

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias e Ingeniería**

**Elaboración de una Bebida Alcohólica Destilada a  
partir de Yuca (*Manihot esculenta*) y Zanahoria Blanca  
(*Arracacia xanthorrhiza*)**

**Proyecto de Investigación**

**Emilia Isabel Guerrero Marchán  
Andrea Carolina Yépez Albuja**

**Ingeniería de Alimentos**

Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del título  
de Ingeniería en Alimentos

**Quito, 9 de mayo de 2018**

**UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ**

**Colegio de Ciencias e Ingeniería**

**HOJA DE CALIFICACIÓN  
DE TRABAJO DE TITULACIÓN**

**Elaboración de una Bebida Alcohólica Destilada a partir de Yuca  
(*Manihot esculenta*) y Zanahoria Blanca (*Arracacia xanthorrhiza*)**

**Emilia Isabel Guerrero Marchán**

**Andrea Carolina Yépez Albuja**

Calificación:

Javier Garrido, MSc.,  
Asesor de Trabajo de Titulación

Gabriela Vernaza, Ph.D.,  
Co – asesora de Trabajo de Titulación

---

---

**Quito, 9 de mayo de 2018**

## Derechos de Autor

Por medio del presente documento certifico que he leído todas las Políticas y Manuales de la Universidad San Francisco de Quito USFQ, incluyendo la Política de Propiedad Intelectual USFQ, y estoy de acuerdo con su contenido, por lo que los derechos de propiedad intelectual del presente trabajo quedan sujetos a lo dispuesto en esas Políticas.

Asimismo, autorizo a la USFQ para que realice la digitalización y publicación de este trabajo en el repositorio virtual, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Firma del estudiante:

---

---

Nombres y apellidos:

Emilia Isabel Guerrero Marchán

Andrea Carolina Yépez Albuja

Código:

00111473

00116600

Cédula de Identidad:

1716604481

1719050229

Lugar y fecha:

Quito, 9 de mayo de 2018

## DEDICATORIA

*A mis papás quienes me han inspirado, apoyado y guiado para alcanzar mis metas y quienes sé que siempre estarán ahí para mí.*

Emilia Guerrero

*A mis abuelitos que son mi inspiración para ser cada día mejor, de quienes aprendí a no dejarme vencer por nada y quienes siempre serán mi guía y mi luz.*

Andrea Yépez

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi familia en primer lugar, a mis profesores de Ing. de Alimentos, a Don Manuel y Norbert, a mi compañera de tesis y amiga, y a quienes me han acompañado en este camino.

Emilia Guerrero

A mi familia por su apoyo incondicional a lo largo de todos estos años, a Javier, Gaby, Luci y Don Manuelito por su guía y buenos consejos y a Emi por ser una gran compañera y colega.

Andrea Yépez

## RESUMEN

En el Ecuador la industria de alimentos y bebidas es una de las industrias más fuertes dentro del sector económico siendo la de mayor potencial de crecimiento la industria de bebidas alcohólicas. Al ser Ecuador un país con múltiples microclimas se permite la producción de varios productos agrícolas entre ellos la yuca (*Manihot esculenta*) y zanahoria blanca (*Arracacia xanthorriza*) los cuales al presentar altos contenidos de almidones los hacen ideales para la elaboración de bebidas alcohólicas destiladas. El objetivo del presente estudio fue elaborar una bebida alcohólica tipo vodka a partir de raíces andinas (yuca y zanahoria blanca). Para ello se utilizó un diseño factorial  $2^2$  con puntos centrales en donde se evaluó el efecto de la concentración de la yuca y zanahoria blanca, y el tiempo de cocción sobre el tratamiento con mayor cantidad de sólidos solubles (Grados Brix) en el mosto de la bebida. Después de realizar un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de significancia de 0,1 se determinó que el mejor tratamiento fue la combinación 50% yuca y 50% zanahoria blanca y 40 minutos de cocción.

**Palabras clave:** yuca, zanahoria blanca, vodka, grados brix, alfa-amilasas, glucoamilasas.

## ABSTRACT

In Ecuador, the food and beverages industry has a major impact in the country's economic sector, in which the alcoholic beverages industry has the largest growing potential. Since Ecuador is a country with multiple microclimates several agricultural products like cassava (*Manihot esculenta*) and white carrot (*Arracacia xanthorriza*) can be easily produced, and due to their high starch content are suitable to produce distilled alcoholic beverages. The main objective of this study was to elaborate an alcoholic beverage like vodka with andean roots (cassava and white carrot). Hence, an experimental design  $2^2$  with center points was applied where the amount of cassava, amount of white carrot and the boiling time were evaluated in the treatment with the highest number of soluble solids (Brix degree) in the must. After running a Variance Analysis (ANOVA) with a 0,1 confidence level it was determined that the best treatment was the one containing 50% of cassava, 50% of white carrot boiled during 40 minutes.

**Key words:** cassava, White carrot, vodka, Brix degree, alpha amylases, glucoamylases.

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN .....	6
ABSTRACT .....	7
INTRODUCCIÓN.....	12
METODOLOGÍA.....	18
Materia Prima .....	18
Zanahoria Blanca.....	18
Yuca.....	18
Equipos y Reactivos .....	19
Equipos .....	19
Procedimiento.....	20
Preparación del Mosto .....	20
Destilación del Mosto.....	22
Diseño Experimental .....	24
Análisis Físico - Químicos .....	26
Determinación de Grados Brix .....	26
Análisis de Metanol.....	26
Determinación de Grado Alcohólico.....	27
RESULTADOS Y DISCUSIONES .....	28
Resultados Diseño Experimental.....	28
Análisis de Metanol.....	35
Análisis Sensorial .....	36
Consumidores .....	36
Jueces Entrenados.....	38
CONCLUSIONES.....	40
RECOMENDACIONES .....	40
BIBLIOGRAFÍA .....	41

ANEXOS .....	45
Anexo A. Flujograma del producto .....	45
Anexo B. Ficha Técnica GAMALPHA SPEZIAL.....	46
Anexo C. Ficha Técnica GAMMADEX CAL .....	48
Anexo D. Resultados Diseño Experimental .....	50
Anexo E. Comportamiento de Grados Brix en proceso elaboración producto .....	51
Anexo F. Consentimiento Informado .....	52
Anexo G. Cuestionario para consumidores – Evaluación Sensorial .....	53
Anexo H. Cuestionario para jueces entrenados – Evaluación Sensorial .....	54
Anexo I. Resultados de metanol de la muestra 50% yuca-50% zanahoria blanca .....	55

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1:</b> Descripción de equipos utilizados en la elaboración del producto .....	19
<b>Tabla 2:</b> Detalles del Diseño Experimental .....	25
<b>Tabla 3:</b> Aleatorización de unidades experimentales .....	25
<b>Tabla 4:</b> Análisis de Varianza para Grados Brix Inicial.....	31
<b>Tabla 5:</b> Resumen del Modelo del Análisis de Varianza para Grados Brix Inicial.....	32
<b>Tabla 6:</b> Coeficientes Codificados.....	32

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: Balance de Materia para mezcla alcohólica.....	23
Figura 2: Probabilidad Normal para Brix Inicial.....	29
Figura 3: Igualdad de Varianzas para Brix Inicial vs. Factor Cocción.....	29
Figura 4: Igualdad de Varianzas para Brix Inicial vs. Factor Yuca .....	30
Figura 5: Autocorrelación para Brix Inicial .....	30
Figura 6: Diagrama de Pareto para Brix Inicial.....	32
Figura 7: Gráfica de Interacción para Brix Inicial.....	33
Figura 8: Comportamiento de Grados Brix durante elaboración producto .....	34

## INTRODUCCIÓN

En el Ecuador la industria de alimentos y bebidas es una de las industrias más fuertes dentro del sector económico. En el 2007 se dice que la industria de alimentos generó un alto valor agregado donde la industria de bebidas alcohólicas ocupa el 52.3% (Pisco, 2016).

Por otro lado, el PIB del Ecuador en el 2016 fue de 69.321.410 miles de dólares del cual, tan solo 5'302.942 miles de dólares (7,65%) fueron por parte del PIB Agropecuario (MAGAP, 2017). Entre los productos a los que se les toma en consideración para otorgar créditos públicos están el maíz, arroz, papa, caña de azúcar, tomate hortícola, cebolla, fréjol, banano, palma africana, café y cacao; sin embargo, los productos agrícolas más exportados son solo el banano, la palma, el café y el cacao (MAGAP, 2017).

Aun así, hay productos que no satisfacen los estándares para ser vendidos en supermercados o directamente al consumidor por lo que se recomienda procesarlos. Una forma es utilizarlos como fuente de energía mediante la producción de bioetanol. Clementz y otros (2014) realizaron un estudio en Argentina el cual se enfocó en la optimización de fermentación de etanol a partir de zanahorias de desecho. En este estudio se utilizó como materia prima zanahorias que no satisfacían los tamaños mínimos para ser vendidos, o su valor no compensaba la inversión de la producción provocando desperdicio de 50-100 toneladas de zanahoria en Argentina y con valores semejantes en Latinoamérica. De éste, solo el 10% se destina como alimento para animal y el resto permanece en el campo deteriorándose. Con el uso de tecnología microbiana pudieron generar etanol a partir de esta zanahoria de desecho, lo cual a su vez genera valor agregado

y trabajo. Este procesamiento también puede aportar a la economía del país si estos productos se los lleva al extranjero.

Por lo tanto, se pueden aprovechar estos materiales que muchas veces son desechados o de los cuales no se ha encontrado una forma eficiente de procesarlos, para que generen ganancias y no desperdicios. Según la INIAP (2016) en el Ecuador existen aproximadamente 30 mil hectáreas sembradas de yuca en Manabí, Loja, Santo Domingo y la Amazonía. Sin embargo, hasta el 2008 la exportación de yuca decreció debido a la subida de precio de la misma. Entre los 10 países a donde se exporta Estados Unidos recibe 48%; por lo que, procesar esta materia prima puede ser una alternativa viable para aprovechar la producción de la misma (CORPEI, 2009).

Ecuador no solo se cultiva los productos agrícolas previamente mencionados, también existe una gran variedad de frutas, hortalizas, vegetales, cereales y también tubérculos como el melloco, zanahoria blanca, oca, camote, jícama, entre otros; que tienen gran potencial agronómico e industrial. La producción de raíces y tubérculos andinos está concentrada en la ecoregión andina del Ecuador y constituyen una fuente importante en la alimentación diaria ya que los tubérculos desde años atrás han sido un factor básico en la dieta de todos los ecuatorianos. Se dice que en poco tiempo, los cultivos andinos y en especial los tubérculos, jugarán un papel fundamental en las economías campesinas, principalmente de subsistencia para así garantizar la seguridad alimentaria (El Agro, 2016).

De acuerdo a Scott y otros (2000) para el 2020 las raíces y tubérculos desempeñarán papeles económicamente importantes y diversificados en los sistemas alimentarios de los países en desarrollo. Los autores mencionan que en las siguientes dos décadas se verá un incremento en las tasas de crecimiento del área sembrada de yuca y

otros tubérculos, así como el rendimiento se verá impulsado por la introducción de nuevas variedades de alto rendimiento y resistente a enfermedades; este incremento de la producción de los tubérculos permitirán precios más bajos de comercio y por lo tanto, menores costos de los productos elaborados y procesados.

En el Ecuador en el 2012 se planteó el Impuesto a los Consumos Especiales el cual incrementó a \$6 por litro de alcohol puro para todos los productos; sin embargo en junio del 2012 el Comité de Comercio Exterior impuso nuevas restricciones a las bebidas alcohólicas. Estas restricciones beneficiaron a la industria local aumentando su volumen de ventas debido a precios comparativamente más bajos (Zavala, 2015).

