empleando recipientes plásticos previamente desinfectados, con el fin de garantizar condiciones higiénicas durante el proceso. Seguidamente, el mucílago fue sometido a un proceso de tamizado para eliminar las impurezas generadas durante la cosecha. A continuación, la muestra fue sometida a un tratamiento térmico a 60

°C durante 20 minutos, seguido de un enfriamiento rápido hasta alcanzar una temperatura de 24 ± 2 °C.

Como etapa final, el producto fue almacenado bajo refrigeración a 4 °C durante 24 horas, previo a su utilización en las etapas posteriores del proceso.

Diagrama de pasteurización del mucílago Cacao

Figura 1. Proceso de pasteurización del mucílago de *T. cacao* L



Obtención de la de la cerveza artesanal con adición de mucílago de cacao (20-30%), tipo de agua (Dura y blanda) y tipo de cerveza (American Pale Ale y Irish Red Ale).

Recepción de la materia prima

Los insumos utilizados en la elaboración de la cerveza artesanal, tales como cebada, clarificante y lúpulo, fueron adquiridos en Beerland Store. Asimismo, se obtuvo mucílago de cacao previamente pasteurizado, mientras que los tipos de agua (dura y blanda) se seleccionaron a partir de diferentes marcas comerciales.

Molienda

La molienda de la malta se efectuó utilizando un molino especializado, con el objetivo de reducir el tamaño de partícula y facilitar la liberación de compuestos fermentables. Para ello se emplearon 2,89 kg de malta base y especial destinados a la elaboración de la cerveza tipo English Pale Ale, y 2,44 kg para la producción del estilo Irish Red Ale.

Maceración y filtración

El proceso de maceración se desarrolló en dos recipientes metálicos independientes. En el primero se empleó agua dura, mientras que en el segundo se utilizó agua blanda. La temperatura del sistema se elevó hasta 60 °C, tras lo cual se incorporó la malta previamente molida mediante un tamiz, favoreciendo así la extracción de azúcares fermentables presentes en la cebada.

Cocción y adición de lúpulo

Durante esta etapa, el mosto obtenido (10 L) fue sometido a un proceso de cocción, elevando la temperatura hasta 80 °C durante 60 minutos, con el propósito de esterilizar el medio e inactivar las enzimas presentes en la malta. Posteriormente, se realizó la incorporación del lúpulo en dos adiciones, utilizando 23 g para el estilo English Pale Ale y 20 g para la cerveza Irish Red Ale. Tras un intervalo de 15 minutos, el lúpulo fue agregado al mosto, manteniendo una agitación constante para favorecer la extracción de compuestos aromáticos y amargos.

Enfriamiento del mosto

El mosto fue enfriado hasta alcanzar una temperatura de 33 °C. Seguidamente, se adicionaron 6 g de levadura comercial y 1 g de clarificante comercial para cada uno de los tipos de cerveza artesanal elaborados.

Fermentación

Una vez alcanzada la temperatura adecuada, se procedió a la etapa de fermentación, en la cual se incorporaron diferentes proporciones de mucílago de cacao, correspondientes al 20 % (300 mL) y 30 % (450 mL). Las mezclas se colocaron en recipientes plásticos con capacidad de 6 L, a los cuales se añadieron 3 L de mosto por tratamiento. Posteriormente, los recipientes fueron sellados mediante globos previamente perforados, con el fin de permitir la liberación del dióxido de carbono generado durante la fermentación. Para evitar la incidencia de la luz, los tratamientos se mantuvieron cubiertos durante un período de 15 días.

Embotellado

Finalizado el proceso de fermentación, se efectuó el trasiego de cada tratamiento, trasladando el producto a envases de vidrio de 330 mL previamente esterilizados.



