



EFECTO DEL TRATAMIENTO ENZIMÁTICO PECTOLÍTICO EN LA OBTENCIÓN DE VINO DE MORTIÑO

EFFECT OF A ENZYMATIC PECTOLITIC TREATMENT IN THE ELABORATION OF A MORTIÑO FRUIT WINE

J. Jácome, G. Navas¹

Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
Universidad Técnica de Ambato (UTA), Ambato, Ecuador

Artículo recibido: 30/12/14

Artículo aceptado: 28/05/15

RESUMEN

El presente trabajo consistió en aplicar un tratamiento enzimático pectolítico con preparados enzimáticos comerciales, en la obtención de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) y estudiar el efecto de las enzimas en el contenido de antocianinas de la bebida. Para ello se trabajó con un diseño experimental AxBxC, siendo el factor A, la relación fruta:agua (1:3, 1:4), el factor B, las enzimas (sin enzima, Ultrazym AFPL, Pectinex Ultra SP-L) y el factor C, la levadura de panificación (Levapan fresca y Fleischmann liofilizada). Se determinó que la levadura fresca permite un mayor descenso de sólidos solubles durante la fermentación y los trasiegos. Se midió el contenido de antocianinas a través del contenido de antocianos monoméricos totales (AMT) antes y después de la maduración de la bebida, y se demostró que la enzima Pectinex Ultra SPL produce un mejor contenido de AMT antes de la maduración, seguida de la enzima Ultrazym AFPL, a diferencia de los tratamientos sin enzima. Transcurrido el tiempo de maduración el contenido de AMT se redujo, pero de igual manera tanto la enzima Pectinex Ultra SPL como Ultrazym AFPL confirieron una mayor cantidad de AMT a los vinos. En base al análisis sensorial se determinó que el mejor tratamiento es la elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca Levapan. Estas condiciones y la tecnología utilizada permitieron obtener un producto de características organolépticas atractivas.

Palabras clave: enzimas pectolíticas, mortiño, bebida alcohólica, antocianinas.

ABSTRACT

The study consists in applying a commercial pectolytic enzyme treatment with enzyme preparations to obtain a kind of wine made of Andean blueberry (*Vaccinium floribundum* Kunth) and study the effect of the enzymes in the anthocyanin content of the beverage. It was applied an experimental design AxBxC, being the factor A, the ratio fruit: water (1: 3, 1: 4), factor B, enzymes (without enzyme, Ultrazym AFPL, Pectinex Ultra SP-L) and the C factor, baker's yeast (fresh Levapan and lyophilized Fleischmann). It was determined that fresh yeast allows a greater decrease in soluble solids during fermentation, decanting and racking. Anthocyanin content was measured by the content of total monomeric anthocyanins (AMT) before and after maturation of the beverage, and it was demonstrated that the enzyme Pectinex Ultra SPL produces better content of AMT before maturation, followed by AFPL Ultrazym enzyme, unlike without enzyme treatments. After maturation time AMT content was reduced, but equally both enzyme Pectinex Ultra SPL as Ultrazym AFPL possess greater amount of AMT. Based on the sensory analysis was determined that the best treatment was made with the ratio 1: 4 (fruit: water), enzyme Ultrazym Levapan AFPL and fresh yeast. These conditions and the technology used allowed obtaining a product with attractive organoleptic characteristics.

Keywords: pectolytic enzymes, Andean blueberry, alcoholic beverage, anthocyanins.

¹ Autor de correspondencia: Gladys Navas Miño. E-mail: glacenam@hotmail.com



1. INTRODUCCIÓN

El mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), es una planta de la familia *Ericaceae*, nativa de los páramos ecuatorianos (Loján, 2003). Es considerada endémica y su uso se remonta desde tiempo inmemoriales, especialmente para la elaboración de la tradicional colada morada, bebida consumida en Ecuador en el Día de los Difuntos (Morales, 2002). El fruto al ser de color negro evidencia una alta concentración de antocianidinas como polifenoles, que evidencian una importante capacidad antioxidante (Vasco, 2009). Las antocianidinas y antocianócidos son una familia fitoquímica con gran variabilidad presentes en flores, frutos y otros órganos expuestos a la luz solar.

En la familia *Ericaceae*, el mortiño presenta un pariente cercano que es el arándano (*Vaccinium myrtilus* L.) cuya composición química presenta concentraciones de antocianidinas y antocianósidos de hasta el 0,5 % (Alonso, 2004).