En el país gracias a estas restricciones de productos importados se logró que el consumidor ecuatoriano se fije más en la industria local por lo que esta sección de mercado seguirá ampliándose, siendo una oportunidad para nuevos emprendimientos y productos de alta calidad (Pisco, 2016).

La producción de etanol se realiza a partir de la fermentación de azúcares simples o almidones que sean hidrolizables (Ajibola , Edema, & Oyewole, 2012). De acuerdo a la Norma INEN 0369 (2015) el vodka es una bebida alcohólica obtenida a partir de la fermentación de papas, cereales, ambos u otros productos vegetales que después de la destilación, redestilación, rectificación quede sin carácter, aroma o gusto distintivo. Este tipo de bebida alcohólica debe ser translúcida, con un mínimo del 36% alcohol por volumen (ABV), un máximo de 10mg/100cm<sup>3</sup> de metanol, un máximo de 0,5mg/100cm<sup>3</sup> de alcoholes superiores (isopropanol, propanol, isobutanol, isoamílico y amílico) y libre de furfural.

En este caso, la yuca (*Manihot esculenta*) contiene almidones altamente hidrolizables lo que facilita el proceso de fermentación para las levaduras. Esto a su vez

permite que la producción de alcohol sea más eficiente debido a que se aprovecha más cantidad de azúcares presentes en la yuca (Morgan & Choct, 2016). Por otro lado, la zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza*) contiene alrededor de 10-25% y es altamente digestible, lo cual contribuye en el proceso de fermentación (Hernández & León, 1994).

El almidón está formado por dos diferentes polímeros de glucosa: la amilosa y la amilopectina. La amilosa posee una estructura lineal en la cual las unidades de glucosa están enlazadas por medio de enlaces  $\alpha$  (1- 4). En contraste, la amilopectina posee una estructura ramificada donde las unidades de glucosa en su mayoría están enlazadas por enlaces  $\alpha$  (1- 4) y con algunas uniones  $\alpha$  (1- 6). La estructura ramificada de la amilopectina está dada cada 15 a 25 unidades de glucosa (Hernández-Medina, Torruco-Uco, Chel-Guerrero, & Betancur-Ancona, 2008).

Estos dos polímeros forman una estructura en capas alternadas de regiones amorfas y cristalinas de baja y alta densidad. La amilosa y amilopectina están densamente empaquetados por medio de puentes de hidrógeno intra e inter molecular, conformando un estado policristalino que permite que sean insolubles en agua (Martín & López, 2009).

Existen tres tipos de hidrólisis del almidón: física, química y enzimática. La hidrólisis enzimática (proceso utilizado para este estudio) consiste en la utilización de enzimas como catalizadores para romper las moléculas que componen el almidón obteniendo azúcares más simples como glucosa, dextrinas, fructuosa y demás. Las enzimas más utilizadas para este proceso son las  $\alpha$ -amilasas las cuales desdoblan el almidón en glucosa y maltosa; esta enzima hidroliza a los almidones en dextrinas reductoras (Herrera & Meers, 2013).

Cabe recalcar que, la hidrólisis enzimática del almidón posee tres etapas sucesivas: gelatinización, licuefacción o dextrinización y sacarificación. La etapa de

gelatinización sucede cuando el almidón es calentado con exceso de agua ya que se produce una difusión del agua dentro del gránulo de almidón, una hidratación e hinchazón del almidón, la pérdida de birrefringencia y la pérdida del orden de región cristalina del almidón. Siguiendo a esta etapa se produce la licuefacción del almidón gelatinizado, gracias a este almidón transformado se obtiene una disminución rápida de la viscosidad por la hidrólisis parcial de los almidones por medio de enzimas amilasas. En esta etapa se producen polisacáridos de longitud intermedia (dextrinas, maltosa). Finalmente, al tener disponibles los polisacáridos de longitud intermedia se produce la sacarificación, en la cual se completa la hidrólisis total del almidón a glucosa (Cruz, 2012).

Una vez que el almidón ha sido sacarificado, este puede ser hidrolizado fácilmente. Para la hidrólisis del almidón se requiere de enzimas específicas (Collares, y otros, 2012). El almidón se puede hidrolizar en dextrinas y glucosas pero requiere de la  $\alpha$ -amilasa la cual rompe los enlaces  $\alpha$ -1,4 glicosídicos en la amilopectina y amilosa. También se forman oligosacáridos (dextrinas) que deben hidrolizarse (Smith & Morton, 2010). Para romper el resto de enlaces y obtener el mayor porcentaje de glucosa se utiliza glucoamilasas, con la cual se puede incrementar de 30% a 50% los azúcares hidrolizados (Collares, y otros, 2012).

Con moléculas de glucosa libres disponibles y bajo ciertas condiciones puede darse la fermentación alcohólica por las levaduras. La fermentación alcohólica es un proceso para obtener energía que ocurre en ausencia de oxígeno por microorganismos anaeróbicos como las levaduras. En este proceso la glucosa, en presencia de ciertas enzimas, se transforma en piruvato y luego este es hidrolizado en etanol y dióxido de carbono. Este proceso libera energía química que luego es utilizada por las levaduras (Barnett, 2003). La levadura más utilizada para este proceso a nivel industrial es *Saccharomyces cerevisiae* por su alta tolerancia a grado alcohólico, con respecto a otras

levaduras, y su bajo pH que permite evitar crecimiento de otros microorganismos no deseados. También, se ha observado que utilizar otras levaduras puede incrementar la producción de etanol, pero el género *S. cerevisiae* es el más común (Yang, Liu, & Zhang, 2007).

El objetivo del presente estudio fue elaborar una bebida alcohólica destilada tipo vodka con 39% alcohol por volumen (ABV) a partir de yuca y zanahoria blanca mediante la identificación de la mejor combinación de yuca y zanahoria blanca, en base a la mayor cantidad de grados brix del mosto previo a la fermentación, los cuales son un indicador del grado alcohólico que va a tener el producto final después de la fermentación.

# METODOLOGÍA

## Materia Prima

### Zanahoria Blanca

La zanahoria blanca (*Arracacia xanthorrhiza Bancroft*) forma parte del grupo de raíces y tubérculos que se cultivan en la región andina de Ecuador, Perú, Venezuela, Colombia y Brasil. En el Ecuador se la conoce como zanahoria blanca mientras que, en países como Perú y Colombia se la llama arracacha, racacha o virraca. En Venezuela en cambio se la conoce como apio criollo y en Brasil como mandioquinha-salsa, batata baroa o batata salsa (Mazón, Castillo, Hermann, & Espinosa, 1996).

La zanahoria blanca es una raíz con alto valor nutricional, su mayor componente son los carbohidratos totales (27,04%) de los cuales 18,45% son almidones y 0,6% es fibra, contiene bajas cantidades de grasa (0,1%) y 1,25% de proteínas. Esta raíz contiene 19mg de calcio, 0,9mg de hierro 31mg de vitamina C en 100g de zanahoria blanca (FUNIBER, 2005).

### Yuca

La yuca (*Manihot esculenta*) es uno de los tubérculos más tradicionales de los Andes, se caracteriza por su valor nutritivo ya que contiene entre 30-50% de carbohidratos, calcio, vitamina C, complejo B y fósforo, por lo que se consume considerablemente en el país (INIAP, 2016). En el Ecuador se estima que existe una producción 27 mil a 30 mil hectáreas de yuca sobretodo en regiones cómo Manabí, Loja, Santo Domingo y la Amazonía. Debido a su alto contenido de carbohidratos se han hecho varios estudios sobre la obtención de etanol y bioetanol a partir de la yuca. El rendimiento de este último fue de más del 50% en un estudio hecho en el 2014, gracias a la implementación de alfa-amilasas y glucoamilasas (Pervez, 2014). De igual manera, para

la producción de etanol se aplicó hidrólisis enzimática con la cual se pudo obtener un rendimiento del 40% al utilizar alfa-amilasas, amiloglucosidasas y pectinasas (Collares R. M., 2012).

Sin embargo, se ha determinado que su procesamiento es crucial para poder consumirla debido a su contenido cianuro el cual es tóxico en humano y animales. Algunas formas de liberar este compuesto de la pulpa es mediante cocción, fermentación de la pulpa cruda, remojo (aunque se ha visto que no es muy efectivo), desintegración del tejido, secado y molienda (Hahn, Reynolds, & Egbunike, 1988).

## Equipos y Reactivos

### Equipos

Para la elaboración de la bebida alcohólica a partir de yuca y zanahoria blanca se utilizaron utensilios de la cocina experimental y equipos del laboratorio de análisis de alimentos de la Universidad San Francisco de Quito; descritos en la Tabla 1.

*Tabla 1: Descripción de equipos utilizados en la elaboración del producto*

<b>Equipos</b>	<b>Modelo</b>	<b>Características</b>
Balanza Semianalítica	Mettler Toledo Modelo PB3002-S	Capacidad mínima 0,5g Capacidad máxima 3100g
Termómetro de Mercurio	--	--
Refractómetro	Fisher Scientific	0°Brix – 30°Brix
Batidora de Inmersión	Oster SKU 2616-53	2 velocidades Motor 250W
Hidrómetro – Alcoholímetro	ThermoCo	20% - 40% proof
Destilador	Rotavapor Buchi R II 230 A	Condensador diagonal

## Procedimiento

La elaboración de la bebida alcohólica constó de dos partes principales: la preparación del mosto y la destilación del mismo. El flujograma completo de la elaboración del producto se encuentra en el anexo A.

### Preparación del Mosto

- Recepción y almacenamiento de materia prima

La zanahoria blanca y la yuca fueron almacenadas en refrigeración (4°C) para aumentar su vida de anaquel sin causar daños por frío ya que puede provocar que la materia prima sufra daño celular interno y externo y se aumente la susceptibilidad a pudriciones (Kitinoja & Kader, 1995).

- Lavado y desinfección de la materia prima

Tanto para la yuca como para la zanahoria blanca se realizó un primer lavado con agua potable para quitar la materia orgánica extraña a estas (tierra, suciedad) para así, desinfectar con hipoclorito de sodio con 5ppm de cloro residual. Después a esto se volvió a lavar con agua potable para quitar cualquier residuo de cloro que pueda haber quedado en la materia prima (OPS, 2013).

- Pelado y cortado

Para la zanahoria blanca, al tener una cáscara más delgada, se peló con ayuda de un pelador de papas y se cortó a la raíz en forma de rodajas de 1cm de ancho para que en el proceso de cocción se dé de manera uniforme. En el caso de la yuca, se peló con cuchillo ya que su cáscara es más gruesa; igual que con la zanahoria blanca esta fue cortada en rodajas de 1cm para una cocción homogénea.

- Cocción

Un factor del diseño experimental fue el tiempo de cocción de las diferentes unidades experimentales en la cual se aplicaron tiempos desde 32,93 minutos hasta 47,07 minutos de cocción. Para la cocción de la materia prima se utilizó ollas pequeñas y una hornilla mediana con llama alta. La relación materia prima y agua para este proceso fue de 1:2. La cocción de la yuca y zanahoria blanca es uno de los procesos más relevantes del producto ya que permite gelatinizar los almidones para que luego las enzimas puedan actuar de sobre estos y liberar glucosa (Collares R. M., 2012).

- Trituración de mezcla

Dentro de la misma olla y a fuego bajo se trituró la mezcla con ayuda de una batidora de inmersión Oster hasta obtener una pasta homogénea; aproximadamente 5 minutos a la velocidad más alta. Luego de tener una mezcla triturada se agregó la enzima GAMALPHA SPEZIAL (alfa-amilasa termoestable) 150mL/ton manteniendo una temperatura de 85°C con un pH de 6,3 hasta observar que por medio de la prueba de lugol esta sea negativa (color amarillento); además se midió grados Brix para comprobar que se esté produciendo la sacarificación de los almidones (Collares, y otros, 2012).