Maduración de la cerveza artesanal

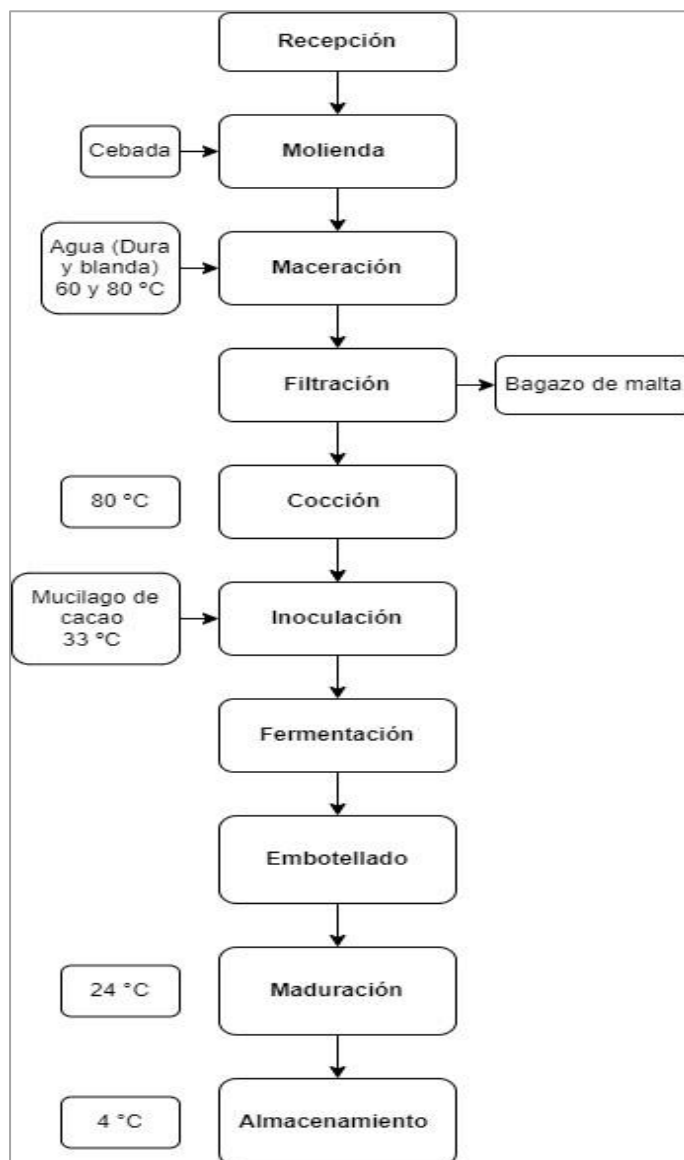
La maduración se llevó a cabo en botellas de vidrio oscuro de 330 mL, las cuales fueron mantenidas a una temperatura de 4 °C durante 7 días, con el propósito de favorecer la carbonatación y potenciar las características sensoriales de sabor y aroma.

Almacenamiento

Como etapa final, las cervezas fueron almacenadas bajo condiciones de refrigeración a una temperatura de 16 °C.

Diagrama de flujo de las cervezas artesanales

Figura 2. Proceso de elaboración de las cervezas artesanales con dos tipos de agua, tipos de cervezas y mucílago de cacao



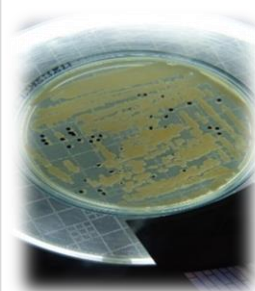
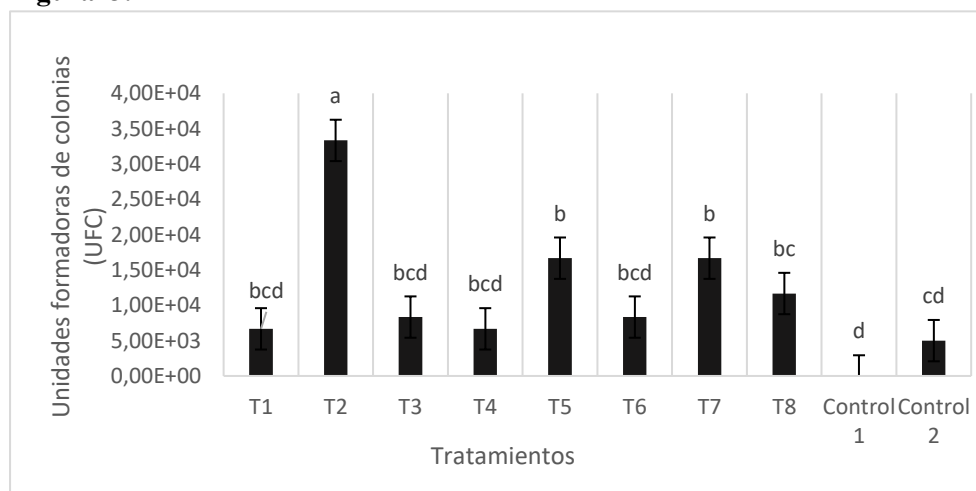
RESULTADOS