Las antocianinas se encuentran, particularmente, en las vacuolas presentes en la piel de las bayas y la pulpa, donde se pueden acumular en unas vesículas esféricas denominadas “antocianoplastos” o “inclusiones antocianicas vacuolares” (Markham et al., 2000). Al comienzo del proceso de vinificación, los antocianos son extraídos de los hollejos por la ruptura de las células y las vacuolas, pasando rápidamente al mosto (Martin y De Ambrosini,

2008). La extracción de los compuestos fenólicos va a depender, debido a su localización, de la degradación de la pared celular. Esto supone que el uso de enzimas pectolíticas que degradan la pared celular de la piel de la fruta, podría favorecer la solubilización de antocianos y taninos (Romero, 2008).

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio es aplicar un tratamiento enzimático con enzimas pectolíticas (Pectinex Ultra SP-L y Ultrazym AFPL) en la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño y determinar su efecto en el contenido de antocianinas y calidad sensorial.

2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un diseño experimental AxBxC siendo el factor A la relación fruta:agua (1:3 y 1:4); el factor B, el tratamiento enzimático pectolítico empleado (sin enzima, Ultrazum AFPL y Pectinex Ultra SP-L); el factor C, la levadura empleada en la vinificación (levadura fresca Levapan y levadura liofilizada Fleischmann).

Se llevaron a cabo dos réplicas, dando como resultado 24 tratamientos de estudio. El proceso para obtener la bebida tipo vino de mortiño se muestra en la Figura 1 y la simbología de los tratamientos en la Tabla 1.

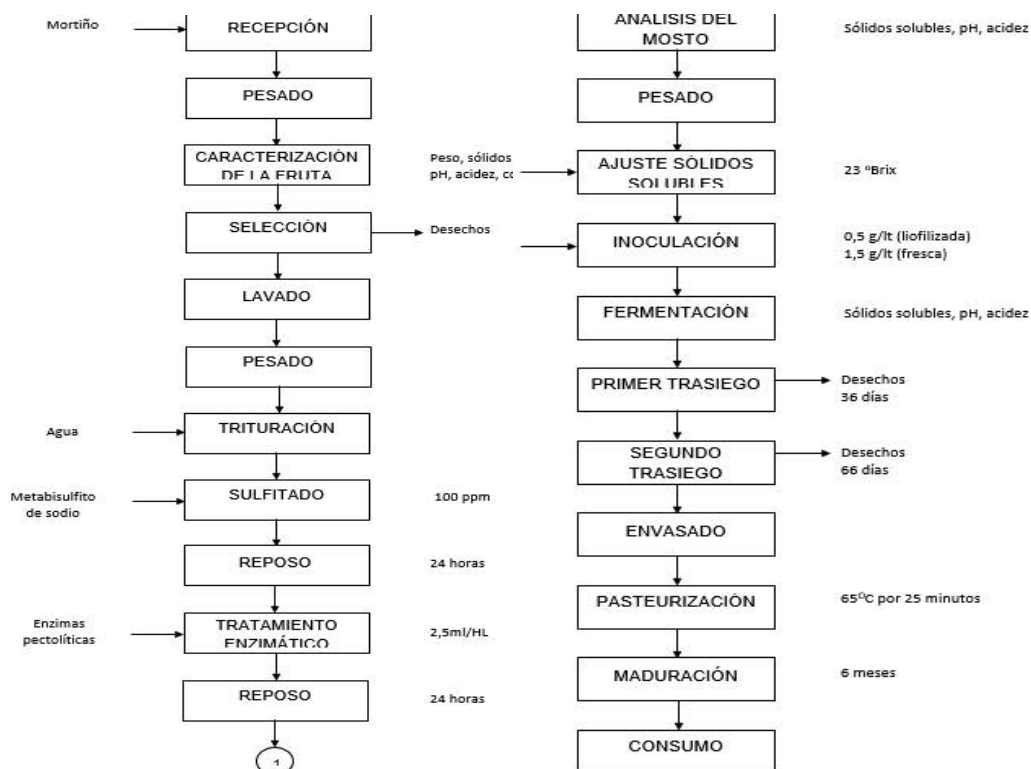


Figura 1. Diagrama de flujo para la elaboración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)



Tabla 1. Descripción de la simbología de los tratamientos de acuerdo al diseño experimental