Al resultar la prueba de lugol negativa, se retiró la mezcla de la hornilla y se la dejó enfriar hasta los 55°C para agregar la enzima GAMMADEX CAL (glucoamilasas) la cual completará el proceso de sacarificación. Cabe recalcar que las enzimas utilizadas para este proyecto de titulación fueron

proporcionadas por la empresa Granotec Ecuador; fichas técnicas de las respectivas enzimas se encuentra en el anexo B y C.

- Fermentación

Una vez completa la sacarificación de los almidones de la mezcla se bajó la temperatura hasta 30°C para colocar las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*); el mosto fue colocado en un recipiente de vidrio cerrado a 30°C por dos días.

### **Destilación del Mosto**

- Filtrado de mosto

Pasados los dos días de fermentación se filtró el mosto fermentado para retirar cualquier partícula grande que haya quedado de la yuca o la zanahoria blanca. Para este paso se utilizó una tela delgada y limpia de lino.

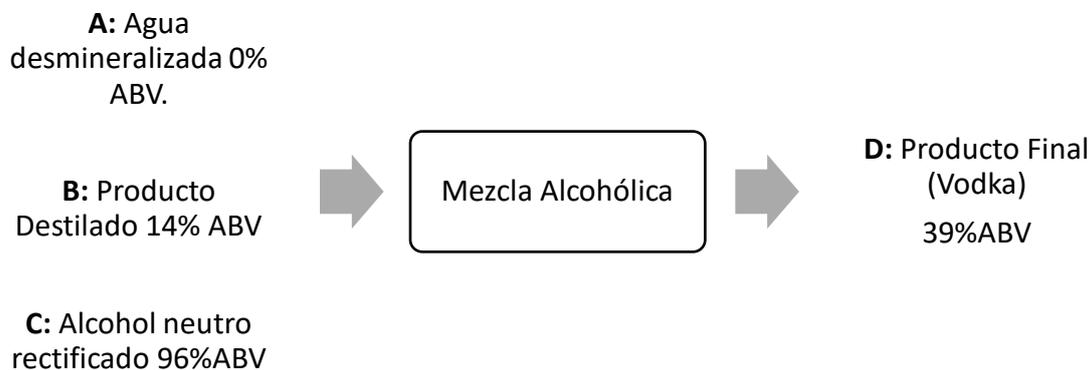
- Destilación Mosto

El líquido filtrado se destiló en un Rotavapor Buchi (destilación con vacío) el cual permite destilaciones de una sola etapa. Este método permite la evaporación y condensación de disolventes utilizando un matraz de evaporación rotativo bajo vacío permitiendo así incrementar el rendimiento del producto (Buchi, 2012). La destilación se realizó a 300mmHg por aproximadamente 45 minutos a 85°C.

- Dilución

Una vez obtenido el producto destilado, se midió el grado alcohólico (GA) con un hidrómetro – alcoholímetro 20-40% proof. Con esta información se obtuvo la cantidad necesaria que se debió añadir de etanol neutro

rectificado al 96% abv y agua desmineralizada para obtener un producto final de alcohol con 39% abv a partir de un balance de materia que se describe a continuación.



*Figura 1: Balance de Materia para mezcla alcohólica*

En la cual, para obtener el volumen necesario de alcohol neutro rectificado ( $V_C$ ) se necesitará del volumen y concentración del producto destilado de yuca y zanahoria blanca ( $V_B$  y  $C_B$ ), el volumen y concentración deseado del producto final ( $V_D$  y  $C_D$ ) y el grado alcohólico del alcohol neutro rectificado ( $C_C$ ).

$$V_C = \frac{C_D V_D - C_B V_B}{C_C}$$

$$V_C = \frac{0,39V_D - 0,14V_B}{0,96}$$

*Ecuación 1: Obtención volumen alcohol neutro rectificado- Mezcla Alcohólica*

Mientras que para calcular la cantidad de agua desmineralizada ( $V_A$ ) a añadir en el producto final se debe restar del volumen deseado en el producto final ( $V_D$ ) del volumen del producto destilado de yuca y zanahoria blanca ( $V_B$ ) junto con el volumen del alcohol neutro rectificado ( $V_C$ ); tal como se muestra en la siguiente ecuación.

$$V_A = V_D - V_B - V_C$$

*Ecuación 2: Obtención volumen agua desmineralizada - Mezcla Alcohólica*

- Envasado

El envasado de la bebida alcohólica tipo vodka se deberá realizar en botellas de vidrio de 750mL (presentación convencional en el mercado), este material evitará que exista migraciones de olores y sabores extraños del medio ambiente al producto y viceversa, además de que en este tipo de envases se conservan de mejor manera los aromas característicos que contiene el producto (Cervera, 2003).

## **Diseño Experimental**

Para el desarrollo de la bebida alcohólica destilada a partir de yuca y zanahoria blanca se estudiaron dos factores relevantes dentro del proceso del producto. El factor estudiado fue la cantidad de yuca y zanahoria blanca con la que se elaboró la bebida alcohólica, y el tiempo de cocción de la misma. Para lo cual, se aplicó un Diseño Factorial  $2^2$  con 3 puntos centrales (repeticiones), en donde se evaluaron 7 unidades experimentales por medio de un análisis de varianza ANOVA. En la Tabla 2 se muestra a detalle los factores con sus respectivos niveles y la variable de respuesta analizada.

La aplicación de un diseño factorial con puntos centrales permite conocer si los efectos de los factores estudiados siguen una relación de linealidad o si el modelo del diseño puede ser representado con una función cuadrática. Adicional a esto, los puntos centrales en un diseño factorial  $2^k$  permiten obtener una estimación independiente del error y permiten realizar réplicas en determinados puntos del diseño los mismos que ofrecerán protección contra la curvatura de los efectos de segundo orden; es decir, las réplicas en los puntos centrales no afectarán las estimaciones usuales de los efectos en este tipo de diseños (Montgomery, 2013).

**Tabla 2: Detalles del Diseño Experimental**

<b>Factor</b>	<b>Niveles</b>	<b>Variable de Respuesta</b>
Cantidad Yuca*	Bajo: 14,64%	Grados Brix del Mosto
	Central: 50%	
	Alto: 85,36%	
Tiempo de Cocción	Bajo: 32,93 minutos	
	Central: 40 minutos	
	Alto: 47,07 minutos	

\* Se completó con zanahoria blanca para llegar al 100% de mezcla.

Las 7 unidades experimentales se realizaron en distintos días pues la fermentación de la bebida alcohólica duró 2 días y al momento de realizar la destilación, los equipos no cuentan con grandes capacidades de volumen. En la tabla 3 se presenta la aleatorización de las unidades experimentales que fue utilizado para el desarrollo del diseño experimental.

**Tabla 3: Aleatorización de unidades experimentales**

<b>Número Corrida</b>	<b>Aleatorización</b>	<b>Cantidad de Yuca (%)*</b>	<b>Tiempo Cocción (min)</b>
1	1	14,64 Yuca	32,90
2	5 (C)	50,00 Yuca	40,00
3	2	14,64 Yuca	47,07
4	4	85,36 Yuca	47,07
5	7 (C)	50,00 Yuca	40,00
6	3	85,36 Yuca	32,93
7	6 (C)	50,00 Yuca	40,00

(C): representa los puntos centrales del diseño experimental.

\* La diferencia para el 100% será completado con Zanahoria Blanca

## **Análisis Físico - Químicos**

### **Determinación de Grados Brix**

La determinación de sólidos solubles se realizó mediante un refractómetro Fisher Scientific de 0° - 30°Brix por medio del método oficial de la Norma INEN-ISO 2173 (2013). El principio de esta medición se basa en el paso de luz a través de una concentración de solutos en el instrumento a 20°C, ya que el índice de refracción se correlaciona con la cantidad de sólidos solubles de la muestra. Para la determinación de sólidos solubles del producto que se elaboró, se colocó una gota sobre el cristal y se leyó el resultado en porcentaje de acuerdo a la marca producida por el instrumento (Kruss, 2013).

### **Análisis de Metanol**

El análisis de metanol en bebidas alcohólicas es de suma importancia ya que si estas bebidas presentaran altos niveles del compuesto podrían ocurrir riesgos para el consumidor como: intoxicación, afectaciones al sistema nervioso central, afectaciones oculares, afectaciones gastrointestinales o incluso la muerte (Roldán, Frauca, & Dueñas, 2003).

De acuerdo a la Norma INEN 0347 (2015) la determinación de metanol deber ser por espectrofotometría ultravioleta/visible (UV/VIS) en bebidas alcohólicas destiladas. La prueba se basa en la oxidación de metanol en metanal (formaldehído) por acción del permanganato de potasio en presencia de ácido fosfórico, el metanal reacciona en un medio ácido dado por el ácido cromotrópico formando un compuesto púrpura el mismo que será observado en el espectrofotómetro a 575nm (INEN 0347, 2015).

### **Determinación de Grado Alcohólico**

Para la determinación del grado alcohólico de la bebida alcohólica destilada a partir de yuca y zanahoria blanca se realizó por medio del método oficial de la Norma INEN 0340. El método consiste en realizar una destilación simple de la bebida alcohólica y determinar el contenido de alcohol etílico a partir de la lectura dada por un alcoholímetro calibrado a 20°C (INEN 0340, 2014).

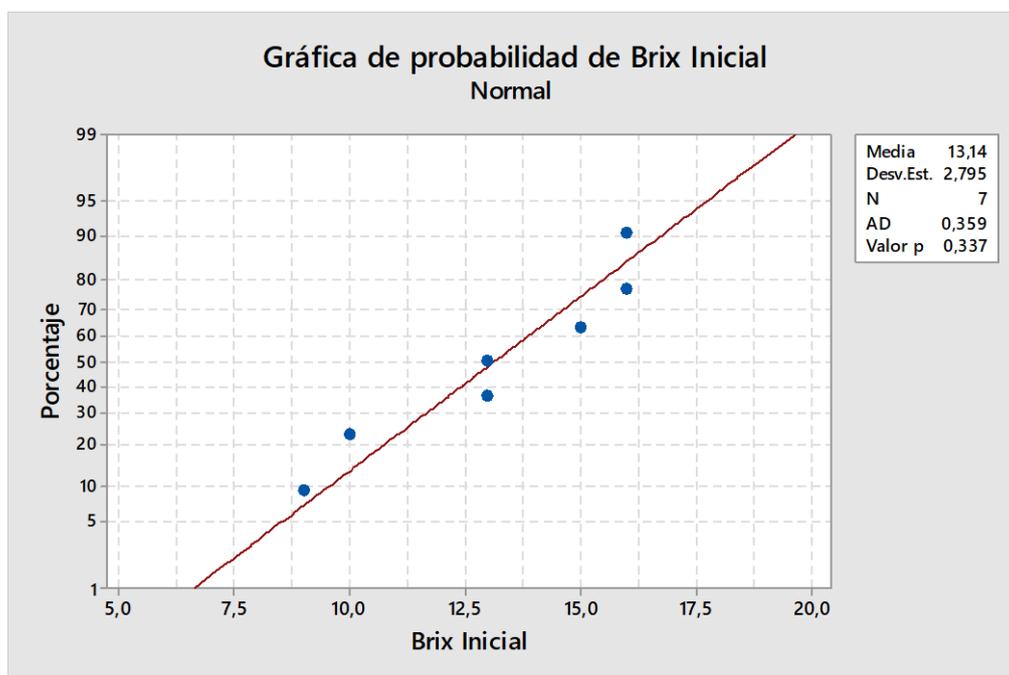
Cabe recalcar que el contenido de alcohol etílico es la relación entre el volumen del alcohol etílico o también llamado etanol contenido en una mezcla hidroalcohólica medido a una temperatura de 20°C y el volumen total de la mezcla medido a la misma temperatura, el grado alcohólico se expresa en porcentaje (INEN 0340, 2014).