Análisis Microbiológico de la cerveza artesanal con dos tipos de aguas

Resultados de las UFC de levaduras de las diferencias de medias entre los tipos de agua, concentración de mucílago y los tipos de cerveza.

La Figura 3 presenta el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) de levaduras en las cervezas artesanales evaluadas. Los resultados evidenciaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos ($F = 175,19$; $P = 0,0001$). El tratamiento T2 (agua dura + 20 % de mucílago + Irish Red Ale) registró el mayor recuento de levaduras, con un valor de $3,3 \times 10^4$ UFC. En segundo lugar, se ubicaron los tratamientos T5 (agua blanda + 20 % de mucílago + English Pale Ale) y T7 (agua blanda + 30 % de mucílago + English Pale Ale), ambos con $1,6 \times 10^4$ UFC. Por otra parte, el control correspondiente a la cerveza Irish Red Ale sin adición de mucílago presentó un recuento de 5×10^3 UFC, lo que indica la presencia de unidades formadoras de colonias de levaduras en menor proporción en comparación con los tratamientos que incorporaron mucílago.

Figura 3. Recuento de células de levaduras



Salmonella, Echerichia coli y Bacterias ácido lácticas

Los Resultados de los análisis de Salmonella, Echerichia coli y Bacterias ácido láctica no presentaron UFC por lo que no existió diferencia significativa

Análisis sensorial de la cerveza artesanal con adición de mucílago

Se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en el atributo de apariencia de la cerveza artesanal ($F = 8,80$; $P = 0,0002$). El tratamiento T6 (agua blanda + 20 % de mucílago + Irish Red Ale)

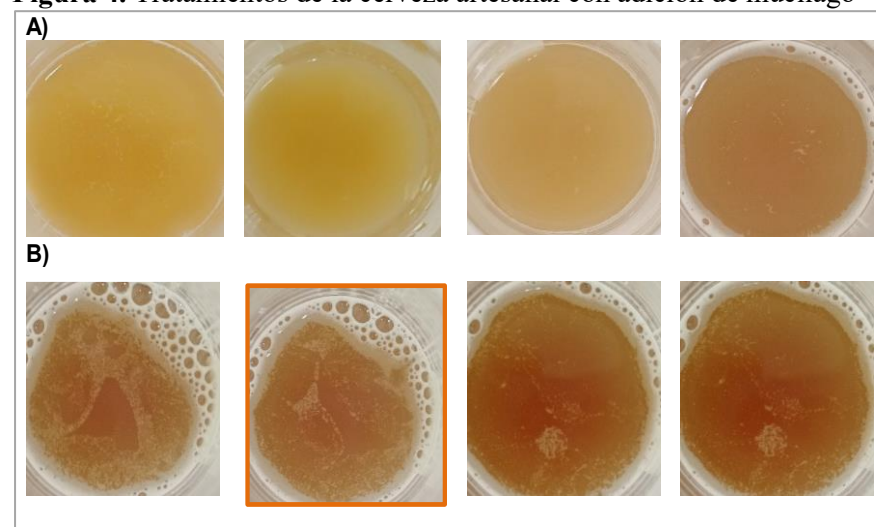
registró la mayor puntuación, con un valor de 4,9. En cuanto al aroma, también se observaron diferencias significativas entre los tratamientos ($F = 2,95$; $P = 0,0349$). El tratamiento T6 (agua blanda + 20 % de mucílago + Irish Red Ale) alcanzó nuevamente la mayor valoración, con un promedio de 4,87. Respecto al atributo sabor, los resultados mostraron diferencias altamente significativas ($F = 175,19$; $P = 0,0001$), donde el tratamiento T6 presentó la mayor puntuación, con un valor de 4,9. Por otro lado, el atributo sensación en boca no evidenció diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, tal como se detalla en la Tabla 1.