Tratamiento	Descripción
$a_0b_0c_0$	Fruta : agua (1:3), sin enzima, levadura fresca
$a_0b_0c_1$	Fruta : agua (1:3), sin enzima, levadura liofilizada
$a_0b_1c_0$	Fruta : agua (1:3), Ultrazym AFPL, levadura fresca
$a_0b_1c_1$	Fruta : agua (1:3), Ultrazym AFPL, levadura liofilizada
$a_0b_2c_0$	Fruta : agua (1:3), Pectinex Ultra SP-L, levadura fresca
$a_0b_2c_1$	Fruta : agua (1:3), Pectinex Ultra SP-L, levadura liofilizada
$a_1b_0c_0$	Fruta : agua (1:4), sin enzima, levadura fresca
$a_1b_0c_1$	Fruta : agua (1:4), sin enzima, levadura liofilizada
$a_1b_1c_0$	Fruta : agua (1:4), Ultrazym AFPL, levadura fresca
$a_1b_1c_1$	Fruta : agua (1:4), Ultrazym AFPL, levadura liofilizada
$a_1b_2c_0$	Fruta : agua (1:4), Pectinex Ultra SP-L, levadura fresca
$a_1b_2c_1$	Fruta : agua (1:4), Pectinex Ultra SP-L, levadura liofilizada

Durante la fermentación y los trasiegos de la bebida se determinaron análisis fisicoquímicos de control de sólidos solubles, pH y acidez. Para ello se utilizó un refractómetro Atago α H (ATAGO Co. Ltd., USA) para determinar los sólidos solubles, un pH-metro digital Hanna pHep (HI 98107; HANNA Instruments, USA) para el pH. La acidez se estableció mediante titulación tomando 1 ml de la muestra y 9 ml de agua destilada, titulando con una solución de NaOH 0,1 N; para la valoración se consideró al ácido cítrico como ácido dominante (factor equivalente= 0,64)

Para determinar el contenido de Antocianos Monoméricos Totales (AMT) se tomaron medidas espectrofotométricas con un espectrofotómetro Genesys 20 Spectronic (THERMO Scientific, USA).

Las muestras correspondieron a una solución del vino (factor de dilución 1:50) con solución tampón de cloruro de potasio 0,025 M a pH 1,0 y solución de acetato de sodio 0,4 M a pH 4,5.

Se midió la absorbancia de cada dilución (pH 1,0 y pH 4,5) a una longitud de onda de 520 nm entre 15 minutos y 1 hora tras la preparación de las disoluciones. Se calculó la absorbancia de la muestra diluida, de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$A = A_{520}(pH1,0) - A_{520}(pH4,5) \quad \text{Ec. 1}$$

Donde:

A: absorbancia de la muestra diluida (adimensional)
 A_{520} (pH 1,0): absorbancia de la muestra diluida, medida a pH 1,0 (adimensional);
 A_{520} (pH 4,5): absorbancia de la muestra diluida, medida a pH 4,5 (adimensional);

A continuación se calculó la concentración en antocianos monoméricos totales de la muestra con la Ecuación 2:

$$AMT = \frac{(A \times FD \times PM \times 1000)}{\epsilon \times l} \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

AMT: es el contenido en antocianos monoméricos totales ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$);

A: es la absorbancia de la muestra diluida (adimensional)

FD es el factor de dilución (adimensional);

PM: es el peso molecular ($\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$);

ϵ : es el coeficiente de absorbancia molar del antociano de referencia (adimensional).

En el caso del mortiño, los resultados se expresaron como $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de 3-monoglucósido de cianidina (Cy-3-glu), por ser éste, el antociano mayoritario. Los valores a utilizar en la Ec. 2 fueron: PM = 449,2 $\text{g} \cdot \text{mol}^{-1}$ y $\epsilon = 26900$ (Giusti y Wrolstad, 2001).

Finalmente, el análisis sensorial correspondió a una prueba de escala hedónica de 7 puntos (AENOR, 2006). Se empleó un diseño de bloques balanceado con la finalidad de distribuir cierto número de muestras a distintos catadores, de manera que se tuvieron 12 muestras de vinos, las cuales fueron distribuidas en un número de 4 a cada catador. El número de catadores utilizado fue de 13 personas repartidas en 4 réplicas, obteniéndose 16 respuestas por vino. El grupo de catadores semi-entrenados empleados se obtuvo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería de los Alimentos, el mismo que evaluó: color, aroma, acidez, astringencia y apreciación global, utilizando una ficha de cata.