## **RESULTADOS Y DISCUSIONES**

### **Resultados Diseño Experimental**

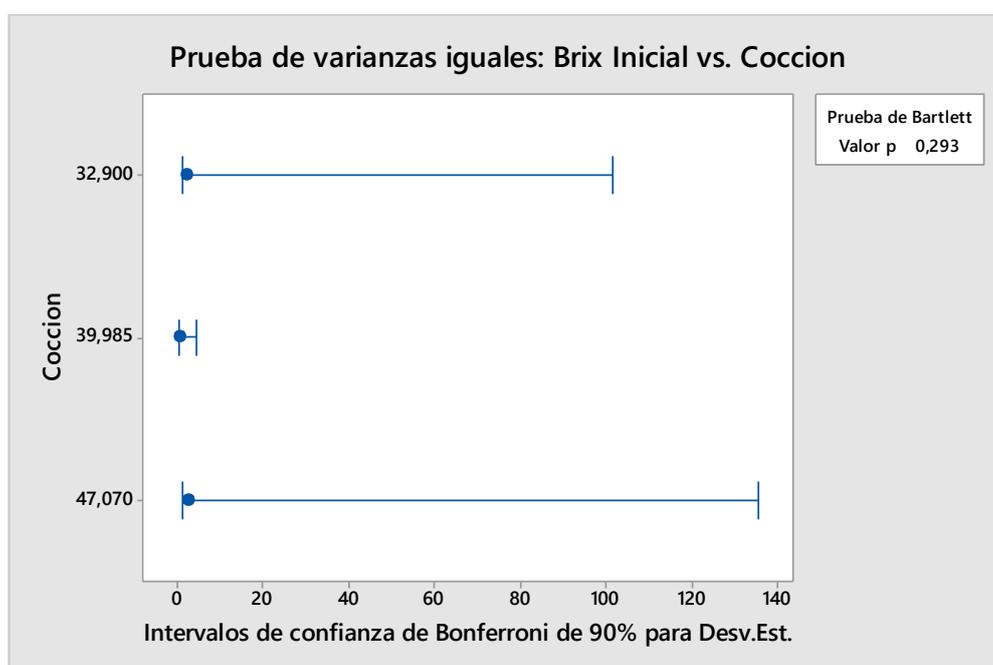
Para el análisis estadístico de este trabajo experimental se utilizó el programa estadístico MINITAB 17; además, se fijó un nivel de confianza del 90% ya que la elaboración de la bebida alcohólica destilada de yuca y zanahoria blanca presenta variabilidad en varias partes del proceso como: materia prima, acción de enzimas, destilación.

Antes de realizar el análisis de varianza (ANOVA) se realizaron las distintas pruebas de residuos para comprobar que los datos obtenidos cumplan con los tres supuestos que requiere el análisis de varianza para ser robusto. Para comprobar el supuesto de normalidad se realizó la prueba de Anderson – Darling el cual presenta un valor AD de 0,359 y un valor P de 0,337 (mayor al nivel de significancia de 0,10) el cual menciona que no existe suficiente evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula de que los datos siguen una distribución normal por lo que el supuesto de normalidad se cumple.



*Figura 2: Probabilidad Normal para Brix Inicial*

Para el caso del supuesto de igualdad de varianzas, al conocer que los datos siguen una distribución normal se realizó la prueba de Bartlett en donde el valor P para los dos factores es mayor al nivel de significancia propuesto (0,10) por lo que no existe suficiente evidencia estadística para rechazar la hipótesis nula de que en los datos existe igualdad de varianzas; el segundo supuesto de ANOVA se cumple.



*Figura 3: Igualdad de Varianzas para Brix Inicial vs. Factor Cocción*

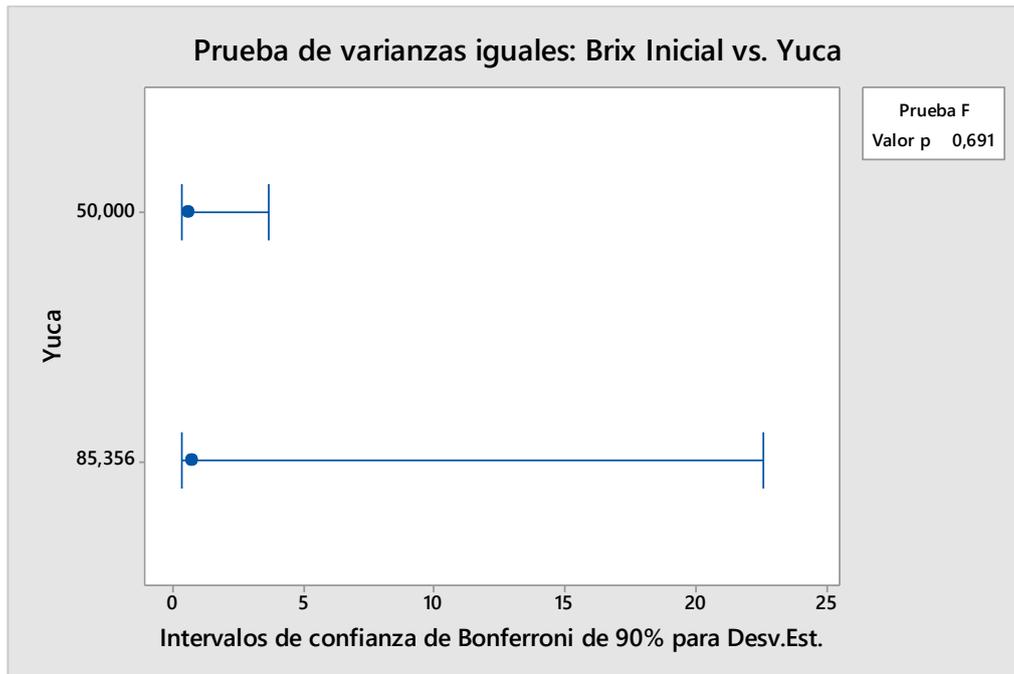


Figura 4: Igualdad de Varianzas para Brix Inicial vs. Factor Yuca

Para comprobar el tercer supuesto de ANOVA se realizó un análisis de autocorrelación en cual permite determinar si existe relación entre las observaciones del experimento. Al no tener rectas que sobrepasen los límites (líneas rojas) se comprueba que el experimento se dio de forma aleatoria y por lo tanto el supuesto de independencia se cumple.

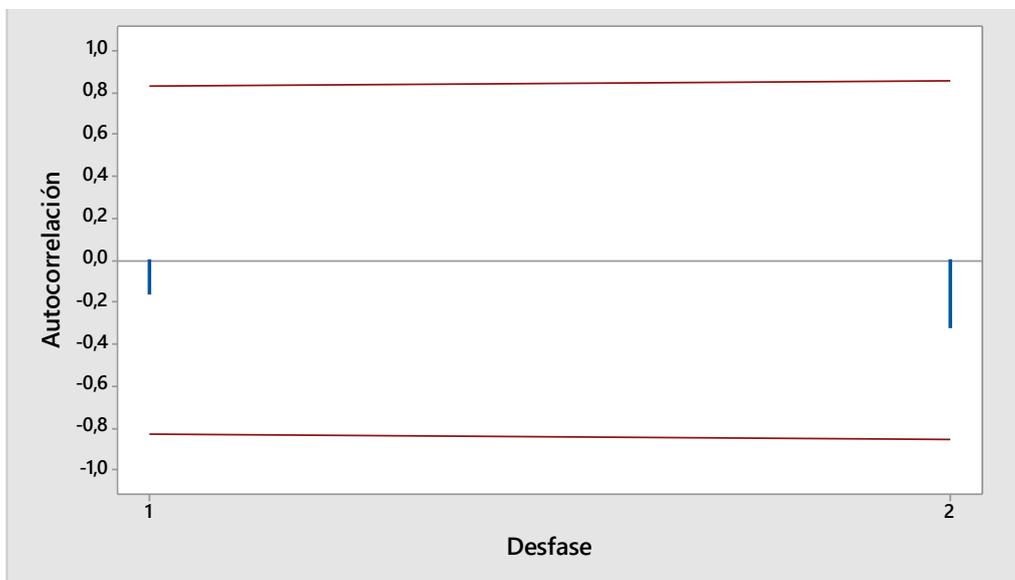


Figura 5: Autocorrelación para Brix Inicial

Una vez comprobado el cumplimiento de los tres supuestos que exige ANOVA, se puede asegurar que las conclusiones que se obtengan del análisis de varianza serán correctas y respaldadas por la teoría estadística detrás del análisis de varianza (Montgomery, 2013).

Siendo el valor P del porcentaje de yuca menor al nivel de significancia propuesto se concluye que esta variable produce un efecto significativo sobre la variable de respuesta. Por lo tanto, la cantidad de yuca y zanahoria blanca ejercen una influencia sobre los grados brix iniciales de la bebida alcohólica a un nivel de significancia del 0,10%. El diagrama de Pareto (ilustración 6) a continuación confirma que el factor yuca es estadísticamente diferente.

Para la fuente curvatura el valor P es menor al nivel de significancia (Valor P = 0,010) por lo que se concluye que por lo menos un factor tiene una relación curva con la respuesta.

En cuanto al resumen del modelo se obtuvo un valor S de 0,577350, valor que permite evaluar qué tan bien el modelo describe la respuesta; el valor bajo de S menciona que tan bueno será descrita la respuesta por el modelo en este estudio. Además, se obtuvo un R-cuadrado del 98,58% que describe un buen ajuste del modelo a los datos.