Tabla 3. Apariencia, aroma, sabor y sensación en la boca de la cerveza artesanal

Tratamientos	Apariencia		Aroma		Sabor		Sensación en la boca	
T1	3.7	bc	3.47	b	3.53	b	4.1	ns
T2	3.83	bc	4.3	ab	4.17	ab	3.5	ns
T3	3.43	c	3.87	ab	3.77	ab	3.57	ns
T4	3.8	bc	3.83	ab	3.97	ab	3.4	ns
T5	4.4	ab	4.5	ab	4.2	ab	3.67	ns
T6	4.9	a	4.87	a	4.9	a	4.63	ns
T7	4.3	ab	4.37	ab	4.43	ab	3.97	ns
T8	4.73	a	4.73	ab	4.27	ab	3.93	ns
Promedio	4.14		4.24		4.155		3.84625	
Coeficiente de variación	7.4		10.71		10.14		12.05	

Leyenda: ns representa que no existe diferencia significativa

Figura 4. Tratamientos de la cerveza artesanal con adición de mucílago



Identificación Molecular del mosto final de la cerveza artesanal

En la Tabla 4 se presenta la identificación molecular de la levadura detectada durante el proceso de oxidación de la cerveza artesanal. Los resultados evidenciaron la presencia de una única cepa de levadura, identificada como *Pichia manshurica*, la cual mostró un 100 % de identidad genética con las secuencias reportadas en la base de datos.

Este resultado es relevante, ya que permite determinar con precisión la especie de levadura involucrada en el proceso de oxidación, lo que contribuye a comprender de mejor manera su influencia en la estabilidad y características del producto, además de aportar información útil para optimizar la calidad de la cerveza artesanal elaborada.

Tabla 4. Caracterización genética de *Pichia manshurica* mediante análisis filogenético.

Muestra	Organismo	Fragmento	% de identidad	N.º Accesoión
Leva 1	<i>Pichia manshurica</i>	ITS	100	MK394164.1

Figura 5 Microscopio (100X) de *Pichia Manshurica*

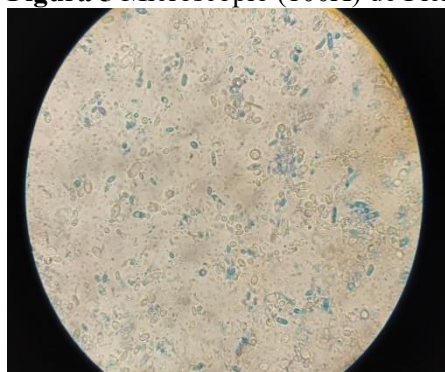
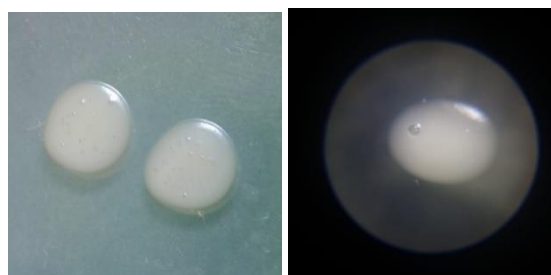


Figura 6 Estereoscopio (20X)