3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Periodo fermentativo

Existió una disminución de los sólidos solubles a lo largo del periodo fermentativo de los mostos de mortiño, alcanzando valores entre 7,4 y 8,0 °Brix partiendo de un mosto ajustado con sacarosa a 23 °Brix. En las etapas iniciales de la fermentación, el consumo de sólidos solubles fue más rápido, el cual empezó después a estabilizarse, alcanzando valores casi constantes al final del proceso. Siguiendo el método descrito en González (2012), el proceso fermentativo se consideró detenido cuando se detuvo la producción de CO₂, siendo confirmado por la obtención de tres lecturas iguales o inferiores a 10 °Brix (Ribereau-Gayon, 1992). De acuerdo a este criterio se calculó el tiempo de fermentación el cual varió entre 34 y 39 días. Se observaron tiempos de fermentación menores con la utilización de levaduras vínicas a temperaturas controladas, en

un intervalo de 24,8 hasta 27,4 °C, lo que permitió fermentaciones más regulares y rápidas (Córdova, 2010), pero en el caso de la bebida tipo vino de mortiño se utilizó levadura de panificación a temperatura ambiente la cual se mantuvo entre 16 y 20 °C.

El análisis de varianza para sólidos solubles durante la etapa de fermentación mostró, con un 95% de nivel de confianza, que existieron diferencias significativas en cuanto al factor C (Levadura). Al realizar la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) se observó que la levadura fresca presentó un mayor consumo de azúcares con un promedio de 7,69 °Brix, a diferencia de la levadura liofilizada que alcanzó una media de 7,89 °Brix.

Los valores de pH fueron más altos al final de la fermentación, siendo inicialmente 2,53 y 2,88, llegando hasta valores de pH desde 2,80 hasta 3,09 (Figura 2)

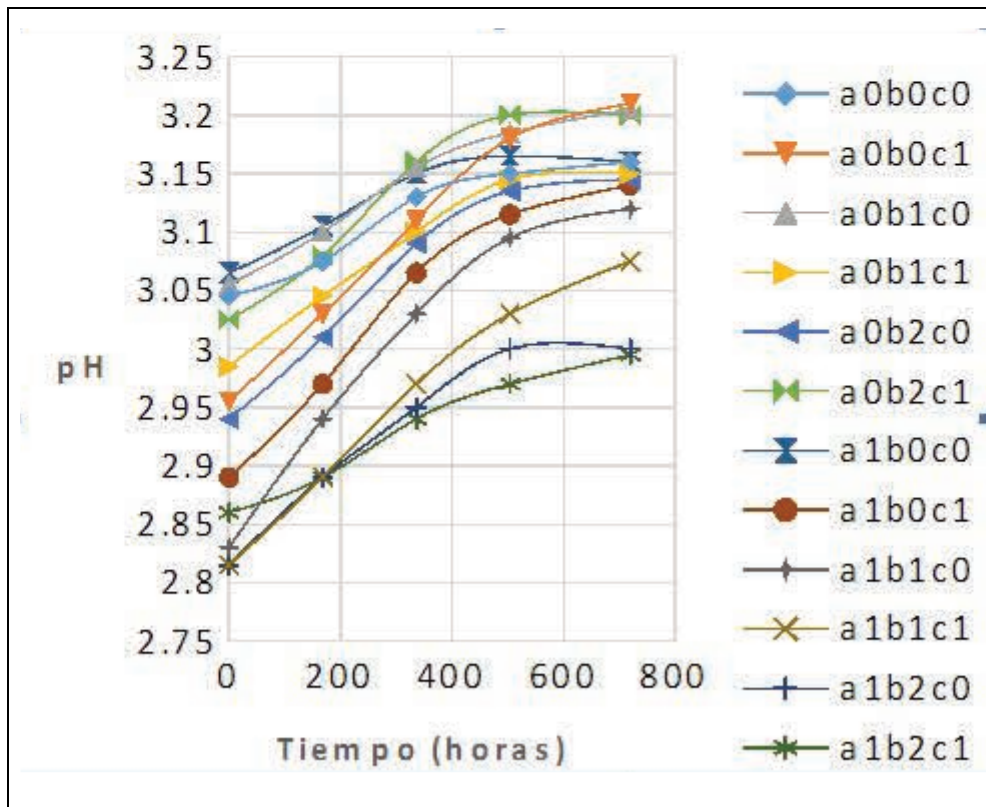


Figura 2. Evolución del pH durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño



Según Boulton (2002), durante la fermentación alcohólica, los sólidos se están extrayendo de forma continua al estar en contacto con el mosto, dando lugar a la subida de pH debido a la transferencia de componentes alcalinos como potasio, sodio, calcio o magnesio. El análisis de varianza mostró, con un 95% de nivel de confianza, que el factor A (relación fruta: agua) influyó de manera significativa en el pH del vino; lo contrario ocurrió con los demás factores estudiados (enzimas y levaduras). La prueba (LSD) para pH por relación fruta:agua, demostró que los vinos elaborados con la relación 1:3 (fruta:agua) tuvieron un valor de pH mayor, con una media de 3,00, mientras que los que fueron elaborados con la relación 1:4 (fruta:agua) presentaron pH promedio de 2,88. Como ya se ha mencionado, el contenido de sólidos extraídos mientras fermenta el mosto influye en el pH, lo que explica que mientras más diluida se encuentre la fruta en el mosto, menor sea el valor de pH.

Los valores de acidez, expresada como porcentaje de ácido cítrico, registrados durante la fermentación de la bebida tipo vino de mortiño mostraron variación para todos los tratamientos, presentando una disminución durante el tiempo de fermentación. Se obtuvieron valores desde 0,6-0,79 % de ácido cítrico al inicio del proceso fermentativo, hasta 0,50-0,58 % al final, pudiéndose apreciar la disminución de la acidez en cada uno de los tratamientos. El análisis de varianza para acidez durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño, utilizando un nivel de confianza del 95 %, demostró que no hubo diferencia significativa entre los factores de estudio.

3.2 Periodo de trasiegos

Durante el periodo de trasiegos, no hubo un descenso de sólidos solubles apreciable, siendo el mayor descenso de 0,2 °Brix. Este cambio, el mismo que no se presentó en todos los tratamientos, se debió a que en el mosto existían todavía levaduras residuales que pudieron realizar fermentación.

En la

Figura 2 se presenta el comportamiento del pH durante los trasiegos de la bebida tipo vino de

mortiño. Durante este tiempo se observó un ligero incremento en el pH en cada uno de los tratamientos. El pH alcanzó valores que fueron desde 2,98 a 3,23. Como indica Chatonnet (2005), existe una evolución de los parámetros del equilibrio ácido-base de un vino durante su elaboración desde el encubado, pasando por el trasiego y hasta el fin de la crianza, procedente fundamentalmente de la degradación del ácido cítrico, que finalmente provocan un aumento del pH de 0,1 a 0,2 unidades o a veces más. El análisis de varianza para pH durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño mostró, con un nivel de confianza del 95 %, que tanto el factor A (Relación fruta:agua) como el factor B (Enzimas) tuvieron un efecto significativo en el pH de la bebida durante los trasiegos. De acuerdo a la prueba LSD por relación fruta:agua, se demuestra que los vinos elaborados con la relación 1:3 (fruta:agua) tuvieron un valor de pH mayor, con una media de 3,18, mientras que los que fueron elaborados con la relación 1:4 (fruta:agua) presentaron una media de pH de 3,08. Así mismo, se demostró que tanto los tratamientos en los que no se aplicaron enzimas como el que se aplicó la enzima Ultrazym AFPL, presentaron un mayor valor de pH, con una media de 3,16 y 3,14 respectivamente, mientras que el menor valor de pH lo presentaron los tratamientos con enzimas Pectinex Ultra SPL, con una media de 3,09.

Durante el periodo de trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño, el porcentaje de acidez como porcentaje de ácido cítrico descendió constantemente. Todas las circunstancias que favorecen el contacto de las partes sólidas del mosto propiciaron la neutralización de los ácidos por las materias minerales. De la misma forma, en el trasiego todavía se encontraron pequeñas partículas en suspensión que con el tiempo precipitaron.

3.3 Antocianos Monoméricos Totales (AMT)

En la Figura 3, se representa el contenido de AMT ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) de cada uno de los tratamientos, tanto antes como después de la maduración.

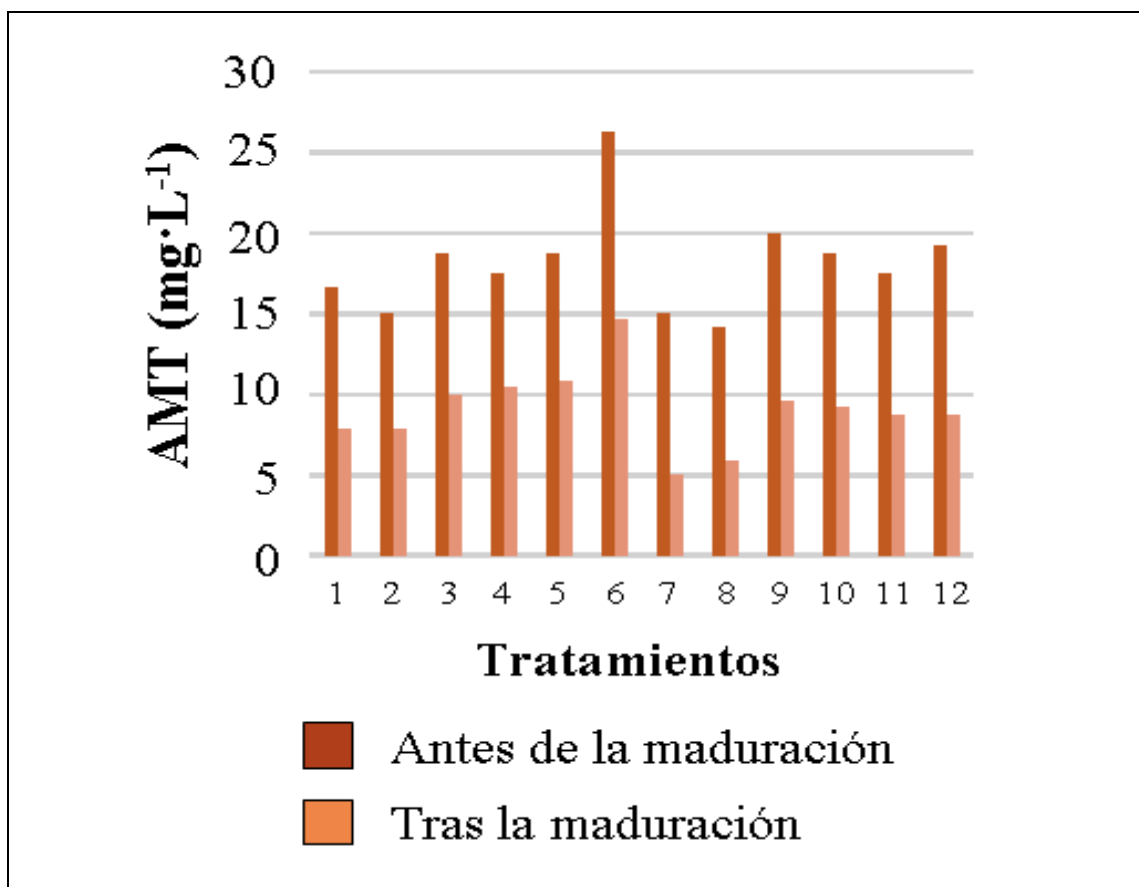


Figura 3. Comparación de los antocianos monoméricos totales (AMT) (mg·L⁻¹) de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) al inicio y al final de la maduración

Se puede observar que en todos los tratamientos existió un decremento del contenido de antocianinas después del periodo de maduración. Durante la conservación y envejecimiento de vinos rojos, la concentración de antocianos es la responsable del color del vino. Posteriormente, las disminuciones que se producen se deben a las reacciones de los antocianos con otros compuestos fenólicos. Se piensa que es debido a este fenómeno, por el que se produce el cambio del matiz rojo de los vinos tintos jóvenes hacia la tonalidad castaña de los vinos tintos maduros (Atanasova et al., 2002). Además, las antocianinas pueden combinarse con determinados metabolitos de las levaduras, tales como el etanol y el ácido pirúvico, apareciendo compuestos poliméricos muy estables, que adicionalmente provocan sensaciones gustativas de mayor suavidad y cuerpo (Hidalgo, 2003).

El análisis de varianza para AMT al iniciar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño, demostró, con un 95% de nivel de confianza, que tanto el factor A (relación fruta:agua) como el factor B (Tipo de Enzima) influyeron de manera significativa en el contenido de antocianinas. La

prueba LSD para AMT por relación fruta:agua y enzimas respectivamente, aseguró que la relación 1:3 (fruta:agua) produjo un mayor contenido de AMT con una media de 18,85 mg·L⁻¹, a diferencia de la relación 1:4 (agua:fruta) con 17,46 mg·L⁻¹, quedando demostrado que mientras más agua se utiliza para realizar el mosto, menor es el contenido de AMT en el producto.

La prueba LSD para AMT por enzimas, demostró que la enzima Pectinex Ultra SPL produjo un mejor contenido de AMT con una media de 20,46 mg·L⁻¹, seguida de la enzima Ultrazym AFPL con 18,79 mg·L⁻¹. Finalmente, la media para los tratamientos sin enzima fue de 15,23 mg·L⁻¹, demostrando que el tratamiento enzimático al mosto de mortiño, logró incrementar el contenido de antocianinas en la bebida tipo vino de mortiño.

Algo similar ocurrió considerando el contenido de AMT de la bebida tipo vino de mortiño después de la maduración. El análisis de varianza para contenido de AMT al finalizar maduración, a un 95% de nivel de confianza, manifestó de nuevo que, tanto la relación fruta:agua como el tipo de enzimas, produjeron diferencias significativas en el contenido de antocianinas. Una vez más, la dilución



influyó en el contenido de antocianinas. La prueba LSD para AMT por enzimas, a un 95% de nivel de confianza determinó que el uso de enzimas Pectinex Ultra SPL y Ultrazym AFPL permitieron obtener valores más altos en el contenido de AMT, presentando una media de 10,75 y 9,81 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, respectivamente, a diferencia de los tratamientos sin acción enzimática con una media de 6,67 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ en el contenido de AMT.

3.4 Análisis Sensorial

El análisis de varianza determinó que todos los tratamientos presentaron diferencias significativas, con un 95% de nivel de confianza, para cada uno de los atributos evaluados.

Al realizar la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para color, se determinó que el tratamiento testigo (vino comercial) resultó el mejor, con una valoración promedio de 6,32. El

mejor tratamiento estudiado resultó ser el elaborado con la relación 1:3 (fruta:agua), Pectinex Ultra SP-L y levadura fresca.

Considerando el atributo acidez, se estableció que el vino elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca y el elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Pectinex Ultra SPL y levadura fresca fueron mejor puntuados con una media de 6,23 y 6,12 respectivamente.

La prueba LSD para aroma, astringencia y apreciación global indicó la preferencia de los catadores hacia el vino elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca.

La Figura 4 representa el perfil sensorial de cada uno de los tratamientos de la bebida tipo vino de mortiño.

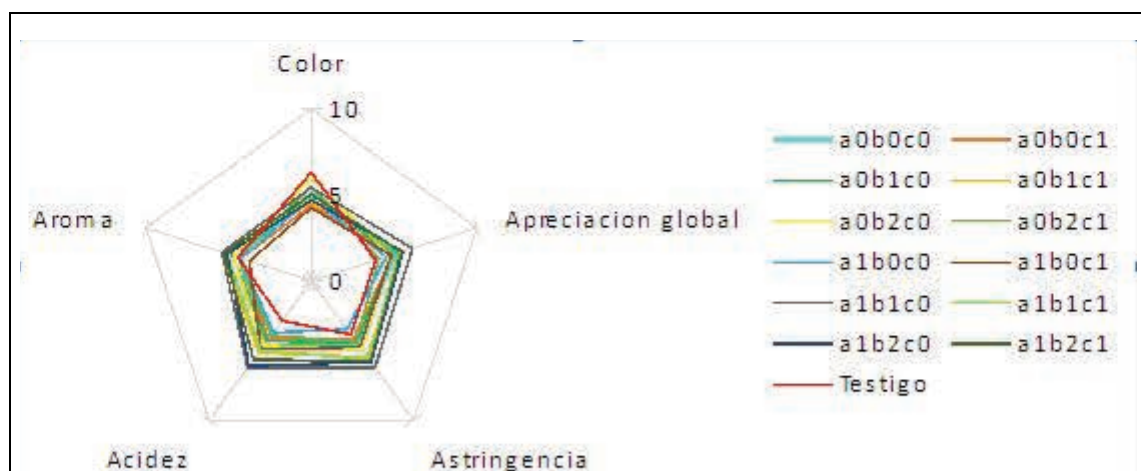


Figura 4. Perfil sensorial de los tratamientos de la bebida tipo vino de mortiño para los atributos evaluados en el análisis sensorial

Según Saltos (2010), esta técnica implica reconocer los atributos sensoriales, de tal modo que los ejes de la estrella coincidan con ellos. La figura permite identificar de manera inmediata el mejor tratamiento ya que resume el análisis sensorial. En ella se puede observar que en los atributos de aroma, acidez, astringencia y apreciación global, el vino elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca tuvo una mejor puntuación promedio de todos los catadores. En cuanto al color, la mejor puntuación promedio fue obtenida por el tratamiento testigo, en el que se usó un vino comercial, seguido por los vinos elaborados con la relación 1:3 (fruta:agua), enzima Pectinex Ultra SPL y levadura fresca y liofilizada respectivamente. Los niveles de los primeros dos factores fueron los que obtuvieron el mejor

contenido de AMT, con lo que se comprueba la relación que existe entre el contenido de antocianinas y el color del vino.

4. CONCLUSIONES

El uso de enzimas pectolíticas Pectinex ultra SP-L y Ultrazym AFPL incrementó el contenido de antocianinas en la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) medido como contenido de antocianos monoméricos totales (AMT).

La enzima Pectinex Ultra SPL produjo un mayor contenido de AMT antes de la maduración, seguida de la enzima Ultrazym AFPL y, finalmente, de los tratamientos sin enzima que poseyeron el valor más



bajo. Transcurrido el tiempo de maduración, el contenido de AMT se redujo en todos los casos pero siguió siendo superior en los tratamientos tratados enzimáticamente.

El mejor tratamiento en base a los atributos sensoriales fue el elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca Levapan. Estas condiciones y la tecnología utilizada permitieron obtener un producto de características organolépticas atractivas, color y aroma característico de la fruta, acidez y astringencia equilibradas, con apreciación global superior al vino tradicional de uva.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AENOR. (2006). Norma Española. UNE-ISO 4121:2006. Análisis sensorial. Directrices para la utilización de escalas de respuestas cuantitativas. (pp. 15): Comité técnico AEN/CTN 87 Análisis sensorial.

Alonso, J. (2004). *Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos* (1ª ed.). Rosario (Argentina): Corpus Libros.

Atanasova, V., Fulcrand, H., Cheynier, V., y Moutounet, M. (2002). Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta*, 458, 15-27.

Boulton, R. B. (2002). *Teoría y práctica de la elaboración del vino*. Zaragoza (España): Ed. Acribia.

Córdova, I. (2010). *Comparación del comportamiento fermentativo de levadura de panificación y levaduras vínicas (Uvaferm CM, Lalvin EC 1118, Lalvin QA23) y sus efectos sobre la calidad de vinos de mora (Rubus glaucus Benth.)*. BSc. Thesis, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).

Chatonnet, P. (2005). Informe Técnico. Gestión de pH en el vino de calidad. (pp. 9-20). Madrid (España): Fundación para la cultura del vino.

Giusti, M., y Wrolstad, R. (2001). *Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible*

spectroscopy (1ª ed.). New York (USA): John Wiley & Sons, Inc.

González, X. (2012). *Desarrollo de una tecnología para elaborar una bebida alcohólica a partir de la grosella blanca (Phyllanthus acidus)*. BSc. Thesis, Universidad Técnica de Ambato, Ambato (Ecuador).

Hidalgo, J. (2003). *Tratado de enología*. Madrid (España): Ediciones Mundi-Prensa.

Loján, L. (2003). El verdor de los andes ecuatorianos: realidades y promesas. *Proyecto Desarrollo Forestal Participativo en los Andes* (pp. 296).

Markham, K. R., Gould, K. S., Winefield, C. S., Mitchell, K. A., Bloor, S. J., y Boase, M. R. (2000). Anthocyanic vacuolar inclusions - their nature and significance in flower coloration. *Phytochemistry*, 55, 327-336.

Martin, M., y De Ambrosini, M. (2008). *Extracto pectinolítico producido por Bacillus sp. SC Ch 15 y su aplicación en la extracción de pigmentos y polifenoles totales de la uva*. Paper presented at the Congreso Latinoamericano de Ingeniería y ciencias Aplicadas (CLICAP), Mendoza (Argentina). <http://www.fc.ai.uncuyo.edu.ar/upload/31atc-martin-fcai.pdf>

Morales, A. (2002). *Frutoterapia, nutrición y salud: el poder terapéutico de las frutas, hortalizas, verduras, cereales, legumbres y plantas*. Madrid (España): Edaf-Plus Vitae.

Ribereau-Gayon, J. (1992). *Tratado de enología: ciencias y técnicas del vino. Vinificación, transformación del vino*. (Vol. 3): Hemisferio Sur.

Romero, I. (2008). *Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de los enzimas de maceración*. PhD Thesis, Universidad de Murcia, Murcia (España).

Saltos, A. (2010). *Sensometría: análisis en el desarrollo de alimentos procesados*. Riobamba (Ecuador): Editorial Pedagógica Freire.