**Tabla 4:** *Análisis de Varianza para Grados Brix Inicial*

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajustados</b>	<b>MC Ajustados</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor P</b>
Modelo	4	46,1905	11,5476	34,64	0,028
Lineal	2	12,5000	6,2500	18,75	0,051
Porcentaje Yuca (A)	1	12,2500	12,2500	36,75	0,026
Tiempo Cocción (B)	1	0,2500	0,2500	0,75	0,478
Interacciones de 2 factores	1	0,2500	0,2500	0,75	0,478
A*B	1	0,2500	0,2500	0,75	0,478
Curvatura	1	33,4405	33,4405	100,32	0,010
Error	2	0,6667	0,3333		
Total	6	46,8571			

**Tabla 5: Resumen del Modelo del Análisis de Varianza para Grados Brix Inicial**

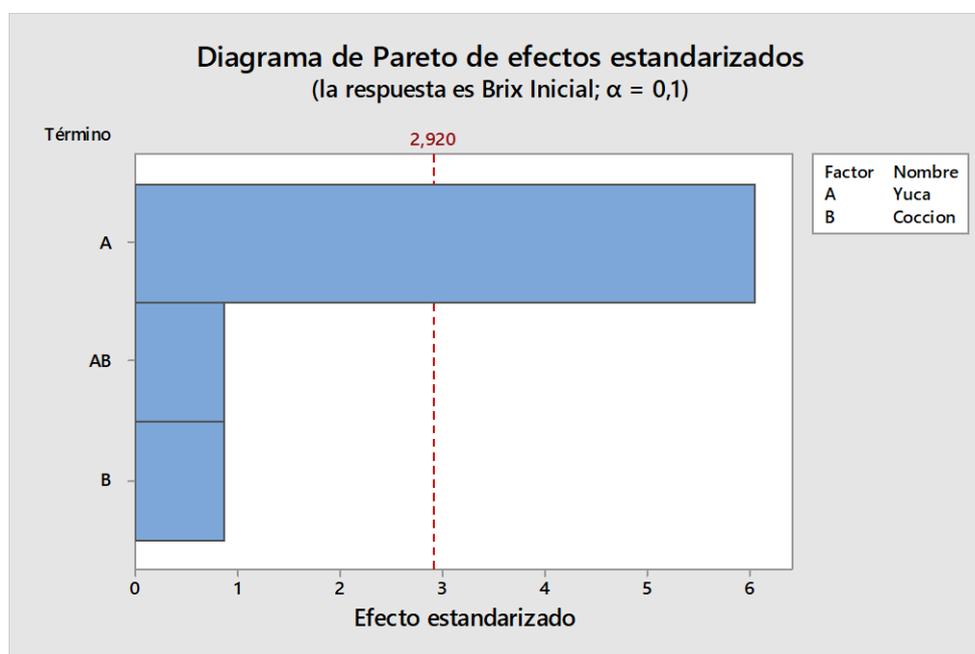
S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)
0,577350	98,58%	95,73%

**Tabla 6: Coeficientes Codificados**

Término	Efecto	Coefficiente	EE del Coeficiente	Valor T	Valor P	VIF
Constante		11,250	0,289	38,97	0,001	
Yuca	-3,500	-1,750	0,289	-6,06	0,026	1,00
Cocción	-0,500	-0,250	0,289	-0,87	0,478	1,00
Yuca*Cocción	-0,500	-0,250	0,289	-0,87	0,478	1,00
Punto Central		4,417	0,441	10,02	0,010	1,00

Brix Inicial=13,14-0,0096 Yuca+0,0146 Cocción-0,00100 Yuca\*Cocción+4,417 Punto Central

*Ecuación 3: Ecuación de regresión en unidades no codificadas*

**Figura 6: Diagrama de Pareto para Brix Inicial**

Siendo el porcentaje de yuca el único factor estadísticamente significativo se observa que en la ilustración 7 el punto central (50% yuca, 40 minutos de cocción) proporciona mayor cantidad de grados brix iniciales del mosto con respecto a los demás tratamientos estudiados.

Con este diseño se puede estudiar si existe o no relación entre el porcentaje de yuca (fuente de almidón) y el tiempo de cocción (factor que influye en gelatinización) para obtener el mayor grado Brix inicial del mosto, de manera eficiente. Cómo se observó en la ilustración 7, el punto central (50% de yuca, 40 minutos) es el tratamiento que mayor grados brix proporciona al mosto. Los resultados indican que solo el porcentaje de yuca afecta significativamente y ya que el mayor grado brix se da cuando se utiliza 50% de yuca, esta es la cantidad óptima para el proceso. Por otro lado, a pesar de que las corridas 2 y 4 utilizan aproximadamente 85% de yuca, su grado de Brix es menor. Esto puede entenderse porque al haber más materia pero con el resto de factores como la temperatura de cocción constante en todos los tratamientos, el punto de gelatinización no se alcanzó y es lo que se refleja en el brix inicial (Lund & Lorenz, 2009).

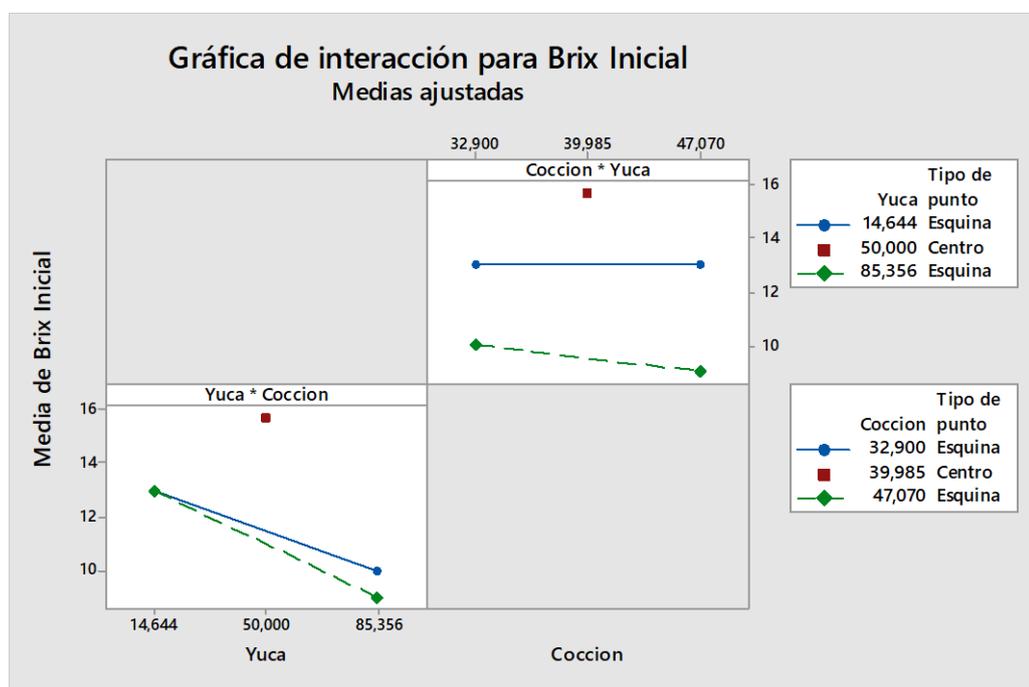
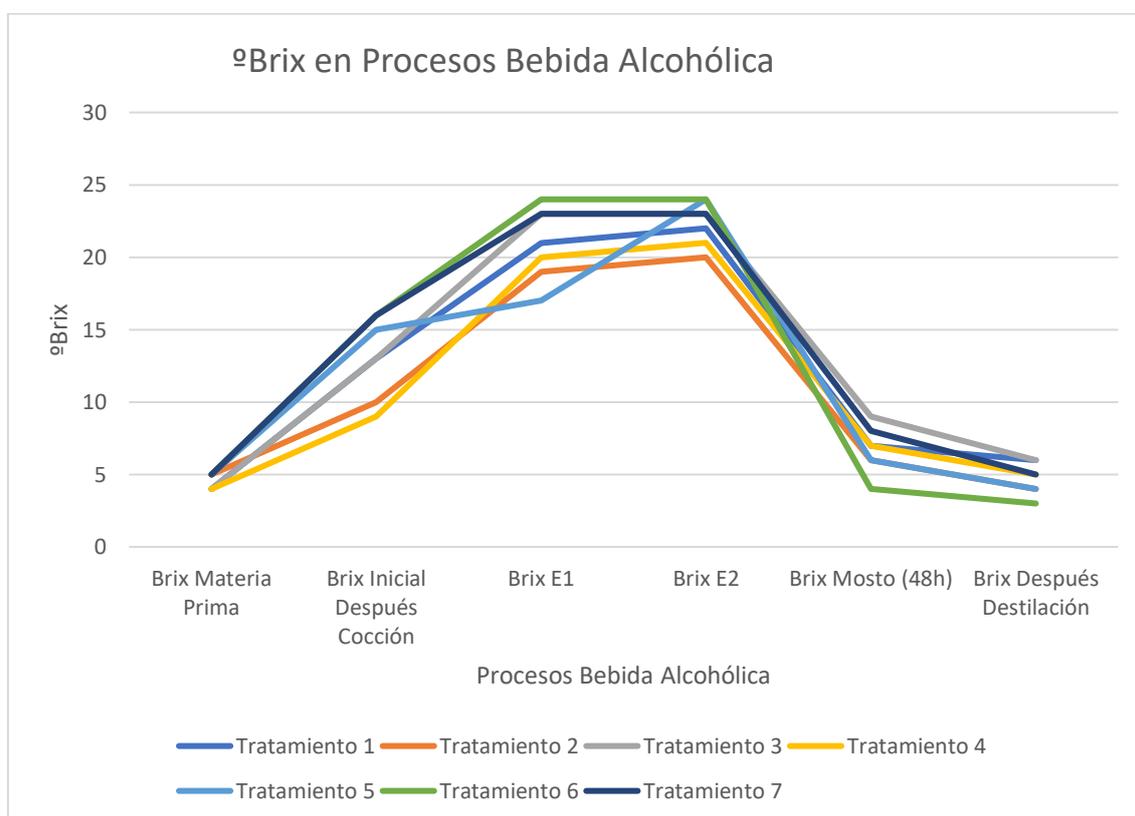


Figura 7: Gráfica de Interacción para Brix Inicial

Además de los resultados obtenidos en el diseño experimental, se realizó la ilustración 8 que permite observar la variación de grados Brix en los procesos de la elaboración de la bebida alcohólica destilada. La ilustración 8 muestra que después de

la cocción de las raíces la cantidad de brix aumenta a aproximadamente el doble con respecto a la cantidad de brix que tienen las materias primas crudas. El siguiente proceso en el que la cantidad de brix aumenta considerablemente es después de la adicción de las enzimas  $\alpha$ -amilasas las cuales rompen los enlaces glicosídicos  $\alpha$  1-4 para producir maltosa, oligosacáridos de diferentes tamaños y dextrinas. Por último, las glucoamilasas liberan las moléculas de glucosa de estos oligosacáridos (Herrera & Meers, 2013).

A los dos días de fermentación (48h) la cantidad de sólidos solubles disminuye en promedio 70%; que permiten corroborar que las levaduras consumen este porcentaje de azúcares presentes en el mosto para la producción de alcohol.



*Figura 8: Comportamiento de Grados Brix durante elaboración producto*

## Análisis de Metanol

Este análisis es de suma importancia debido a la toxicidad del compuesto. Existen reportes en todo el mundo de intoxicaciones y muertes a causa de la ingesta del mismo en bebidas alcohólicas. En el 2014 se reportaron brotes de intoxicación en Kenia, Turquía, Ecuador, Noruega y demás. Según la Organización Mundial de la Salud (WHO) pasados los 500mg/l de metanol en la sangre se puede dar una intoxicación severa, los síntomas incluyen debilidad, pérdida de conciencia, ceguera, vómito y demás; y niveles sobre 1500mg/l, la muerte. Sin embargo, se ha reportado que muchos de estos casos se han dado por adulteración de las bebidas con metanol para abaratar costos, y no por formación natural del compuesto (Ohimain, 2016).

Hay varios procesos por los cuales se produce el metanol, el más antiguo y complejo es por destilación de la madera. Pero también se puede producir durante la fermentación alcohólica. A pesar de que en este proceso participan las levaduras *S. cerevisiae*, si hubiera otros organismos productores de metanol presentes podría verse formación de metanol y otros compuestos. Se ha observado también que sustratos ricos en pectina durante la fermentación pueden resultar en la formación de metanol. La presencia de metanol se ha observado en bebidas fermentadas elaboradas a partir de banano, ciruela, mangos y pera (Ohimain, 2016).

Existen diferentes metodologías para detectar la cantidad de metanol en bebidas alcohólicas, incluso pruebas instantáneas que detectan niveles bajos de metanol. Por cuestión de tiempo y disponibilidad de reactivos en este estudio se envió una muestra a un laboratorio externo para que se realice la prueba. Según la Norma INEN 369 el nivel máximo de metanol permitido en Vodka es de 10mg/100cm<sup>3</sup>; y el resultado dio menor a 2mg/100cm<sup>3</sup> (véase el Anexo I). Aun así, este análisis debe ser realizado en cada lote para garantizar que el producto es seguro para consumir.