DISCUSIÓN

En el análisis microbiológico se registraron los valores más altos de células de levaduras ($3,3 \times 10^4$ UE) en el tratamiento correspondiente a agua dura + 20 % de mucílago + estilo Irish Red Ale, lo que sugiere que la incorporación de mucílago favorece un proceso fermentativo eficiente cuando se emplea agua dura. Por otra parte, en los tratamientos elaborados con agua blanda se evidenció predominio de las concentraciones de mucílago del 20 % y 30 % en ambos estilos de cerveza, lo que indica un proceso de fermentación relativamente limpio y controlado en el producto final. Estos resultados son comparables con los reportados por Tourné (2023), quien registró un valor de 3,979 UE/mL, y además se encuentran

dentro de los rangos establecidos por la normativa NTE INEN 2262 (2003) para cervezas pasteurizadas, cuyo límite aceptable oscila entre 1,0 y 10,0 UE. En comparación a los controles se encuentran inferiores a este estudio.

En relación con el análisis sensorial, la cerveza elaborada con agua blanda, 20 % de mucílago y estilo Irish Red Ale alcanzó las mayores puntuaciones en los atributos evaluados: apariencia (4,9), aroma (4,87), sabor (4,9) y sensación en boca (4,63). Estos resultados indican que la incorporación de mucílago de cacao en estas condiciones contribuye a mejorar las características organolépticas de la bebida, generando mayor aceptación entre los panelistas.

El análisis molecular permitió identificar la presencia de la levadura *Pichia manshurica* en el mosto final de la cerveza artesanal, lo que evidencia su predominancia durante el proceso de fermentación. Esta especie se encuentra dentro de las levaduras más frecuentes en procesos fermentativos asociados al cacao, según lo reportado por Salazar (2017). Asimismo, en la presente investigación se evidenció su influencia en las propiedades sensoriales del producto, particularmente en los atributos de aroma, sabor y sensación en boca, contribuyendo a la aceptación del consumidor. Además, *Pichia manshurica* se caracteriza por su alta tolerancia al etanol, a condiciones de acidez y a temperaturas elevadas, lo que favorece su desarrollo en procesos fermentativos, tal como señala Pinos (2021).

CONCLUSIONES

En relación con el análisis microbiológico, la incorporación de mucílago de cacao en concentraciones del 20 % y 30 % en la cerveza artesanal no afectó negativamente los parámetros evaluados, ya que los resultados obtenidos se mantienen dentro de los límites establecidos por la Norma NTE INEN 2262:2013.

La cerveza elaborada con agua blanda, 20 % de mucílago y estilo Irish Red Ale presentó la mayor aceptación por parte de los panelistas, destacándose principalmente en los atributos de apariencia, aroma, sabor y sensación en boca, donde se evidenció la influencia del mucílago de cacao en el perfil sensorial de la bebida.

La levadura predominante durante el proceso de fermentación de la cerveza artesanal fue *Pichia manshurica*, lo que evidencia su importancia en el desarrollo de la calidad, estabilidad y características sensoriales del producto final.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Alcívar, K; Quezada, J; Garzón, V; Barrezueta, U; Carvaja, H. 2019. Análisis económico de la exportación del cacao en el Ecuador durante el periodo 2014 –2019. .
- Carbó, R; Guarner, V. 2003. Cambios en el metabolismo cardíaco y su posible aprovechamiento en la terapéutica,
- Cárdenas, C. (2016). Diseño de un Filtro para Cerveza Artesanal.
- Coletto, E. 2019. Efecto del tratamiento del agua en la elaboración de la cerveza: aplicación en una micro cervecería artesanal. Sevilla.
- Di Blasi, J; Martínez, J; Pozo, J; Comesaña, C; Cuesta, L; Taboada, J; Gajino, P; Tresaco, E. 2014. Desarrollo de una aplicación para la comparación rápida de pigmentos a partir de sus coordenadas colorimétricas. DYNA 81(184):49-54.
- Evans, DE; Oberdieck, M; Redd, KS; Newman, R. 2012. Comparison of the Rudin and NIBEM methods for measuring foam stability with a manual pour method to identify beer characteristics that deliver consumers stable beer foam. *Journal of the American Society of Brewing Chemists* 70(1):70-78. DOI: <https://doi.org/10.1094/ASBCJ-2011-1205-01>.
- García, E; Ochoa, A; Montalvo, C; Ordoñez, G; Londoño, L. 2021. Sucesión microbiana durante la fermentación espontánea de cacao en unidades productivas. *Ciencia en Desarrollo* 12(2):21-30. DOI: <https://doi.org/10.19053/01217488.v12.n2.2021.12242>.
- Herrero, VP. 2022. Application of autochthonous yeasts for brewing production of new bio-healthy beers in the Community of Madrid.
- Lachenmeier, DW; Triebel, S; Lerch, E. (2006). Bitterness units in beer: Retrospective trends and current concept of commerce. DOI: <https://www.researchgate.net/publication/235981184>.
- LIPA (Laboratorio de Investigación en Productos Agroindustriales. Introducción a la elaboración de cerveza artesanal. Argentina.
- Maciel, N. 2023. Producción de biomasa líquida de levaduras cerveceras en un medio de cultivo alternativo. 14(1):34-43. DOI: https://doi.org/10.56152/stevianafacenv14n1a3_2022.
- Morales, O; Borda, A; Argandoña, A; Farach, R; Naranjo, LG; Lazo, K; Cacao, LA. 2015. La Alianza Cacao Perú y la cadena productiva del cacao fino de aroma. :5-8.



- Moreto, P; Moran, J. 2020. Análisis de aceptabilidad sensorial y calidad de una cerveza artesanal elaborada con zumo dosificado del fruto de *passiflora tripartita kunth* var. *mollissima* (Tumbo serrano).
- NTE INEN 1529-10. 1998. Control Microbiológico de los Alimentos. Mohos y levaduras viables. Recuento en placa por siembra en profundidad.
- NTE INEN 1529-15. 2009. Control microbiológico de los alimentos. *Salmonella*. Método de detección.
- NTE INEN 1529-8. 1990. Control microbiológico de los alimentos. Determinación de coliformes fecales y *E.coli*.
- Ortiz, K; Álvarez, R. 2015. Efecto del vertimiento de subproductos del beneficio de cacao (*Theobroma cacao* L.) sobre algunas propiedades químicas y biológicas en los suelos de una finca cacaotera, municipio de Yaguará (Huila, Colombia). Boletín Científico del Centro de Museos 19(1):65-84. DOI: <https://doi.org/10.17151/bccm.2015.19.1.5>.
- Pascual, G. 2019. Seguimiento de la turbidez de la cerveza.
- Pilligua, R; Barre, R; Mendozas, A; Lavayen, E; Mero, R. 2021. Influencia del mucilago de cacao (*Theobroma cacao*) en las características fisicoquímicas y sensoriales de la cerveza artesanal. 12(1):25-32. DOI: https://doi.org/10.51260/revista_espamciencia.v12i1.234.
- Pinos, J. 2021. Aislamiento e identificación molecular de levaduras a partir de la fermentación de una mezcla de pulpa de frutas y granos de cacao de la variedad CCN-51.
- Quintero, L. 2023. Cerveza artesanal tipo pale ale con adición de residuos de café.
- Salazar, L. 2017. Aislamiento y caracterización de microorganismos durante el proceso de fermentación de *Theobroma cacao* L. de la variedad “CHUNCHO” obtenida en cuzco, Perú.
- Tourné, F. 2023. Análisis de las amilasas presentes en cepas de *Aureobasidium pullulans* nativas para su aplicación a la producción de cerveza.
- Velásquez, M; Montilla, A; Cevallos, L. 2023. Perspectivas de comercialización de cerveza artesanal como producto gastronómico en la ciudad de Manta, Ecuador. CIENCIA UNEMI 16(41):69-80. DOI: <https://doi.org/10.29076/issn.2528-7737vol16iss41.2023pp69-80p>.