## **Análisis Sensorial**

En lo que se refiere a la evaluación sensorial de la bebida alcohólica destilada, se propone a continuación dos tipos. El método va a depender de lo que se desee estudiar, o del enfoque que se le quiera dar al producto en el mercado; por ejemplo: un bebida comercial menos costosa o una bebida de alta calidad con un mayor costo.

### **Consumidores**

Para el caso de recibir la retroalimentación y opinión de los consumidores del producto se desarrollarán pruebas de preferencia con escalas hedónicas, las mismas que permiten traducir las preferencias de las personas que lo van a adquirir y la aceptación global que tendrán en relación al producto en atributos bien definidos (Ramírez - Navas, 2012).

En el análisis sensorial, se aplicará el uso de una escala hedónica textual de 7 puntos para conocer el nivel de agrado y el grado de aceptación que tienen los consumidores frente a la bebida alcohólica destilada de yuca y zanahoria blanca; la aceptabilidad de un producto en la mayoría de los casos indica el uso real del producto, es decir, su compra y consumo (Watts, Ylimaki, Jeffery, & Elias, 1989).

Para un mejor análisis estadístico posterior se sugiere que se evalúen dos muestras: la bebida alcohólica destilada de yuca y zanahoria blanca con un producto del mercado con características similares al producto realizado; se recomienda comparar la muestra con el vodka Iceland el cual contiene alcohol a base de cereales. Los dos productos a evaluar se deberán diluir con jugo de uva (relación 1:1) el cual será el vehículo para que el consumidor evalúe las muestras; estas se servirán a 4°C en volúmenes de 30mL (Tepepa & López, 2012). El utilizar el jugo de uva como vehículo a dicha temperatura permite que

se presente el producto en condiciones similares a las que normalmente el consumidor lo hará con el producto (vodka) (Espinosa, 2007).

La ejecución de la evaluación sensorial se realizará a 70 personas entre hombres y mujeres en cabinas individuales que tengan buena iluminación, paredes de color neutro (blanco o blanco hueso), adecuada ventilación y libre de ruidos molestos; factores que ayudarán a disminuir las variaciones de errores y a mejorar la sensibilidad en la prueba realizada (Domínguez, 2007).

Por otro lado, las muestras deberán estar codificadas con tres números aleatorios para evitar cualquier tipo de tendencia del consumidor hacia alguna muestra. Estas deberán ser presentadas en recipientes idénticos (vasos pequeños de polipropileno transparentes) colocados en bandejas de poliestireno junto con servilletas y un vaso de agua que permitirá limpiar el paladar entre cada muestra. A cada consumidor se le entregará un cuestionario en el cual deberá evaluar en parámetros como: olor, sabor, apariencia y una aceptación general del producto. Dentro del cuestionario se puede incluir una pregunta de intención de compra para tener una opinión directa del cliente sobre el producto, posible demanda que tendrá el producto (Ramírez - Navas, 2012).

Previo a la entrega de las muestras se deberá presentar un consentimiento informado a cada uno de los evaluadores para asegurar que el producto (vodka) no producirá ningún tipo de mal estar a quienes desarrollen la prueba y que confirman ser mayores de edad; en la sección de anexos se exponen el consentimiento informado y el cuestionario propuesto (anexo F y G).

### **Jueces Entrenados**

Cuando se habla de bebidas alcohólicas, la bebida más estudiada ha sido el vino debido a que sus atributos son un indicio de calidad y por lo tanto reconocimiento y costo. Sin embargo, en la actualidad se realiza cata de cerveza y de bebidas espirituosas donde se evalúa, al igual que en el vino, olor, color y sabor (Carmer, 2011). Para la evaluación del producto de estudio se sugiere realizar una prueba descriptiva la cual provee una descripción completa del producto y permite determinar correlaciones entre ingredientes y variables en procesos de producción mediante el análisis de diferentes atributos. Dado al tipo de análisis la evaluación debe ser realizada por jueces entrenados (Da Silva, y otros, 2014). Productos como vodka u otras bebidas espirituosas son altamente purificadas y con pocos aromas, pero por esto mismo el alcohol en el producto puede afectar la detección de las características de los atributos. Así, esta prueba debe ser realizada por panelistas entrenados y entre más panelistas participen, se reduce el error que puedan cometer sobretodo porque el contenido de alcohol puede cansar a los sentidos y afectar los resultados (O'Sullivan, 2017). Se sugiere que participen 10 panelistas en este tipo de evaluaciones (Délérise, y otros, 2014).

Algunos autores sugieren que al igual que con el vino, se debe evaluar el color del producto donde lo característico en las bebidas espirituosas es su transparencia. Para identificar la calidad del producto se inicia oliendo el destilado en un vaso con gran espacio de cabeza cubierto para retener compuestos volátiles, donde al destaparlo estos se van a liberar. Después se prueba el producto donde se detecta la sensación en la boca y sabores desagradables, los cuales son comunes en destilados de baja calidad. El producto debe estar a temperatura ambiente (20 °C) dado que el calor puede provocar la liberación de compuestos aromáticos, y una temperatura baja puede hacerlos difícil de detectar (O'Sullivan, 2017). Y las mismas condiciones en cuanto a la temperatura del

ambiente, cabinas y ventilación mencionadas en la evaluación con consumidores, debe cumplirse.

En particular, para realizar la evaluación con el olfato la muestra debe la bebida espirituosa diluida con agua a un nivel de 20-23% abv en copas de vidrio transparentes tapadas, pero para la prueba de sabor se debe servir 5mL en vasos de 70mL de capacidad a temperatura ambiente (Délérise, y otros, 2014). En bebidas como whisky o ron, las cuales son añejadas para obtener aromas y color, se evalúa la intensidad y el tipo de aroma presente (O'Sullivan, 2017). Sin embargo, en el vodka dado que es una bebida espirituosa neutra altamente destilada, el sabor que más se destaca debe ser el de alcohol (Palmer, 2004). El producto no debe tener ningún olor o sabor desagradable (cómo acetona, mantequilla, sudado, etc.), o color ya que después de la destilación el producto es filtrado lo cual deja un producto limpio; se puede dar la excepción cuando el producto es intencionalmente saborizado o añadido colorante pero este no es el caso (Hayman, 2003).

En la plantilla de evaluación (Anexo H) se califica la intensidad de los atributos a evaluar cómo la transparencia del producto, el olor a etanol, olores desagradables, el sabor a etanol, el sabor de sabores desagradables y sensación en la boca en lo que se refiere a sensación que quema; que son los principales atributos de interés.

## CONCLUSIONES

Se elaboró una bebida alcohólica destilada tipo vodka con grado alcohólico de 39% abv a partir de yuca y zanahoria blanca.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de varianza el tratamiento que proporciona mayor cantidad de grados brix iniciales (mosto) es el que contiene 50% yuca y 50% zanahoria blanca con un tiempo de cocción de 40 minutos.

El aumento significativo de los sólidos solubles después de la adicción de la enzima GAMALPHA SPEZIAL (alfa amilasas) está dado gracias a la gelatinización de los almidones contenidos en la yuca y zanahoria blanca.

En promedio, a los dos días de fermentación (48h) la cantidad de sólidos solubles disminuye en 70%; consumo constante de azúcares simples por parte de las levaduras.

## RECOMENDACIONES

Para obtener un producto de mayor calidad se recomienda realizar dos o más destilaciones del mosto con el objeto de reducir la cantidad de aldehídos y cetonas en el producto final.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el diseño experimental se recomienda realizar otro diseño experimental añadiendo puntos axiales para observar de mejor manera el comportamiento de los factores con respecto a la variable de respuesta.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ajibola , F., Edema, M., & Oyewole, O. (2012). Enzymatic Production of Ethanol from Cassava Starch Using Two Strains of *Saccharomyces cerevisiae*. *Nigerian Food Journal*, 20, 114-121.
- Barnett, J. (2003). *A history of research on yeasts 5: the fermentation pathway*. School of Biological Sciences, University of East Anglia. Norwich: Wiley InterScience
- Buchi. (2012). *Manual de instrucciones Rotavapor RII*. Recuperado el 27 de Febrero de 2018, de Equipar: [http://www.equipar.com.mx/web2012/wp-content/uploads/2012/info\\_man/buchi/Manual\\_Operacion\\_RII.pdf](http://www.equipar.com.mx/web2012/wp-content/uploads/2012/info_man/buchi/Manual_Operacion_RII.pdf)
- Carmer, A. (2011). *CSTEM: An Evolution in the Sensory Evaluation of Alcoholic Beverages (In Consideration of a Modern Alternative to the Traditional Alcohol Spirits Tasting Method)*. University of Nevada, University Libraries. Las Vegas: UNLV eses, Dissertations, Professional Papers, and Capstones.
- Cervera, Á. (2003). *Envase y Embalajes, La Venta Silenciosa*. Madrid: ESIC.
- Clementz, A., Aimeretti, N., Manuale, D., Codevilla, A., & Yori, J. (2014). Optimization of ethanol fermentation from discarded carrots using immobilized *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal Energy Environmental Engineering*, 6.
- Collares, R. M. (2012). Optimization of enzymatic hydrolysis of cassava to obtain fermentable sugars\*. *Journal of Zhejiang University*.
- Collares, R. M., Miklasevicius, L. V., Bassaco, M. M., Salau, N. P., Mazutti, M. A., Bisognin, D. A., & Terra, L. M. (2012). Optimization of enzymatic hydrolysis of cassava to obtain fermentable sugars . *Journal of Zhejiang University Science B*.
- CORPEI. (2009). *Perfil de yuca*. Obtenido de Centro de Información e Inteligencia Comercial: <http://www.pucesi.edu.ec/pdf/yuca.pdf>
- Cruz, K. (2012). *Modelado del proceso de hidólisis enzimática de almidones gelatinizados del fruto de la planta de banano*. Recuperado el 3 de Febrero de 2018, de Universidad Nacional de Colombia: <http://www.bdigital.unal.edu.co/7435/1/73007073.2012.pdf>
- Da Silva, P., Casemiro, R., Zillo, R., de Camargo, A., Prospero, E., & Spoto, M. (2014). Sensory descriptive quantitative analysis of unpasteurized and pasteurized juçara pulp (*Euterpe edulis*) during long-term storage. *Food Science & Nutrition*, 321-331.
- Délérissa, I., Saint-Evea, A., Liebena, P., Cyprianib, M., Jacquetb, N., Brunerieb, P., & Souchona, I. (2014). Impact of Swallowing on the Dynamics of Aroma Release

and Perception During the Consumption of Alcoholic Beverages. En *Flavour Science* (págs. 533–537). Elsevier.

Domínguez, M. R. (2007). *Guía para la Evaluación Sensorial de Alimentos*. Lima: AgroSalud.

El Agro. (2016). Raíces y tubérculos fundamental para la alimentación. *Revista El Agro*.

Espinosa, J. (2007). *Evaluación Sensorial de los Alimentos*. Habana: Editorial Universitaria.

FUNIBER. (2005). *Base de Datos Internacional de Composición de Alimentos - Zanahoria Blanca*. Recuperado el 25 de Febrero de 2018, de Fundación Universitaria Iberoamericana:  
<https://www.composicionnutricional.com/alimentos/ZANAHORIA-BLANCA-5>

Hahn, S., Reynolds, L., & Egbunike, G. (1988). *Cassava as livestock feed in Africa*. International Institute of Tropical Agriculture. Ibadan: Food and Agriculture Organization.

Hayman, C. (2003). Vodka. En *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition (Second Edition)*. Essex: Hayman Limited.

Hernández, J., & León, J. (1994). *Neglected crops 1492 from a different perspective*. Roma: FAO.

Hernández-Medina, M., Torruco-Uco, J. G., Chel-Guerrero, L., & Betancur-Ancona, D. (2008). Caracterización fisicoquímica de almidones de tubérculos cultivados en Yucatán, México. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 28(3), 718-726.

Herrera, Á., & Meers, R. (2013). *Diseño de las etapas de hidrólisis de almidón y fermentación para producir bioetanol basado en la respuesta dinámica del sistema*. Recuperado el 3 de Febrero de 2018, de Universidad de Cartagena:  
<http://190.242.62.234:8080/jspui/bitstream/11227/67/1/DISE%20C3%91O%20DE%20LAS%20ETAPAS%20DE%20HIDR%20C3%93LISIS%20DE%20ALMID%20C3%93N%20Y%20FERMENTACI%20C3%93N%20PARA%20PRODUCIR%20BIOETANOL%20BASADO%20EN%20LA.pdf>

INEN 0340. (2014). *Bebidas Alcohólicas, Determinación del contenido de alcohol etílico. Método Alcoholimétrico (Gay-Lussac)*. Obtenido de Norma Técnica Ecuatoriana.

INEN 0347. (2015). *Bebidas Alcohólicas. Determinación de Metanol*. Obtenido de Norma Técnica Ecuatoriana.

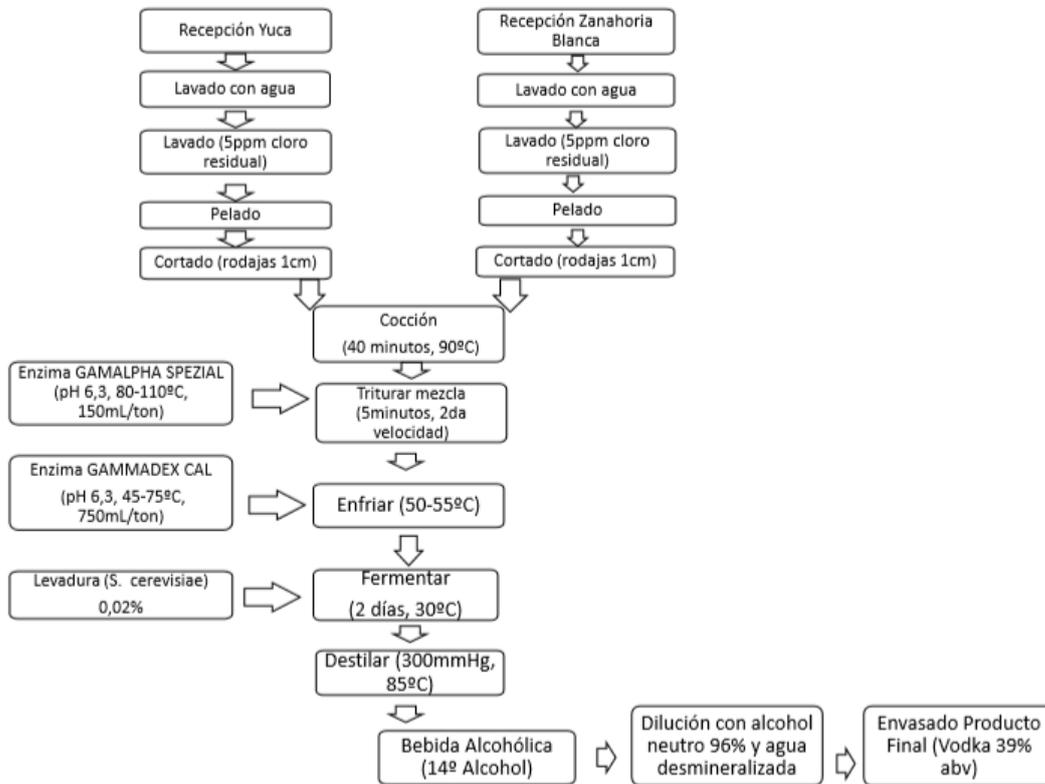
INEN 0369. (2015). *Bebidas Alcohólicas. Vodka. Requisitos*. Obtenido de Norma Técnica Ecuatoriana.

- INEN-ISO 2173. (2013). *Determinación de sólidos solubles- Método Refractómetro*. Recuperado el 28 de Abril de 2018, de Norma Técnica Ecuatoriana: [http://181.112.149.203/buzon/normas/nte\\_inen\\_iso\\_2173\\_extracto.pdf](http://181.112.149.203/buzon/normas/nte_inen_iso_2173_extracto.pdf)
- INIAP. (2016). *INIAP fortalece investigación de cultivo de yuca*. Obtenido de Ministerio de Agricultura y Ganadería: <http://www.agricultura.gob.ec/iniap-fortalece-investigacion-de-cultivo-de-yuca/>
- INIAP. (15 de 07 de 2016). *La yuca, uno de los rubros más importante para la soberanía alimentaria*. Recuperado el 11 de 02 de 2018, de Comunicamos: <http://www.iniap.gob.ec/web/la-yuca-uno-de-los-rubros-mas-importante-para-la-soberania-alimentaria/>
- Kitinoja, L., & Kader, A. (1995). *Manual de prácticas de manejo postcosecha de los productos hortofrutícolas a pequeña escala*. California: Universidad de California.
- Kruss. (2013). *Refractómetro - Medición Brix en la Industria de Bebidas y Zumos*. Recuperado el 4 de Noviembre de 2017, de Kruss Optronic GmbH: [http://www.kruss.com/documents/Applikationsberichte/AP130710\\_001\\_Medicion\\_Brix\\_en\\_la\\_industria\\_de\\_bebidas\\_ES.pdf](http://www.kruss.com/documents/Applikationsberichte/AP130710_001_Medicion_Brix_en_la_industria_de_bebidas_ES.pdf)
- Lund, D., & Lorenz, K. (2009). Influence of time, temperature, moisture, ingredients, and processing conditions on starch gelatinization. *C R C Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- MAGAP. (Julio de 2017). *Boletín Agrícola Integral - Nacional*. Obtenido de Ministerio de Agricultura y Ganadería: <http://sinagap.agricultura.gob.ec/index.php/productos/boletines-agroeconomicos/boletines-tematicos-nacionales/file/3172-julio-2017>
- Martín, J., & López, E. (2009). Modificación física del almidón de yuca y evaluación de la susceptibilidad a la hidrólisis enzimática por una alfa amilasa. *Revista Colombiana de Química*, 38(3), 395-408.
- Mazón, N., Castillo, R., Hermann, M., & Espinosa, P. (1996). *La zanahoria blanca o arracacha (Arracacia xanthorrhiza Bancroft) en Ecuador*. Obtenido de International Potato Center: <http://cipotato.org/library/pdfdocs/RTA51582.pdf>
- Montgomery, D. (2013). *Diseño y Análisis de Experimentos*. Arizona: Limusaa Wiley.
- Morgan, N., & Choct, M. (2016). Cassava: Nutrient composition and nutritive value in poultry diets. *Animal Journal*, 2, 253-261.
- Ohimain, E. (2016). Methanol contamination in traditionally fermented alcoholic beverages: the microbial dimension. *SpringerPlus*.

- OPS. (2013). *Manual de Capacitación para Manipuladores de Alimentos*. Recuperado el 26 de Febrero de 2018, de Organización Panamericana de la Salud: <http://www1.paho.org/hq/dmdocuments/manual-manipuladores-alimentos.pdf>
- O'Sullivan. (2017). Sensory Properties of Beverage Products (Alcoholic and Nonalcoholic). En *A Handbook for Sensory and Consumer-Driven New Product Development* (págs. 281-304). Woodhead Publishing Series in Food Science, Technology and Nutrition.
- Palmer, G. (2004). Beverages- Distilled. En *Encyclopedia of Grain Science* (págs. 96-108). Edinburg: Elsevier Ltd.
- Pervez, S. A. (2014). Saccharification and liquefaction of cassava starch: an alternative source for the production of bioethanol using amylolytic enzymes by double fermentation process. *BMC Biotechnology*.
- Pisco, I. (Marzo de 2016). Alimentos y Bebidas: Industrialización y crecimiento económico. *Industrias Ecuador*, 2, 18.
- Ramírez - Navas, J. S. (2012). *Análisis Sensorial: Pruebas Orientadas al Consumidor*. Cali: Universidad del Valle . Obtenido de Universidad del Valle.
- Roldán, J., Frauca, C., & Dueñas, A. (2003). Intoxicación por alcoholes. *ANALES Sis San Navarra*, 26(1), 129- 139.
- Scott, G., Rosegrant, M., & Ringler, C. (2000). *Raíces y Tubérculos para el siglo 21, Tendencias, Proyecciones y Opciones de Política*. Lima: IFPRI.
- Smith, M., & Morton, D. (2010).  $\alpha$ -Amylases. En M. Smith, & D. Morton, *DIGESTION AND ABSORPTION*.
- Tepepa, A. C., & López, D. (2012). Evaluación Organoléptica del Vodka. *Instituto Tecnológico del Altiplano de Tlaxcala*.
- Watts, B. M., Ylimaki, G., Jeffery, L. E., & Elias, L. G. (1989). Basic sensory methods for food evaluation. *International Development Research Center*, 170.
- Yang, S., Liu, X., & Zhang, Y. (2007). Chapter 4 – Metabolic Engineering – Applications, Methods, and Challenges. En S. Yang, X. Liu, & Y. Zhang, *Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources*.
- Zavala, R. (2015). *El impuesto a los consumos especiales (ICE) aplicado a las bebidas alcohólicas en Ecuador, caso: cervezas (2008-2013)*. Recuperado el 29 de Octubre de 2017, de Universidad de Guayaquil: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/7036/1/TESIS%20ROXANA%20ZAVALA%20.pdf>

## ANEXOS

### Anexo A. Flujograma del producto



## Anexo B. Ficha Técnica GAMALPHA SPEZIAL



### GAMALPHA SPEZIAL

Thermostable alpha-amylase enzyme for brewing & distilling

#### PRODUCT DESCRIPTION

GAMALPHA SPEZIAL is a concentrated liquid formulated thermostable bacterial alpha-amylase enzyme for starch degradation. In most cases of industrial liquefaction, GAMALPHA SPEZIAL does not require additional calcium. Due to the fast hydrolysis of gelatinised starch and the formation of water soluble dextrans, a rapid viscosity reduction of starch suspension is achieved. GAMALPHA SPEZIAL is produced by controlled fermentation of a genetically modified strain of *Bacillus licheniformis*.

#### PRODUCT CHARACTERISTICS

GAMALPHA SPEZIAL has the following characteristics & specifications:

- Liquid formulation.
- Composition: water, alpha-amylase, sorbitol, potassium sorbate, sodium chloride, calcium chloride, methyl paraben.
- Brown colour and characteristic odour.
- Activity: Minimum 200,000 TAU/g. A method of analysis is available on request.
- IUB: 3.2.1.1
- CAS: 9000-90-2

GAMALPHA SPEZIAL complies with the recommended specifications of the FAO/WHO's Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemicals Codex (FCC) for food-grade enzyme preparations.

#### APPLICATION

GAMALPHA SPEZIAL is used for the rapid viscosity reduction during liquefaction of starch before hydrolysis with saccharifying enzymes.

In **brewing**, GAMALPHA SPEZIAL is used for the liquefaction of adjuncts and is added to the cereal cooker before raising the temperature by 1.5 °C / min until cooking temperature is reached.

In **distilling**, GAMALPHA SPEZIAL is used at batch or continuous processes. GAMALPHA SPEZIAL is added at the mill or in the mashing tub. In high pressure procedures, GAMALPHA SPEZIAL is added after blowing at a temperature of 90-100 °C. Afterwards, the mash is cooled to the saccharification temperature without any specified liquefaction rest.



## GAMALPHA SPEZIAL

Thermostable alpha-amylase enzyme for brewing & distilling

### PRODUCT DESCRIPTION

GAMALPHA SPEZIAL is a concentrated liquid formulated thermostable bacterial alpha-amylase enzyme for starch degradation. In most cases of industrial liquefaction, GAMALPHA SPEZIAL does not require additional calcium. Due to the fast hydrolysis of gelatinised starch and the formation of water soluble dextrans, a rapid viscosity reduction of starch suspension is achieved. GAMALPHA SPEZIAL is produced by controlled fermentation of a genetically modified strain of *Bacillus licheniformis*.

### PRODUCT CHARACTERISTICS

GAMALPHA SPEZIAL has the following characteristics & specifications:

- Liquid formulation.
- Composition: water, alpha-amylase, sorbitol, potassium sorbate, sodium chloride, calcium chloride, methyl paraben.
- Brown colour and characteristic odour.
- Activity: Minimum 200,000 TAU/g. A method of analysis is available on request.
- IUB: 3.2.1.1
- CAS: 9000-90-2

GAMALPHA SPEZIAL complies with the recommended specifications of the FAO/WHO's Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemicals Codex (FCC) for food-grade enzyme preparations.

### APPLICATION

GAMALPHA SPEZIAL is used for the rapid viscosity reduction during liquefaction of starch before hydrolysis with saccharifying enzymes.

In **brewing**, GAMALPHA SPEZIAL is used for the liquefaction of adjuncts and is added to the cereal cooker before raising the temperature by 1.5 °C / min until cooking temperature is reached.

In **distilling**, GAMALPHA SPEZIAL is used at batch or continuous processes. GAMALPHA SPEZIAL is added at the mill or in the mashing tub. In high pressure procedures, GAMALPHA SPEZIAL is added after blowing at a temperature of 90-100 °C. Afterwards, the mash is cooled to the saccharification temperature without any specified liquefaction rest.

## Anexo C. Ficha Técnica GAMMADEX CAL



# GAMMADEX CAL

**Glucoamylase enzyme for brewing, distilling & fruit juice production**

### PRODUCT DESCRIPTION

GAMMADEX CAL is a liquid formulated fungal glucoamylase (amyloglucosidase) enzyme for starch degradation. GAMMADEX CAL is an exo-amylase and hydrolyses alpha-1,4- as well as alpha-1,6-glycosidic linkages from the non-reducing end of liquefied starch and dextrans, thereby releasing glucose. GAMMADEX CAL is produced by controlled fermentation of a classical strain of *Aspergillus niger*.

### PRODUCT CHARACTERISTICS

GAMMADEX CAL has the following characteristics & specifications:

- Liquid formulation.
- Composition: water, glucoamylase, glucose, potassium sorbate, sodium chloride, sodium benzoate
- Brown colour and characteristic odour.
- Density: ~1.14 g/ml.
- Activity: Minimum 500 GAU/g. A method of analysis is available on request.
- IUB: 3.2.1.3
- CAS: 9032-08-0

GAMMADEX CAL complies with the recommended specifications of the FAO/WHO's Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemicals Codex (FCC) for food-grade enzyme preparations.

### APPLICATION

In **brewing**, GAMMADEX CAL may be used both in the brew house and in the fermenter, in order to reach the desired attenuation, or to reduce the level of residual carbohydrate. If GAMMADEX CAL is used in the brew house, then a prolonged saccharification is recommended of 2-4 hours at temperatures of 60-65 °C. When using GAMMADEX CAL in the fermenter, no special measures need to be taken.

In **distilling**, GAMMADEX CAL is used to hydrolyse dextrans to fermentable sugars in cereal- and potato mashes, that have been liquefied. GAMMADEX CAL is added to the liquefied mash at a temperature of ca. 55 °C. A saccharification rest however is not required as saccharification will continue during fermentation, even at reduced reaction rate.

In **fruit juice** production, GAMMADEX CAL is used for the starch degradation in pome juices. Complete degradation of starch prevents hazes and is required for clear apple and pear juice concentrates. The addition of the enzyme takes place together with the depectinisation after heating, i.e. essence stripping. Complete starch degradation is measured with the iodine test.

### DOSAGE

The dosage of the enzyme depends on raw materials used and reaction conditions such as pH, temperature and time. The optimal dose rate should be determined in trials.

pH range: 3.5-6.5  
Temperature range: 45-75 °C



## GAMMADEX CAL

Glucoamylase enzyme for brewing, distilling & fruit juice production

### PRODUCT DESCRIPTION

GAMMADEX CAL is a liquid formulated fungal glucoamylase (amyloglucosidase) enzyme for starch degradation. GAMMADEX CAL is an exo-amylase and hydrolyses alpha-1,4- as well as alpha-1,6-glycosidic linkages from the non-reducing end of liquefied starch and dextrans, thereby releasing glucose. GAMMADEX CAL is produced by controlled fermentation of a classical strain of *Aspergillus niger*.

### PRODUCT CHARACTERISTICS

GAMMADEX CAL has the following characteristics & specifications:

- Liquid formulation.
- Composition: water, glucoamylase, glucose, potassium sorbate, sodium chloride, sodium benzoate
- Brown colour and characteristic odour.
- Density: ~1.14 g/ml.
- Activity: Minimum 500 GAU/g. A method of analysis is available on request.
- IUB: 3.2.1.3
- CAS: 9032-08-0

GAMMADEX CAL complies with the recommended specifications of the FAO/WHO's Joint Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemicals Codex (FCC) for food-grade enzyme preparations.

### APPLICATION

In **brewing**, GAMMADEX CAL may be used both in the brew house and in the fermenter, in order to reach the desired attenuation, or to reduce the level of residual carbohydrate. If GAMMADEX CAL is used in the brew house, then a prolonged saccharification is recommended of 2-4 hours at temperatures of 60-65 °C. When using GAMMADEX CAL in the fermenter, no special measures need to be taken.

In **distilling**, GAMMADEX CAL is used to hydrolyse dextrans to fermentable sugars in cereal- and potato mashes, that have been liquefied. GAMMADEX CAL is added to the liquefied mash at a temperature of ca. 55 °C. A saccharification rest however is not required as saccharification will continue during fermentation, even at reduced reaction rate.

In **fruit juice** production, GAMMADEX CAL is used for the starch degradation in pome juices. Complete degradation of starch prevents hazes and is required for clear apple and pear juice concentrates. The addition of the enzyme takes place together with the depectinisation after heating, i.e. essence stripping. Complete starch degradation is measured with the iodine test.

### DOSAGE

The dosage of the enzyme depends on raw materials used and reaction conditions such as pH, temperature and time. The optimal dose rate should be determined in trials.

pH range: 3.5-6.5  
Temperature range: 45-75 °C

GAMMADEX CAL, Page 1 of 2

## Anexo D. Resultados Diseño Experimental

<b>Orden Corrida (Tratamiento)</b>	<b>Yuca (%)*</b>	<b>Cocción (minutos)</b>	<b>Brix Inicial</b>	<b>Grado Alcohólico</b>
1	14,644	32,90	13	13
2	85,356	32,90	10	14
3	14,644	47,07	13	14
4	85,356	47,07	9	14
5	50	39,99	15	13
6	50	39,99	16	16
7	50	39,99	16	13

\*Se completó con zanahoria blanca para llegar al 100% de mezcla.

### Anexo E. Comportamiento de Grados Brix en proceso elaboración producto

	Tratamiento 1	Tratamiento 2	Tratamiento 3	Tratamiento 4	Tratamiento 5	Tratamiento 6	Tratamiento 7
<b>Brix Materia Prima</b>	4	5	4	4	5	5	5
<b>Brix Inicial Después Cocción</b>	13	10	13	9	15	16	16
<b>Brix Enzima 1</b>	21	19	23	20	17	24	23
<b>Brix Enzima 2</b>	22	20	23	21	24	24	23
<b>Brix Mosto (48h)</b>	7	6	9	7	6	4	8
<b>Brix Después Destilación</b>	6	4	6	5	4	3	5
<b>Consumo Brix (%)</b>	68,18	70,00	60,87	66,67	75,00	83,33	65,22

## Anexo F. Consentimiento Informado

### Consentimiento Informado

Quito, 9 mayo del 2018

En la evaluación sensorial a realizarse se degustará dos tipos de bebidas alcohólicas destiladas (vodka).

Yo, \_\_\_\_\_ acepto participar en la evaluación sensorial de vodka. Comprendo que el producto puede contener etanol, por lo cual, afirmo y doy constancia de que soy mayor de edad y no sufro ningún problema de salud como alcoholismo que me impidan realizar esta evaluación.

---

Firma

C.I:

## Anexo G. Cuestionario para consumidores – Evaluación Sensorial

### EVALUACIÓN SENSORIAL DE VODKA

Nombre: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Sexo: M ( ) F ( ) Edad: \_\_\_\_\_ años

Por favor, pruebe las muestras de izquierda a derecha, e indique cuanto a usted le gusta o disgusta cada uno de los atributos sensoriales descritos a continuación, dando notas de acuerdo a la siguiente escala hedónica:

		Muestra 373	Muestra 814
1. Me gusta muchísimo	Sabor	_____	_____
2. Me gusta mucho			
3. Me gusta	Olor	_____	_____
4. Ni me gusta ni me disgusta			
5. Me disgusta	Apariencia	_____	_____
6. Me disgusta mucho			
7. Me disgusta muchísimo	Global	_____	_____

Si usted tuviera la oportunidad de comprar uno de estos productos, cuál sería?

	Sí	No
Muestra 373	_____	_____
Muestra 814	_____	_____

Comentarios: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

¡GRACIAS!

## Anexo H. Cuestionario para jueces entrenados – Evaluación Sensorial

### Evaluación Sensorial de Vodka

Nombre: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Sexo: M ( ) F ( )

Edad: \_\_\_\_\_

Por favor, evalúe la muestra según los atributos indicados a continuación, marcando con una X según corresponda.

Atributos		Intensidad de percepción					
		0	1	2	3	4	5
<b>COLOR</b>	Transparencia						
	Etanol						
<b>OLOR</b>	Olores frutales						
	Olores desagradables (acetona, sudor, mantequilla, etc)						
<b>SABOR</b>	Etanol						
	Sabores frutales						
	Sabores desagradables						
<b>Sensación</b>	Quemazón						
5- extrema 4-grande 3-media 2-ligera 1-casi imperceptible 0-ausencia total							

Observaciones:

---



---



---

## Anexo I. Resultados de metanol de la muestra 50% yuca-50% zanahoria blanca



Orden de trabajo N° 182427  
Hoja 1 de 1

**NOMBRE DEL CLIENTE:** EMILIA GUERRERO  
**DIRECCIÓN:** Cumbayá  
**FECHA DE RECEPCIÓN:** 16 de abril del 2018  
**MUESTRA:** Destilado de yuca y zanahoria blanca  
**DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA:** Líquido incoloro  
**FECHA DE ELABORACIÓN:** 23 de marzo del 2018  
**FECHA DE VENCIMIENTO:** ----  
**LOTE:** ----  
**ENVASE:** Botella de polietileno  
**FECHA DE REALIZACIÓN DE ENSAYO:** 16 – 18 de abril del 2018  
**REFERENCIA:** 182427  
**MUESTREADO:** Por cliente  
**CONDICIONES AMBIENTALES:** 23.5°C 48%HR

### ANÁLISIS QUÍMICO:

PÁRAMETRO	MÉTODO	RESULTADO
Metanol (mg/100ml)	INEN 348	< 2.00

  
 Dra. Cecilia Lazariaga  
 GERENTE GENERAL

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada.  
 Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.

  
 ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES