



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



**“APLICACIÓN DE UN TRATAMIENTO ENZIMÁTICO CON ENZIMAS
PECTOLÍTICAS (Pectinex Ultra SP-L y Ultrazym AFPL) EN LA OBTENCIÓN
DE UNA BEBIDA TIPO VINO DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth) Y
SU EFECTO EN EL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS”**

Trabajo de Investigación (Graduación), Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente (TEMI), presentado como requisito previo la obtención del título de Ingeniero en Alimentos otorgado por la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Autor: José Andrés Jácome M.

Tutora: Ing. Gladys Navas Miño

Ambato – Ecuador

2014

APROBACIÓN DE LA TUTORA

Ing. Gladys Navas M.

Siendo la Tutora del Trabajo de Investigación realizado bajo el tema: “APLICACIÓN DE UN TRATAMIENTO ENZIMÁTICO CON ENZIMAS PECTOLÍTICAS (PECTINEX ULTRA SP-L Y ULTRAZYM AFPL) EN LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA TIPO VINO DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth) Y SU EFECTO EN EL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS”, por el egresado José Andrés Jácome Montaluisa; tengo a bien afirmar que el estudio es idóneo y reúne los requisitos de un trabajo de investigación de Ingeniería en Alimentos; el señor egresado posee los méritos académicos suficientes para ser sometido a evaluación del Jurado Examinador que sea designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Ambato, Octubre del 2014

.....

Ing. Gladys Navas Miño

TUTORA

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación: “APLICACIÓN DE UN TRATAMIENTO ENZIMÁTICO CON ENZIMAS PECTOLÍTICAS (PECTINEX ULTRA SP-L Y ULTRAZYM AFPL) EN LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA TIPO VINO DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth) Y SU EFECTO EN EL CONTENIDO DE ANTOCIANINAS”, es abosolutamente original, auténtico y personal, e virtud, el contenido y efectos académicos que se desprendan del mismo son de exclusiva responsabilidad del autor.

Ambato, Octubre del 2014

.....

José Andrés Jácome Montaluisa

AUTOR

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO

FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS

CARRERA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS

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

Ambato, Octubre del 2014

Para constancia firman:

.....

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

.....

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

.....

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

DEDICATORIA

A la memoria de la persona a quien más he amado en este mundo, mi madre, Margarita, mi luz, mi ángel. Tus enseñanzas, palabras y caricias perdurarán por siempre en mi mente y en mi corazón.

A mi padre, Ernesto, mi mayor ejemplo, mi pilar y apoyo, que durante toda mi vida me ha demostrado fortaleza, dedicación, sabiduría y amor; concediéndome siempre la libertad de decisión y guiándome por el sendero del éxito.

A mis hermanos Ernesto Javier y Juan Francisco por esa dicha de compartir juntos alegrías y salir adelante a pesar de las dificultades, reflejando la fortaleza y el espíritu de la unión familiar.

Jose

AGRADECIMIENTO

A toda mi familia, por estar siempre junto a mí, brindándome su apoyo, comprensión y cariño para afrontar cada etapa de mi vida, sin los cuales no hubiese sido posible alcanzar mis metas y sueños.

A la Universidad Técnica de Ambato, especialmente a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, que me ha dado la oportunidad de formarme en sus aulas y ha contribuido en mi formación profesional y humana a través de su destacado personal docente.

A la Ing. Gladys Navas, Tutora del Trabajo de Investigación, por la confianza depositada en mí, por su dedicación y orientación que la identifican como una verdadera profesional y han hecho posible la culminación de este trabajo.

A todos mis verdaderos amigos, por haber compartido conmigo gratos e inolvidables momentos juntos.

Jose

ÍNDICE

CAPÍTULO I. PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN.....	1
1.1. Tema de investigación	1
1.2. Planteamiento del problema.....	1
1.2.1. Contextualización	1
Macro.....	1
Meso.....	2
Micro.....	3
1.2.2. Análisis crítico.....	4
1.2.3. Prognosis.....	5
1.2.4. Formulación del problema	5
1.2.5. Preguntas directrices	5
1.2.6. Delimitación del objeto de investigación	6
1.3. Justificación.....	6
1.4. Objetivos	7
1.4.1. Objetivo general.....	7
1.4.2. Objetivos específicos.....	7
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	9
2.1. Antecedentes investigativos	9
2.2. Fundamentación filosófica.....	13
2.3. Fundamentación legal	14
2.4. Categorías fundamentales	15
2.4.1. Marco teórico de la variable independiente	16
2.4.1.1. Enzimas.....	16
a. Enzimas pectolíticas.....	17
2.4.1.2. Pectinex Ultra SP-L.....	18
2.4.1.3. Ultrazym AFPL.....	19
2.4.1.4. Vino de frutas.....	19

2.4.1.5. Mortiño.....	20
a. Generalidades.....	20
b. Taxonomía.....	21
c. Descripción botánica.....	22
d. Usos.....	22
e. Valor antioxidante.....	23
2.4.1.6. Levadura.....	23
a. <i>Sacharomyces cerevisiae</i>	24
i. Levadura Levapan (pasta).....	25
ii. Levadura Fleischmann (lío­filizada).....	26
2.4.2. Marco teórico de la variable dependiente	26
2.4.2.1. Compuestos fenólicos y color del vino.....	26
2.4.2.2. Las antocianinas.....	27
a. Extracción con enzimas.....	28
2.4.2.3. Análisis sensorial en vinos.....	31
a. Color.....	31
b. Aroma.....	32
c. Acidez.....	32
d. Astringencia.....	33
2.5. Hipótesis	33
2.6. Señalamiento de variables de la hipótesis	34
CAPÍTULO III. MARCO METODOLÓGICO.....	35
3.1. Enfoque.....	35
3.2. Modalidad básica de la investigación	35
3.3. Nivel o tipo de investigación.....	36
3.4. Diseño experimental.....	36
3.5. La operacionalización de variables	38

3.6. La recolección de datos	39
3.7. Plan de procesamiento de la información	40
CAPÍTULO IV ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS	41
4.1. Análisis de los resultados.....	41
4.2. Interpretación de datos.....	42
4.2.1. Materia prima.....	42
4.2.2. Mostos de mortiño	42
4.2.3. Análisis fisicoquímicos realizados durante la etapa de fermentación	42
4.2.3.1. Sólidos solubles.....	42
4.2.3.2. pH.....	44
4.2.3.3. Acidez.....	45
4.2.3.4. Tiempo de fermentación.....	46
4.2.4. Análisis fisicoquímicos realizados durante la etapa de trasiegos.	46
4.2.4.1. Sólidos solubles.....	47
4.2.4.2. pH.....	48
4.2.4.3. Acidez.....	48
4.2.5. Maduración	49
4.2.6. Contenido de Antocianos Monoméricos Totales (AMT)	50
4.2.7. Análisis sensorial	51
4.2.7.1. Color.....	52
4.2.7.2. Aroma.....	52
4.2.7.3. Acidez.....	52
4.2.7.4. Astringencia.....	53
4.2.7.5. Apreciación global.....	53
4.2.7.6. Perfil sensorial.....	53
4.2.8. Rendimiento.....	54
4.2.9. Determinación del mejor tratamiento	55
4.2.9.1. Análisis microbiológicos.....	55

4.2.9.2. Análisis de grado alcohólicos.....	56
4.2.9.3. Análisis cromatográfico.....	56
a. Metanol.....	56
b. Alcoholes superiores.....	57
c. Ésteres.....	58
d. Aldehídos.....	58
4.2.9.4. Rendimiento.....	59
4.2.9.5. Análisis de costos.....	59
4.3. Verificación de la hipótesis.....	60
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	61
5.1. Conclusiones.....	61
5.2. Recomendaciones.....	62
CAPÍTULO VI. PROPUESTA	64
6.1. Datos informativos.....	64
6.2. Antecedentes de la propuesta.....	65
6.3. Justificación.....	66
6.4. Objetivos	67
6.4.1. Objetivo general.....	67
6.4.2. Objetivos específicos.....	67
6.5. Análisis de factibilidad	68
6.6. Fundamentación	68
6.7. Metodología	75
6.8. Administración.....	76
6.9. Previsión de la evaluación.....	77
CAPÍTULO VII. MATERIAL DE REFERENCIA	78
7.1. Bibliografía	78

ÍNDICE DE CUADROS Y FIGURAS

Cuadros

Cuadro 1. Requisitos del vino de frutas.....	20
Cuadro 2. Clasificación taxonómica del mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth).....	21
Cuadro 3. Variable Independiente: Utilización de enzimas con diferente tipo de levadura y distinta relación fruta:agua.....	38
Cuadro 4. Variable Dependiente: Contenido de antocianinas y calidad sensorial.....	39
Cuadro 5. Modelo Operativo (Plan de acción).....	75
Cuadro 6. Administración de la Propuesta.....	76
Cuadro 7. Previsión de la evaluación.....	77

Figuras

Figura 1. Árbol de problemas.....	4
Figura 2. Categorías fundamentales.....	15
Figura 3. Mecanismo de acción de las pectinasas.....	18
Figura 4. Frutos de mortiño.....	22
Figura 5. Estructura de las principales antocianinas en <i>Vitis vinífera</i>	28
Figura 6. Representación esquemática de la localización de los antocianos a nivel subcelular.....	29

ANEXOS

ANEXO A. RESPUESTAS EXPERIMENTALES

Tabla A1. Caracterización del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A2. Caracterización del mosto de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A3. Comportamiento de los Sólidos Solubles (°Brix) registrados durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A4. Comportamiento del pH registrado durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A5. Comportamiento de la acidez (% ácido cítrico) registrada durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A6. Duración de la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A7. Comportamiento de los Sólidos Solubles (°Brix) registrados durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A8. Comportamiento del pH registrado durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A9. Comportamiento de la acidez (% ácido cítrico) registrada durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A10. Medidas de absorbancia a 520 nm al iniciar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A11. Medidas de absorbancia a 520 nm al finalizar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A12. Contenido de los antocianos monoméricos totales (AMT) (mg/l) al iniciar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A13. Contenido de los antocianos monoméricos totales (AMT) (mg/lit) al finalizar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A14. Pérdida de antocianos monoméricos totales (%) al finalizar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tabla A15. Resultados de las pruebas sensoriales de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). Réplica 1.

Tabla A16. Resultados de las pruebas sensoriales de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). Réplica 2.

Tabla A17. Resultados de las pruebas sensoriales de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). Réplica 3.

Tabla A18. Resultados de las pruebas sensoriales de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). Réplica 4.

Tabla A19. Valores considerados para la determinación del rendimiento en la elaboración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A20. Análisis microbiológico del mejor tratamiento de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla A21. Resultado del análisis cromatográfico de los compuestos volátiles mayoritarios (mg/100mL de alcohol anhidro) del mejor tratamiento de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

ANEXO B. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

PROCESO FERMENTATIVO

Tabla B1. Análisis de Varianza para Sólidos Solubles (°Brix) durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla B1.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Sólidos Solubles (°Brix) por Levadura.

Tabla B2. Análisis de Varianza para pH durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla B2.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para pH por Relación fruta:agua.

Tabla B3. Análisis de Varianza para Acidez (% ácido cítrico) durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla B4. Análisis de Varianza para Tiempo de Fermentación (días) durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

DURANTE LOS TRASIEGOS

Tabla B5. Análisis de Varianza para Sólidos Solubles (°Brix) durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla B5.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Sólidos Solubles por Relación fruta:agua.

Tabla B5.2. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Sólidos Solubles por Enzimas.

Tabla B5.3. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Sólidos Solubles por Levadura.

Tabla B6. Análisis de Varianza para pH durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla B6.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para pH por Relación fruta:agua.

Tabla B6.2. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para pH por Enzimas.

Tabla B7. Análisis de Varianza para Acidez (% ácido cítrico) durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

CONTENIDO DE ANTOCIANINAS

Tabla B8. Análisis de Varianza para contenido de los antocianos monoméricos totales (AMT) (mg/lit) al iniciar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla B8.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Antocianos monoméricos totales por Relación fruta:agua.

Tabla B8.2. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Antocianos monoméricos totales por Enzimas.

Tabla B9. Análisis de Varianza para pérdida de antocianos monoméricos totales (%) al finalizar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tabla B9.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Pérdida de antocianos monoméricos totales por Relación fruta:agua.

ANÁLISIS SENSORIAL

Tabla B10. Análisis de Varianza para el atributo Color de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla B10.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Color por Tratamientos.

Tabla B11. Análisis de Varianza para el atributo Aroma de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla B11.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Aroma por Tratamientos.

Tabla B12. Análisis de Varianza para el atributo Acidez de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla B12.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Acidez por Tratamientos.

Tabla B13. Análisis de Varianza para el atributo Astringencia de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla B13.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Astringencia por Tratamientos.

Tabla B14. Análisis de Varianza para el atributo Apreciación Global de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla B14.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Apreciación Global por Tratamientos.

RENDIMIENTO

Tabla B15. Análisis de Varianza para Rendimiento (%) de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Tabla B15.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Rendimiento por Relación fruta:agua.

Tabla B15.2. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Rendimiento por Enzimas.

ANEXO C. GRÁFICOS

Gráfico C1. Sólidos Solubles (°Brix) durante el proceso de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Gráfico C2. pH durante el proceso de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Gráfico C3. Acidez (% ácido cítrico) durante el proceso de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Gráfico C4. Sólidos Solubles (°Brix) durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Gráfico C5. pH durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Gráfico C6. Acidez (% ácido cítrico) durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Gráfico C7. Comparación de los antocianos monoméricos totales (AMT) (mg/lit) de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) al inicio y al final de la maduración.

Gráfico C8. Perfil sensorial de los tratamientos de la bebida tipo vino de mortiño para los atributos evaluados en el análisis sensorial.

ANEXO D. DIAGRAMAS DE FLUJO

Anexo D1. Diagrama de flujo para la elaboración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

Anexo D2. Balance de materiales en la elaboración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) con relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca.

Anexo D3. Balance de materiales en la elaboración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) con relación 1:4 (fruta:agua), sin enzima y levadura fresca.

ANEXO E. ANÁLISIS DE COSTOS

Tabla E1. Materiales directos e indirectos.

Tabla E2. Equipos y utensilios.

Tabla E3. Suministros.

Tabla E4. Personal.

Tabla E5. Costos de producción.

ANEXO F. MÉTODOS EMPLEADOS PARA EL ANÁLISIS

ANEXO F-1. Determinación del contenido de antocianos monoméricos totales.

ANEXO F-2. Determinación del grado alcohólico.

ANEXO F-3. Determinación del contenido de metanol, alcoholes superiores, aldehídos y ésteres mediante cromatografía.

ANEXO F-4. Ficha de catación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

ANEXO G. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO Y DE GRADO ALCOHÓLICO

ANEXO H. FOTOGRAFÍAS

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) de aceptada calidad fisicoquímica, microbiológica y sensorial; 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 efectuaron análisis fisicoquímicos de control durante el periodo fermentativo y trasiegos de la bebida como sólidos solubles, pH y acidez, y 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, presentando mayores pérdidas de AMT los tratamientos elaborados con la relación 1:4 (fruta:agua), a diferencia de los tratamientos elaborados con la relación 1:3.

En base al análisis sensorial se determinó que el mejor tratamiento es 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 incluso superior al vino tradicional de uva y que cumple los requisitos fisicoquímicos y microbiológicos para bebidas fermentadas.

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Tema de investigación

Aplicación de un tratamiento enzimático con enzimas pectolíticas (Pectinex Ultra SP-L y Ultrazym AFPL) en la obtención de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) y su efecto en el contenido de antocianinas.

1.2. Planteamiento del problema

1.2.1. Contextualización

Macro

La región andina, uno de los mayores centros de domesticación de plantas del mundo, fue escenario de civilizaciones que desarrollaron una agricultura autóctona con la domesticación de un gran número de especies de plantas nativas (Vavilov, 1960). En la franja altitudinal se produce una de ellas, el mortiño (Balslev et al., 2006).

El mortiño crece en el norte de Sudamérica, es especialmente difusa en el norte de los Andes, encontrándose principalmente en elevaciones desde los 1800 a los 3800 m. Estas plantas no son cultivadas, pero esta fruta es recolectada de los arbustos que crecen de manera silvestre para ser vendidos en mercados de pueblos y ciudades.

El mortiño de los Andes es diferente del blueberry (nativo de Norte América) y que se comercializa en el mercado internacional, por lo que está siendo promocionado como *Andean blueberry* (Pérez y Valdiviezo, 2007).

Los “vinos” de frutas son producidos en países en los cuales el clima dificulta o imposibilita la producción natural de viñas y por el contrario permite la producción de otras frutas fermentables, siendo una tecnología alternativa aplicable para los cultivos frutales. En mercados de Centroamérica, Caribe y norte de Sudamérica, el “vino” de frutas es una alternativa que toma cuerpo y origina el crecimiento de emprendimientos desarrollados a partir de frutas locales y de temporada; ganando terreno en particular, en países de tradición no vinícola como Brasil, Venezuela, Panamá y Costa Rica (Brizuela, 2008).

Meso

Por ahora, en Colombia, Bolivia y Venezuela, no se conoce que existen cultivos comerciales de *Vaccinium floribundum*, sino únicamente se lo encuentran formando parte de cercas vivas, pequeñísimas parcelas de montaña de páramo en los que la fruta crece en forma silvestre. Sin embargo, domesticando al mortiño se podría lograr mejorar la calidad de esta fruta y alcanzar el mercado internacional, Su hábito de crecimiento produce una sola cosecha extendida entre octubre y diciembre de cada año (Pérez y Valdiviezo, 2007).

El mortiño posee un interesante potencial en el mercado como una nueva fruta que puede cultivarse y promoverse su consumo en el mercado debido a la amplia aceptación de especies muy similares. Sin embargo, es posible que la producción tenga apenas acceso a nichos de mercado similares al de *V. huckleberries* de Norteamérica, puesto que sería difícil que el mortiño desplace por su limitada calidad, el amplio mercado establecido para la extensa producción de *blueberry* norteamericano, chileno y argentino. (MAG, 1998).

El vino continua ganando terreno frente a la tradicional cerveza y los licores destilados, especialmente con las variedades de “vinos” frutales, que tienen particular éxito en países de tradición no vinícola como Brasil, Venezuela, Panamá, entre otros (Brizuela, 2008).

Micro

En Ecuador el mortiño -comercializado en mercados locales y a menudo en ciudades- se obtiene únicamente de las plantas silvestres de los páramos andinos (Balslev et al., 2006).

Su consumo es básicamente en fresco y algo procesado. Se consume esta fruta a nivel nacional principalmente para elaborar la tradicional colada morada, un plato típico ecuatoriano de la época de fines de octubre hasta la primera semana de noviembre (National Research Council, 1989).

El mortiño es una planta promisoría muy frecuente de forma silvestre en las partes altas de la cordillera desde los páramos del Carchi hasta Tambo en Cañar, además se conocen datos proporcionados por el Parque Nacional Cotopaxi que ubican a la zona de adaptación del mortiño desde los 1000 m.s.n.m. hasta los 4500 m.s.n.m., pero debido a la expansión de las áreas agrícolas se ha relegado a esta especie a zonas de páramo comprendidas entre los 3400 a 3500 hasta los 4500 m.s.n.m. Para Ecuador, en el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos se ha registrado una sola especie, *Vaccinium floribundum* (Ramirez y Williams, 2003 y Huachi et al., 2012). Sin embargo, datos del Herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, indican que se encuentran registradas tres especies de mortiño, las cuales son *Vaccinium distichum*, *Vaccinium crenatum*, y *Vaccinium floribundum*, siendo la especie más común *Vaccinium floribundum* Kunt.

El probar nuevas sensaciones, experiencias y sabores ha hecho que el consumo de vino en el país aumente. Aunque Ecuador no es un país con tradición en el consumo de vino, el crecimiento promedio de más del 178% en las importaciones de este producto en los últimos 10 años refleja un aumento en el gusto por esta bebida (Layedra, 2012 y Ayala, 2011).

Actualmente en Ecuador existen cinco productores de vino, de los cuales dos ya tienen mercado y reconocimiento a escala internacional. El consumo anual per cápita es de una botella y media. La oferta chilena de vino domina el 73% del

mercado ecuatoriano, pero la argentina va en crecimiento, con el 13%. En el país, aún sigue prefiriéndose precio a calidad (Ayala, 2011).

1.2.2. Análisis crítico

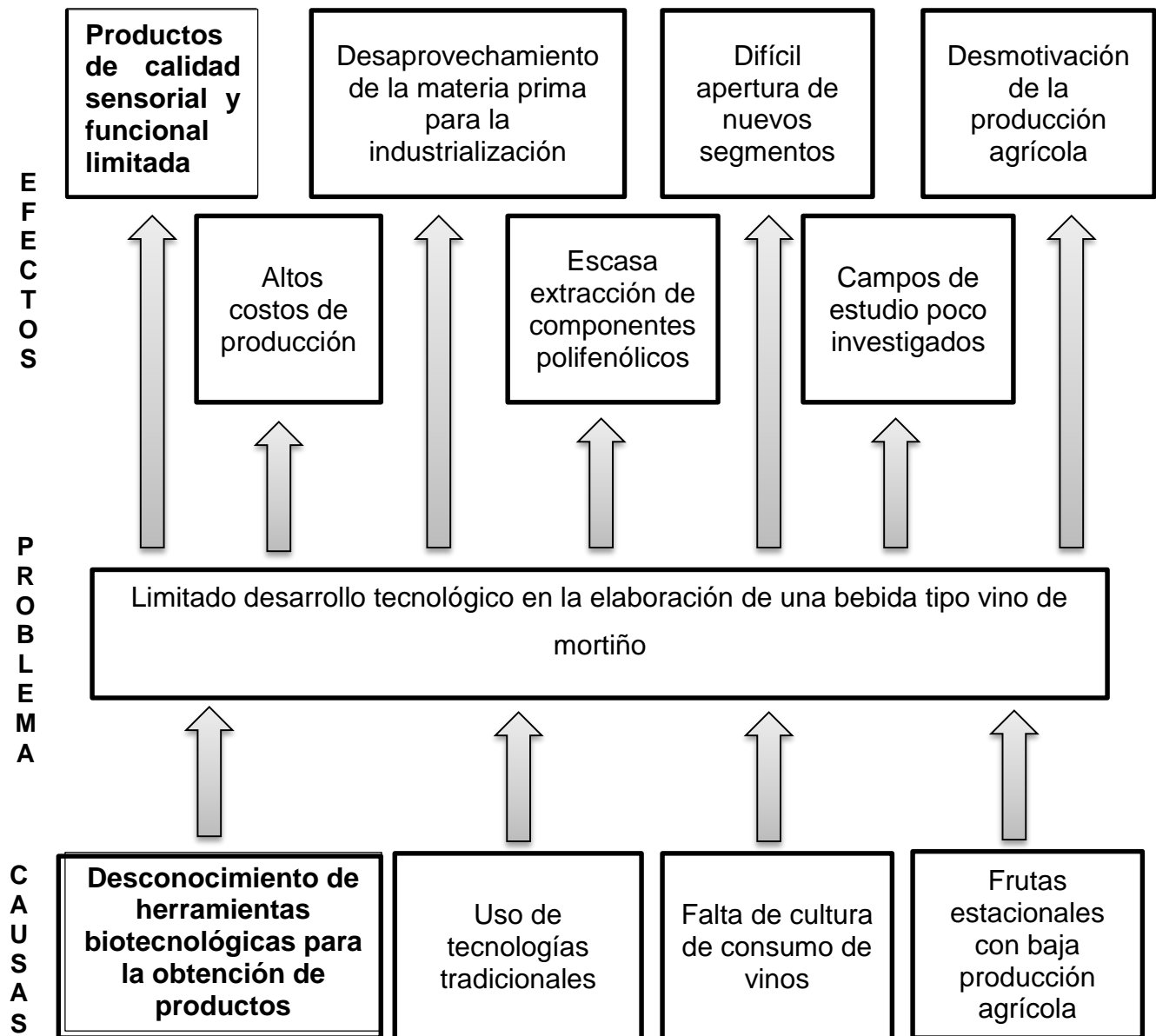


Figura 1. Árbol de problemas
Elaborado por: José Jácome, 2014.

1.2.3. Prognosis

En el caso de no desarrollarse el presente trabajo, se limitará la investigación que permita la utilización de materias primas poco industrializadas como el mortiño, impidiendo el desarrollo agroindustrial y la producción agrícola de la fruta.

Sin la investigación de alternativas biotecnológicas que permitan mejorar la calidad sensorial y funcional de una bebida alcohólica tipo vino de mortiño, no se aprovecharían de manera integral los compuestos naturales presentes en la fruta, que aportan características sensoriales y funcionales al producto.

Además, no se impulsaría una cultura de consumo de bebidas fermentadas a partir de frutas de excelente calidad sensorial y a precios asequibles.

1.2.4. Formulación del problema

- ¿Es posible aplicar enzimas pectolíticas (Pectinex ultra SP-L y Ultrazym AFPL) en la obtención de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum kunth*)?

1.2.5. Preguntas directrices

- ¿Cómo influye el tratamiento enzimático en el contenido de antocianinas de la bebida tipo vino de mortiño?
- ¿Qué efecto tiene el utilizar levadura de panificación fresca o liofilizada en la fermentación de la bebida?
- ¿Cuál de los tratamientos será el mejor en base a los atributos considerados en la evaluación sensorial?

- ¿Cuál sería el costo de producción de una bebida tipo vino de mortiño tratada enzimáticamente?

1.2.6. Delimitación del objeto de investigación

Área: Bebidas

Sub-área: Bebidas Alcohólicas

Sector: Fermentación alcohólica

Subsector: Vinos frutales

Subárea: Fermentación

Delimitación Temporal: El trabajo será investigado entre febrero 2013 y febrero 2014

Delimitación Espacial: Laboratorios de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato

1.3. Justificación

En la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos no existen estudios relacionados con el procesamiento y/o caracterización del mortiño, alimento ancestral que ha sido utilizado por nuestros habitantes desde tiempos inmemoriales.

En décadas anteriores este producto tenía importancia dentro de la alimentación ecuatoriana y era de fácil adquisición en los campos de la Sierra, pero con el pasar de los años su consumo ha disminuido y la planta también ha comenzado a desaparecer, debido al limitado conocimiento acerca de sus beneficios y la dificultad de propagación.

La industria ecuatoriana presenta una limitada producción de bebidas alcohólicas fermentadas y un escaso uso de preparados enzimáticos que resultan en productos de limitada calidad, siendo la investigación dentro del campo biotecnológico, la herramienta que permita ampliar los conocimientos y aportar al desarrollo agroindustrial.

Estudios han demostrado que el mortiño tendría más polifenoles que otros frutos como la uva, fresa y mora. La presencia de estos antioxidantes en los alimentos retarda y previene la oxidación de las moléculas y constituye un factor determinante en el tratamiento de enfermedades cardíacas y otras neurológicas; de esta manera, un alimento elaborado a base de mortiño podría aportar con beneficios, no únicamente nutricionales sino también funcionales.

Con esta investigación se utilizarán enzimas pectolíticas en la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño, tratamiento que permitirá mejorar la extracción de los compuestos fenólicos presentes en el mortiño. De esta manera se pretende obtener un producto de mejores características sensoriales y a la vez funcional por la presencia de estos componentes antioxidantes.

1.4. Objetivos

1.4.1. Objetivo general

- Aplicar enzimas pectolíticas (Pectinex ultra SP-L y Ultrazym AFPL) en la obtención de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

1.4.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto en el contenido de antocianinas en la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) tratada enzimáticamente con enzimas pectolíticas (Pectinex ultra SP-L y Ultrazym AFPL).

- Comparar el comportamiento fermentativo de la levadura de panificación fresca y liofilizada en la elaboración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).
- Determinar el mejor tratamiento en base a los atributos evaluados durante el análisis sensorial de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).
- Realizar un estudio económico de costos de producción del mejor tratamiento con enzimas Pectinex ultra SP-L y Ultrazym AFPL.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes investigativos

De las investigaciones que se han llevado a cabo en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato acerca de elaboración de bebidas fermentadas a base de frutas, se han encontrado como referencias las siguientes:

Villacrés (1985), realizó una fermentación alcohólica con mostos de mora con levadura de vino y levadura de panificación. Señaló que la levadura de pan es una especie con gran capacidad de sedimentación, propiedad que contribuyó a la transparencia de los vinos tratados con este tipo de levadura, demostrándose también su capacidad fermentativa desde las fases tumultuosas hasta el final de la fermentación.

Procel (1985), estableció una alta asociación entre los sólidos solubles en el mosto y el rendimiento de producción de etanol, por lo cual la fermentación alcohólica se llevó a cabo con las respectivas medidas de los sólidos solubles en °Brix. Además se observó que el método de prensado no afectaba en el rendimiento obtenido. Se indicó que en ciertos vinos se produjo una autoclarificación y en otros fue útil la presencia de una solución de gelatina.

Cabrera y Velasco (1989), indicaron que desde el punto de vista de la clarificación natural, resulta equivalente realizar trasiegos cada 10 o 20 días, no obstante, dado que producen pérdidas de vino y el producto se pone en contacto con el aire con más frecuencia al realizar los trasiegos muy seguidos, recomienda hacerlo cada 20 días para evitar la repercusión en la calidad organoléptica final.

Bayas (1989), menciona que el pH tiene importancia microbiológica, química y física, pues una variación de pH entre 2,8 y 3,5 no permite el desarrollo de microorganismos indeseables, y más bien permite el desarrollo óptimo de las levaduras. Por otro lado, dentro de estos valores de pH se facilita la inversión del azúcar, lo que permite una mejor asimilación por parte de las levaduras. Además se observó que los vinos tiernos que tenían un pH bastante bajo, favorecen a la clarificación.

Alulema y Salinas (1993), indicaron que la levadura de pan (Levapan) influye significativamente en el porcentaje de etanol, ya que, con este tipo de levadura se obtiene un rendimiento de etanol mayor que si se trabaja con levadura de vino. Por otra parte, con levadura de vino se acelera el proceso fermentativo. De lo anterior se concluyó que es posible utilizar cualquiera de las dos cepas de levaduras ensayadas, ya que cada una posee sus ventajas, pero por razones prácticas y de adquisición se recomienda usar la levadura de pan granulada, la cual se puede obtener fácilmente en el país, lo que no sucede con la levadura de vino.

López (1994), hizo énfasis en que tanto la levadura de pan como la de vino tuvieron un efecto similar en cuanto se refiere a la adaptabilidad y la producción de alcohol, lo que demuestra que poseen propiedades y características similares puesto que pertenecen al mismo género y a la misma especie. Destaca su importancia, pues debido a la facilidad con que se puede conseguir la levadura de producción nacional y obtener resultados similares a cuando se emplea la levadura de vino que es mucho más costosa y más susceptible de contaminación o alteraciones.

Fernández y Zapata (1994), reportaron que de los factores estudiados, fue notoria la influencia de la preparación del mosto sobre la fermentación alcohólica de los mostos de uvilla, composición química y propiedades organolépticas del vino terminado. Se ha determinado que el tipo de prensado y el tipo de nutrientes tienen un efecto significativo sobre la acidez, sólidos solubles y porcentaje de etanol tanto en el vino seco como en el vino dulce.

Gamboa (2003), señala que la intervención de los preparados enzimáticos en la producción de vino de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) mejora el rendimiento del vino y ayuda también en la clarificación, facilitando la liberación del zumo con la degradación de la pectina, estos se puede observar claramente en los valores de absorbancia, el vino obtenido sin preparado enzimático contiene los valores más altos de absorbancia, mientras que los vinos obtenidos con Vinozym-L tienen los valores más bajos de absorbancia, esto indicó que la enzima actúa sobre la clarificación del vino. El preparado enzimático ayuda a descomponer selectivamente los polisacáridos del hollejo, liberando los valiosos compuestos de color y aroma responsables del bouquet del vino.

Andrade (2009), determinó el efecto que tiene el empleo de enzimas pectolíticas (Lallzyme C-MAX), en la fase de clarificación durante el proceso de elaboración de vino de manzana de variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*), determinándose que el momento de adición de enzimas pectolíticas en la fase de clarificación durante el transcurso de elaboración de vino de manzana no interviene directamente; sin embargo, la utilización de este paquete enzimático influye directamente en la eficiencia del proceso de clarificación, lo que evita la realización de un mayor número de trasiegos. También se determinó que la levadura de panificación Levapan y sin adición de enzima resultó como mejor tratamiento, puesto que fue de mayor agrado por parte de los catadores en cuanto a su apreciación global.

Guano (2010), señaló en base al análisis cromatográfico, que el tratamiento enzimado con Lallzyme C-MAX influye favorablemente en el desarrollo del bouquet del vino de mora (*Rubus glaucus* Benth), ya que posee menor cantidad de alcohol isoamílico (efecto aromático desagradable) en comparación con el tratamiento testigo. En lo referente a los parámetros de color, todos los tratamientos elaborados muestran tendencias en su evolución similares al vino tinto, es decir que la intensidad colorante, el color del vino, el color de los antocianos libres y el contenido total en antocianos monoméricos disminuyen; a diferencia del color de los

pigmentos poliméricos, la tonalidad y la edad química del vino que se incrementan con el transcurso del tiempo de almacenamiento.

Córdova (2010), indicó que el efecto de la condición del mosto es muy importante en la calidad sensorial de los vinos de mora (*Rubus glaucus* Benth). Los mostos con sólidos influyeron favorablemente sobre las propiedades organolépticas del vino, la presencia de pulpa y semillas de la fruta durante la etapa de fermentación permitieron realzar las propiedades organolépticas, mejoran la extracción del color, aroma y dulzor, permiten conseguir menor acidez y astringencia respecto a los vinos elaborados con mostos limpios; por lo tanto el conjunto de parámetros organolépticos proporcionan superior apreciación global. Además, la utilización de la levadura *Saccharomyces cerevisiae bayanus* y con la condición del mosto utilizado, permitió obtener un producto de características organolépticas atractivas, particularmente: color rojo vivo, gran intensidad en el aroma frutal, sabor dulce asociado a los azúcares y alcoholes presentes, acidez adecuada que realza el carácter frutal y astringencia marcada que con mayor tiempo de maduración tendrá equilibrio.

Criollo (2011), desarrolló la tecnología para la elaboración de vino de mezcla de frutas a base de mora de Castilla (*Rubus glaucus* Benth) y manzana variedad Emilia (*Malus communis*) de adecuadas características sensoriales, las mismas que presentan un alto porcentaje de edad química del vino. La mezcla de frutas en la obtención de vino se realizó para mantener el equilibrio ácido adecuado, mezclando así frutas muy ácidas con otras de menor acidez presentándose en esta investigación el caso de la mora de Castilla y manzana Emilia. Al inicio el mosto es rico en antocianinas monoméricas, y durante la etapa de maduración estas antocianinas fueron uniéndose a compuestos poliméricos incrementando el valor de WCA; lo que da excelentes características organolépticas, con un aroma frutas con astringencia y acidez moderada.

Iza (2011), señaló que mediante el uso de las enzimas Pectinex Ultra SP-L y Ultrazym AFPL en el proceso de extracción se diferenció entre una enzima y otra en cuanto al porcentaje de jugo de zanahoria extraído comparado con el porcentaje

de pulpa de zanahoria no tratada con enzima, obteniendo el 59% de rendimiento con enzima Ultrazym AFPL, mientras que con la enzima Pectinex Ultra SP-L se obtuvo el 52%. A manera de referencia, el porcentaje de jugo de zanahoria extraído de la pulpa no tratada con la enzima fue de solo 36%. Además, se manifestó que las enzimas a más de mejorar la extracción del jugo tuvieron un efecto positivo sobre la calidad del jugo; ya que se tuvo una mejor extracción de carotenoides, sin alterar el color del jugo comparado con el jugo obtenido de zanahoria no tratada enzimáticamente, mediante el descenso de la absorbancia se determinó que existe diferencia significativa al utilizar las enzimas.

Ocaña (2012), realizó 3 diluciones del mosto de mora (*Rubus glaucus* Benth) con la finalidad de obtener la mezcla más adecuada, siendo la proporción fruta agua 1:4, 20% de fruta y 80% agua con un nivel de dulzor de 12°Brix el tratamiento mejor valorado durante la evaluación sensorial presentando color, aroma, acidez y aceptabilidad adecuada. Los resultados de los análisis químicos obtenidos para el contenido de polifenoles totales de los vinos de mora osciló entre 602 y 1217 mg/l, los elagitaninos fueron los compuestos fenólicos mayoritarios con valores entre 303 y 827 mg/l y la concentración en antocianos HPLC varió entre 39,1 y 84,4 mg/l, la actividad antioxidante osciló entre 3,82 y 9,21 milimoles trolox/l, resultando inferior a estudios anteriores realizados.

2.2. Fundamentación filosófica

La presente investigación se basa en el paradigma positivista que según Hernández et al. (2008), tiene como escenario de investigación el laboratorio a través de un diseño pre estructurado y esquematizado; su lógica de análisis está orientada a lo confirmatorio, reduccionista, verificación, inferencial e hipotética deductivo mediante el respectivo análisis de resultados. Teniendo como fundamento experiencias. Además la realidad es única y fragmentable en partes que se puede manipular independientemente.

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

2.3. Fundamentación legal

La información de las siguientes normas servirá de soporte para el desarrollo del presente proyecto de investigación:

- Norma NTE INEN 0371:87. Bebidas alcohólicas. Vinos. Clasificación y definiciones.
- Norma NTE INEN 0372:87. Bebidas alcohólicas. Vinos. Requisitos.
- Norma NTE INEN 0374:87. Bebidas alcohólicas. Vino de frutas. Requisitos.
- Norma NTE INEN 0360:78. Bebidas alcohólicas. Determinación del grado alcohólico en vinos.

2.4. Categorías fundamentales

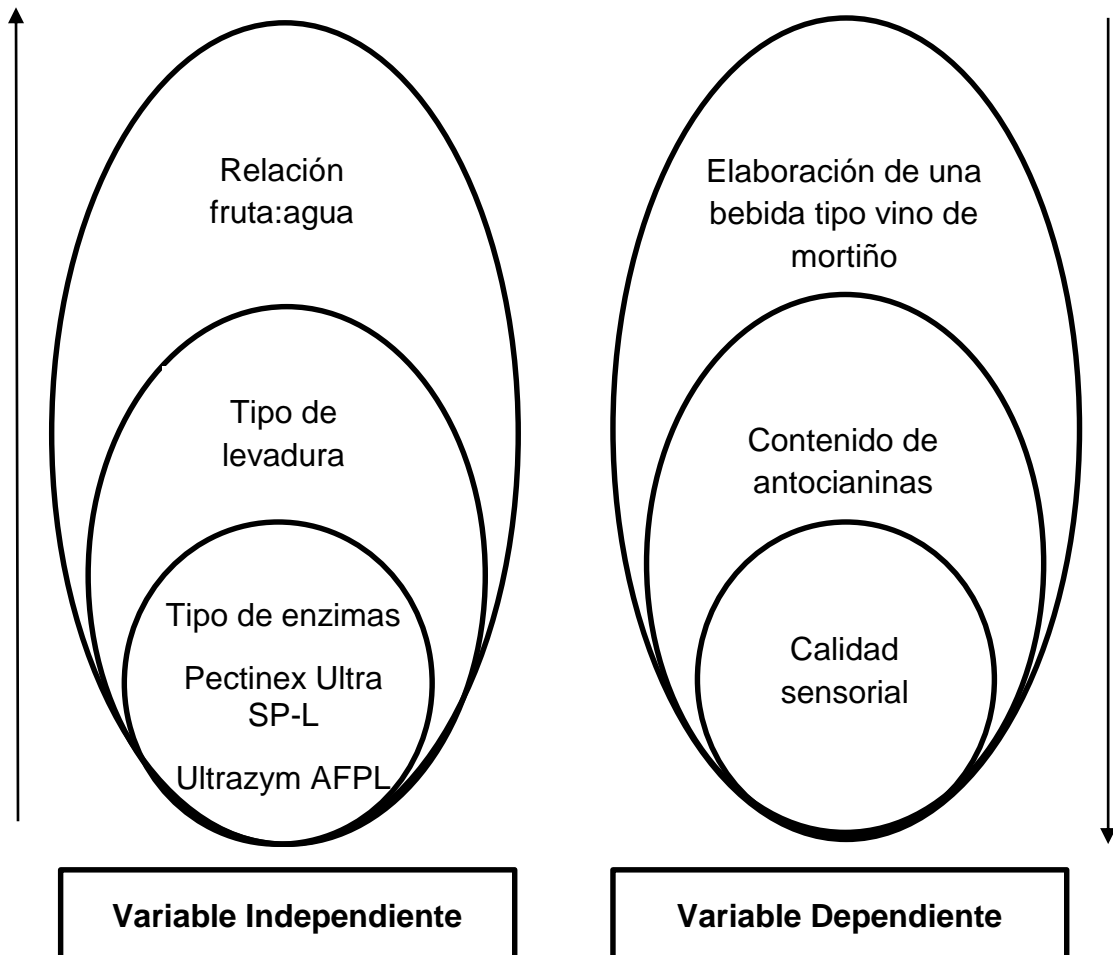


Figura 2. Categorías fundamentales

Elaborado por: José Jácome, 2014.

2.4.1. Marco teórico de la variable independiente

La adición de enzimas pectolíticas es una práctica común en la elaboración de vinos para aumentar el contenido fenólico, mejorar el rendimiento, y facilitar las etapas de clarificación y filtración (Kashyap et al., 2001).

Las paredes celulares de las células de los hollejos forman una barrera frente a la difusión de los constituyentes deseados de la piel, que son los antocianos, taninos y otros polifenoles (Lecas y Brillouet, 1994; Pellerin y Cabanis, 2000; Vidal et al., 2001), de esta manera la aplicación de enzimas pectolíticas ayudaría en la liberación de estos compuestos, al utilizarlas en el hollejo del mortuño durante la elaboración de la bebida tipo vino de mortuño.

El uso de enzimas pectolíticas exógenas para mejorar la extracción de color durante la elaboración de vino, es una práctica común desde los años setenta, pero los resultados encontrados por diferentes autores son contradictorios y así mientras algunas investigaciones muestran aumentos de color en vinificaciones donde se han usado estas enzimas (Felix y Villettaz, 1983; Servili et al., 1992; Zent e Inama, 1992; Bakker et al., 1999), otras no han encontrado ningún beneficio (Capdeboscq et al., 1994; Wightman y Wrolstrad, 1995; Wightman et al., 1997).

2.4.1.1. Enzimas

Las enzimas son proteínas catalizadoras de las reacciones bioquímicas. Un catalizador interviene en una reacción para que ésta ocurra más rápidamente, una vez que la reacción se ha completado, queda tal como estaba al principio. Una de las propiedades fundamentales de las enzimas en relación a su actividad catalítica es su especificidad. Esta es una consecuencia de la afinidad de la enzima por su sustrato, que resulta en la acomodación del mismo en su sitio activo (Peña et al., 2004).

En términos generales, todos los nombres de las enzimas terminan en *asa*, llevando como primera parte del nombre el del sustrato sobre el cual actúan, y en algunos casos el del tipo de reacción que catalizan. Como por ejemplo, las pectinasas que actúan sobre las pectinas.

a. Enzimas pectolíticas

Las enzimas pectolíticas, también conocidas como pectinasas, son productos biotecnológicos que están a disposición en forma comercial desde 1950 y corresponden a enzimas producidas en grandes cantidades a bajo costo a partir de fermentaciones microbianas de *Aspergillus niger* y *A. oryzae*, sus principales usos se encuentran en la industria frutícola. La FDA permite el uso de estas enzimas en alimentos y poseen un nivel GRAS (García et al., 2004).

Según Romero (2008), el grupo de las enzimas pectolíticas se puede clasificar en función del mecanismo de degradación de las sustancias pécticas (Figura 3); así, la pectinesterasa (PE) cataliza la desesterificación de la pectina y las enzimas despolimerizantes catalizan la escisión del enlace glicosídico α -(1-4) de la cadena de galacturonano de la molécula de pectina.

Las enzimas despolimerizantes pueden clasificarse, así mismo, en función del mecanismo de rotura de los enlaces glicosídicos. La poligalacturonasa (PG) escinde los enlaces por medio de hidrólisis, mientras que la pectinliasa (PL) y la pectato liasa lo hacen mediante β -eliminación.

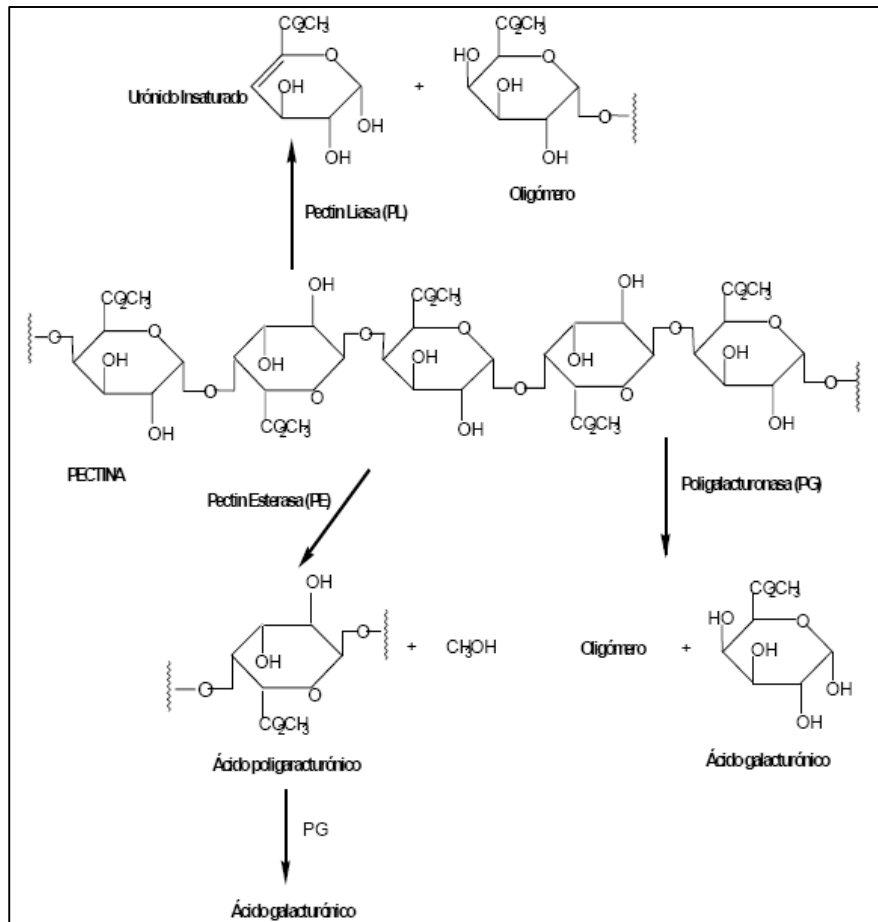


Figura 3. Mecanismo de acción de las pectinasas

Fuente: Romero, 2008.

2.4.1.2. Pectinex Ultra SP-L

Pectinex Ultra SP-L es una preparación enzimática pectinasa natural que contiene principalmente poligalacturonasa. Es producida por el hongo *Aspergillus aculeatus* mediante fermentación sumergida de este microorganismo. Además de su principal actividad pectolítica, Pectinex Ultra SP-L tiene diversas actividades colaterales como hemicelulasa y celulasa. Esta actividad enzimática está presente naturalmente en pequeñas cantidades en las células de las frutas y son las responsables para el ablandamiento durante la maduración (Novozymes, 2006).

Pectinex Ultra SP-L se utiliza como un auxiliar de proceso para mejorar el rendimiento a través de su actividad degradante de la pared celular. Otro efecto de

la enzima es la desestabilización de la emulsión de aceite-agua, que conduce a la separación más fácil en la fabricación de aceite de oliva (Novozymes, 2006). Típicamente usada en la fabricación de jugos, posee innumerables y únicas aplicaciones. Puede ser usada para pelar perfectamente frutas cítricas sin la utilización de un cuchillo. También ha sido usada para pelar patatas y en la clarificación de jugos, combinando el proceso o no con la centrifugación (Modernist pantry, 2013).

2.4.1.3. Ultrazym AFP-L

Ultrazym AFP-L es una preparación enzimática altamente activa con un espectro único de actividad pectolítica y además de actividad celulítica. La preparación de la enzima se produce por fermentación sumergida de *Aspergillus niger* y *Trichoderma reesei*, microorganismos fúngicos que no han sido modificados genéticamente. La enzima tiene un efecto reductor de la viscosidad pronunciado en materiales vegetales (Novozymes, 2002).

Ultrazym AFP-L se ha diseñado especialmente para el tratamiento de puré y pulpa (puré secundario) de manzanas y peras. Lleva a la desintegración casi completa de las pectinas y las paredes celulares de la fruta. El producto da rendimientos extremadamente altos de jugo (por encima del 95%, calculado sobre extracto seco soluble de la fruta) y aumentó significativamente la capacidad de extracción de otros compuestos (Novozymes, 2002).

2.4.1.4. Vino de frutas

El vino es definido, legal y tradicionalmente, como el producto de la fermentación del jugo de uvas. Pero más allá de esta definición, en muchas legislaciones se contempla la figura del vino de frutas como aquel proveniente de la fermentación del jugo de determinada fruta, con la única exigencia de indicar claramente dicho origen (González, 2012). Por ejemplo, según la norma INEN 374 Segunda revisión

1987-07, el vino de frutas debe referirse como *vino de...* , seguido por el o los nombres de las frutas empleadas, pudiendo presentar la coloración y el aroma característicos, de acuerdo a la clase de fruta utilizada y a los procedimientos enológicos seguidos.

El vino de frutas debe cumplir con los requisitos establecidos en el cuadro 1.

Cuadro 1. Requisitos del vino de frutas

REQUISITOS	UNIDAD	MÍNIMO	MÁXIMO	MÉTODO DE ENSAYO
Grado alcohólico a 20°C	°GL	5	18	INEN 360
Acidez volátil, como ácido acético	g/l	-	2.0	INEN 341
Acidez total, como ácido málico	g/l	4.0	16	INEN 341
Metanol	*	Trazas	0.02	INEN 347
Cenizas	g/l	1.4		INEN 348
Alcalinidad de las cenizas	meg/l	1.4		INEN 1
Cloruros, como cloruro de sodio	g/l	-	2.0	547
Glicerina	**	1.0	10	INEN 353
Anhidrido sulfuroso total	g/l	-	0.32	INEN 355
Anhidrido sulfuroso libre	g/l	-	0.04	INEN 356
				INEN 357
* cm ³ por 100 cm ³ de alcohol anhidro.				
** g por 100 g de alcohol anhidrido.				

Fuente: norma INEN 374 Segunda revisión 1987-07

2.4.1.5. Mortiño

a. Generalidades

El mortiño, de la familia Ericaceae, llamado también uva de monte, es una fruta nativa de los páramos ecuatorianos (Loján, 2003). Es considerada endémica de los páramos ecuatorianos 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. Actualmente se lo emplea para consumo fresco así como en mermeladas, dulces y jugos; aunque sigue siendo poco común (Morales, 2011). El fruto puede ser conservado en refrigeración sin

alterar sus características organolépticas y nutricionales, tampoco presenta variaciones de volumen o peso (Coba et al., 2012).

Hace años el mortiño era parte importante dentro de la alimentación ecuatoriana y era de fácil adquisición en los campos de la sierra, pero en los últimos años su consumo ha venido decreciendo, lo que ha incrementado el riesgo de que desaparezca debido a la dificultad de su propagación y al poco conocimiento de sus beneficios. Recientes trabajos indican que el mortiño crece de manera silvestre y tiene una pequeña producción anual, por lo que se considera la posibilidad de su reproducción *in vitro* (Torres y Trujillo, 2010).

b. Taxonomía

El mortiño, que es conocido en Ecuador con nombres vulgares como manzanilla de cedro, raspadura quemada, blueberry de los Andes y en Colombia como agrás, uvito de monte, arándano azul (Pérez y Valdiviezo, 2007); es conocido con el nombre científico de *Vaccinium floribundum* Kunth y su clasificación taxonómica se presenta en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Clasificación taxonómica del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Ericales
Familia	Ericaceae
Género	Vaccinium
Especie	<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth

Fuente: (González, 2002; MAG, 1998)

c. Descripción botánica

El mortiño es un arbusto ramificado cuya altura llega hasta 2,5 m, de hojas muy pequeñas con el margen aserrado o crenado flores de menos de 1 cm, solitarias o en racimos (Coba et al., 2012). Las flores son rosadas y el follaje verde oscuro dando a esta planta una bonita apariencia. El fruto es una baya esférica de 5 a 8 mm de diámetro de color azul y azul oscuro o morado, a veces con cubierta cerosa y contiene numerosas pero difícilmente detectables pequeñas semillas. (Ver Fig. 4) (Jorgensen et al., 1995; Roldan, 2012).



Figura 4. Frutos de mortiño

Fuente: Vasco, 2009.

d. Usos

El fruto de mortiño se usa principalmente como alimento, de consumo en fresco o para la elaboración de jaleas, mermeladas, helados y postres (Aguilar et al., 2009). Su principal uso en Ecuador es en la tradicional colada morada, bebida elaborada principalmente en Noviembre de cada año honor a los Santos Difuntos (Noboa, 2010; Estrella, 1998).

Los frutos del mortiño son utilizados también para tinturar ropa de lana, triturando las bayas e hirviendo durante media hora, luego se introduce la lana o prenda que se desee teñir con unas gotas de limón que servirán para fijar el color (Noboa, 2010).

e. Valor antioxidante

El fruto al ser de color negro evidencia la alta concentración de antocianidinas como polifenoles de estos se han reportado la presencia de ácido gálico y sus ésteres, derivados del ácido vainillínico e hidroxibenzoico, proantocianidinas, quercetina, miricetina derivados del ácido clorogénico e hidroxicinámico, antocianinas que evidencian una capacidad antioxidante de 1200 mg Trolox/100g (Vasco, 2009).

Una característica nutricional relevante de las frutas es la cantidad de vitaminas que aportan al bienestar humano, a razón del mortiño se reporta la presencia de ácido ascórbico 14 g/100g (Vasco, *et al.*, 2009), (USDA, 2010); *b*-carotenos 36 ug/100g (Vasco *et al.*, 2009); así como Tiamina 0,05 mg/100g; Riboflavina 0,05mg/100g; Niacina 0,18mg/100g; ácido patoténico 0,09 mg/100g (USDA, 2010).

Las antocianidinas y antocianósidos 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 myrtillus*, en cuya composición química presenta antocianidinas y antocianósidos del 0,5%. (Alonso, 2004), similar a la presencia en el mortiño, donde la caracterización fitoquímica demuestra la presencia de delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina, malvidina y 3-glucosildelfinidina (Vasco *et al.*, 2009).

2.4.1.6. Levadura

Las levaduras son hongos unicelulares microscópicos y desempeñan un papel central en la enología, ya que son las responsables de la fermentación alcohólica, que es el proceso por el cual el mosto se transforma en vino (Moreno, 2011).

Las levaduras se encuentran de forma silvestre en la mayoría de las frutas y de las flores. Estas levaduras fermentan los azúcares, produciendo CO₂ y etanol. Si se exprime una fruta y el zumo se deja en un recipiente que tenga una superficie limitada de contacto con el aire, de manera que los microorganismos aerobios competidores no se desarrollen más que las levaduras, casi seguro que se producirá una fermentación alcohólica; el resultado es un vino (Ingraham e Ingraham, 1998). La especie más conocida y utilizada en enología es *Saccharomyces cerevisiae*, la misma especie responsable de la producción del pan, de la cerveza y de otras bebidas alcohólicas. Esta diversidad de aplicaciones es indicativa de la diversidad genética y fenotípica que puede albergar esta especie. De hecho, durante años se ha explotado esta diversidad genética en el ámbito enológico dando lugar a la selección de cepas o genotipos (individuos) apropiados para cada necesidad (Moreno, 2011).

a. *Saccharomyces cerevisiae*

La taxonomía clásica de las levaduras es una valiosa herramienta para establecer con mucha precisión la clasificación de las levaduras; esto ha permitido percatarse de que a pesar de la gran diversidad de formas, funciones y características bioquímicas, muchas de las especies no son sino diferentes cepas de una sola especie: *Saccharomyces cerevisiae* (Garibay et al., 2004).

La forma de las células de *Saccharomyces cerevisiae* puede ser esférica, elipsoidal, cilíndrica o sumamente alargada, en agrupaciones de dos, cadenas cortas o racimos o bien sin agruparse; poder formar o no pseudomicelio. La apariencia de las colonias es muy diversa: de color crema o ligeramente café, de lisas a rugosas, en ocasiones sectorizadas, brillantes u opacas. Esporulan formando de una a cuatro ascosporas de forma redonda a ligeramente elipsoidal. Fermentan y asimilan la glucosa normalmente también la sacarosa, maltosa y galactosa, no así la lactosa. No pueden utilizar como fuente de nitrógeno el nitrato (Yarrow, 1984).

Desde el punto de vista funcional algunas características generales importantes en las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* son: capacidad de flocular, capacidad para producir alcohol, tolerancia al alcohol, tolerancia a la osmoralidad del medio, tolerancia a altas temperaturas, capacidad y vigor en la fermentación de azúcares y capacidad para producir congenéricos (Garibay et al., 2004).

i. Levadura Levapan (pasta)

- **Descripción**

Microorganismo vivo unicelular conocido como *Saccharomyces cerevisiae*. Producto natural, fresco y estable que garantiza la mejor actividad en todo tipo de producto que requiera fermentación para obtener los mejores resultados de sabor, aroma y rendimiento.

- **Composición**

Humedad: 66 – 68%

Sólidos: 32 – 34%

- **Envase**

Bloque de 500g empacado en caja corrugada de 50 unidades.

- **Vida útil**

30 días en condiciones óptimas de almacenamiento.

- **Almacenamiento**

Mantenerse en refrigeración a 2°C para que la levadura mantenga una temperatura de 2 a 5 °C.

ii. Levadura Fleischmann (lío filizada)

- **Descripción**

Levadura para panificación, color café claro, olor ligeramente fuerte, sabor a harina, pH 6,0 - 6,2; textura rústica, obtenida mediante controlados procesos de fermentación, separación y concentración a través de filtros de vacío que le otorgan una gran actividad y eficacia fermentativa.

- **Composición**

Levadura para panificación, emulsionante (E-491).

- **Envase**

Bolsas de 500g.

- **Vida útil**

24 meses

- **Almacenamiento**

A temperatura ambiente de 30 a 32 °C.

2.4.2. Marco teórico de la variable dependiente

2.4.2.1. Compuestos fenólicos y color del vino

El color es una de las características organolépticas del vino que va asociado a su calidad. Durante la catación, este es el primer atributo en ser evaluado y va a ofrecer información sobre la calidad, características gustativas, posible aroma y el buen estado de conservación del vino (Romero, 2008).

Los compuestos fenólicos presentes en la piel de la uva van a ser los mayores responsables del color del vino tinto, y en el caso del mortiño, son estos mismos compuestos los que se encuentran presentes (Roldán, 2012). Estos compuestos fenólicos se clasifican como no flavonoides (ácidos benzoicos, ácidos cinámicos y estilbenos) y flavonoides (flavonoles, antocianos y flavanoles). Los antocianos y los taninos (flavanoles polimerizados o procianidinas) van a ser los compuestos más relevantes en la relación y estabilidad de los vinos tintos (Romero, 2008).

2.4.2.2. Las antocianinas

Las antocianinas pertenecen al complejo grupo de compuestos fenólicos solubles en agua y confieren a frutos, flores y hojas las tonalidades azul, rojo y violeta (Kong et al., 2003). Constituyen el mayor grupo de compuestos fenólicos presentes en bayas como: *Vaccinium spp*, *Rubus spp*, *Ribes rubrum*, *Vitis vinífera*, entre otras (Hakkinen, 2000). Se acumulan en las vacuolas de las tres o cuatro primeras capas celulares hipodérmicas de las bayas, y en algunos casos en el mesocarpio y las semillas (Cantos et al., 2002).

La estructura de las antocianinas se caracteriza por tener un esqueleto básico de quince átomos de carbono (C₆-C₃-C₆) de tipo 2-fenil benzopirona. Son sales de flavilio y glucósidos (están unidos por enlace glucosídico a una molécula de azúcar). Las antocianinas se denominan también antocianos y sus derivados privados del azúcar se denominan antocianidinas (o antocianidoles) (Romero, 2008).

En *Vitis vinífera* se distinguen cinco tipos de moléculas de antocianinas, dependiendo del número de hidroxilos (OH) y grupos de metoxilo (OCH₃) en el anillo B (Figura 5). Existe una mayor diversidad de estos compuestos debido a la acilación de los azúcares con los ácidos acético, p-cumárico y cafeico.

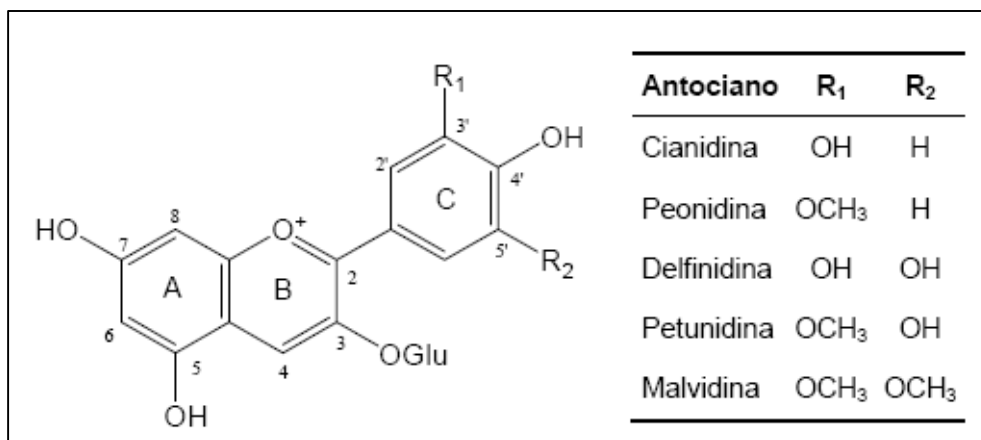


Figura 5. Estructura de las principales antocianinas en *Vitis vinífera*

Fuente: Romero, 2008.

De todas las antocianinas que se conocen actualmente (aproximadamente 20), las más importantes son la pelargonidina, la delfinidina, la cianidina, la petunidina, la peonidina y la malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez (Cano, 2011). La combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas (Badui, 1993).

El mortiño se caracteriza por tener casi exclusivamente un producto de intenso color rojo-violáceo, probablemente un derivado de delfinidina (Cano, 2011).

a. Extracción con enzimas

Las antocianinas se encuentran, particularmente, en las vacuolas (Figura 6) presentes en la piel de las bayas y la pulpa, donde se pueden acumular en unas vesículas esféricas denominadas “antocianoplastos” o “inclusiones antociánicas 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, el cual presenta un bajo contenido alcohólico (Martín y de Ambrosini, 2008).

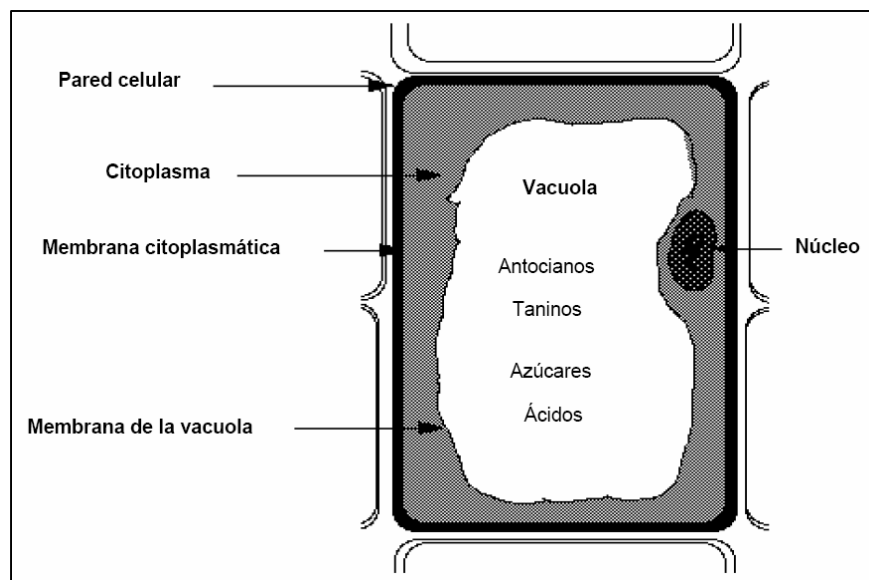


Figura 6. Representación esquemática de la localización de los antocianos a nivel subcelular.

Fuente: Romero, 2008

La adición de enzimas es una práctica común en la elaboración de vinos, para aumentar el contenido fenólico, mejorar el rendimiento, y facilitar las etapas de clarificación y filtración (Kashyap et al., 2001). Las pectinasas, por ejemplo, son complejos enzimáticos efectivos en la despolimerización de pectinas vegetales, polisacárido estructural de la pared celular vegetal, y actúan facilitando la liberación de moléculas asociadas a la membrana celular o intracelular a partir de bayas, tales como polifenoles, pigmentos y compuestos de aroma y sabor (Valdés-Sánchez y Regodón, 1994).

La extracción de los compuestos fenólicos va a depender, debido a su localización, de la degradación de la pared celular, como se ha comentado anteriormente. Esto supone que el uso de enzimas pectolíticas que degraden la pared celular de la piel de la fruta, podría favorecer la solubilización de antocianos y taninos (Romero, 2008). Por lo tanto, se ha estudiado el desarrollo de mezclas complejas de enzimas que ayuden a una rotura más completa de los polisacáridos estructurales de la pared celular, para conseguir un aumento en la extracción de color durante la vinificación (Parley, 1997; Gil y Vallés, 2001; Clare et al., 2002; Romero, 2008). Estos enzimas macerativos podrían incluso modificar la estabilidad, el gusto y la

estructura de los vinos tintos, debido a que no sólo los antocianos van a ser extraídos de las pieles, si no también taninos ligados a las paredes celulares, como resultado de la acción de celulasas y hemicelulasas (Romero, 2008). Estos taninos pueden ayudar a estabilizar el color del vino y a incrementar las sensaciones en boca (Canal-Llaubères y Pouns, 2002).

Desde que se propuso el uso de preparados comerciales enzimáticos para mejorar el color del vino se han llevado a cabo numerosas investigaciones en este campo, que no han sido concluyentes. A pesar de las expectativas iniciales, se han obtenido resultados contradictorios. Estas contradicciones se han atribuido a la diferente naturaleza y actividades de los preparados comerciales enzimáticos, y a la presencia de algunas actividades secundarias (como la β -glucosidasa o la fenol esterasa) en dichos preparados. Ough et al. (1975), observaron que el uso de pectinasas producía una extracción más rápida de los compuestos fenólicos y que se requería un tiempo de contacto menor (20%) para alcanzar el mismo color que en el vino control. Otros estudios también han mostrado que los enzimas de maceración promueven la extracción del color y mejora la calidad del vino tinto (Ough y Berg, 1974; Ough y Crowell, 1979; Felix y Villettaz, 1983; Zent e Inama, 1992). Pero los resultados que se han encontrado referentes a la utilización de estos preparados comerciales para la extracción de color de las uvas no siempre han sido totalmente positivos. Así, Álvarez et al. (2005), observaron que el uso de enzimas comerciales de extracción durante la maceración solamente generaba pequeños incrementos en el color y en la concentración de compuestos fenólicos, afectando adversamente a ciertas características sensoriales, como la astringencia y el amargor, que aumentaban. Otros autores encontraron que los enzimas de maceración pueden incluso causar una disminución en el contenido de antocianos y en el color del vino (Wightman y Wrolstad, 1995; Wightman et al., 1997).

Estas contradicciones mantienen abierto el interés sobre la investigación de los efectos de las enzimas de maceración en distintas condiciones de elaboración de vino, y su papel en la degradación de las células de los hollejos (Romero, 2008).

2.4.2.3. Análisis sensorial en vinos

La degustación de un vino, su estimación y apreciación organoléptica, junto con su descripción, constituyen el análisis sensorial. En este proceso tiene mucho que ver el aspecto afectivo, es decir, la subjetividad del catador hacia las sensaciones, emociones y recuerdo que puede despertar en él un determinado olor. Con el fin de que la subjetividad del catador no tenga tanto peso específico en la degustación hay que intentar degustar el vino con el máximo rigor. El análisis sensorial no proporciona información sobre la composición química del aroma, por tanto, se trata de un instrumento limitado a la búsqueda de las causas de determinadas alteraciones organolépticas, así como a la detección de adulteraciones y la tipificación del producto según su origen y variedad. No obstante, cabe señalar que la incorporación de técnicas instrumentales, como la detección olfatométrica y la nariz electrónica, requieren el análisis sensorial para su calibración.

a. Color

El color y la turbidez son rasgos personalizadores de un determinado vino con una influencia significativa en los parámetros de calidad que aplica el consumidor a la hora de escoger el producto. El color es la primera sensación percibida y algunos expertos consideran que el análisis sensorial se debe llevar a cabo en unas condiciones lo más cercanas posibles a las instrumentales, de manera que los resultados obtenidos se encuentren muy cercanos a los recogidos en laboratorio. Así, las condiciones ideales deben tener en cuenta los siguientes aspectos: la temperatura del color de la fuente de iluminación, el sistema de observación, la agudeza visual del observador, el ambiente de la sala en la que se realiza el análisis, y finalmente, la ergonomía del sistema de observación (Aleixandre, 2006).

b. Aroma

Tradicionalmente, el análisis sensorial ha sido y es la herramienta básica para la caracterización del aroma. A pesar de las numerosas normas y protocolos que se han establecido para estandarizar la metodología y los descriptores aromáticos, nunca dejará de estar sometida la subjetividad del degustador. Los avances tecnológicos en el campo del análisis instrumental han permitido investigar a fondo los compuestos responsables del aroma y determinar el complejo perfil aromático del vino, pero todavía están lejos de poder interpretar las percepciones que se reciben durante la degustación (Aleixandre, 2006).

c. Acidez

En su forma más simple, un vino blanco muy ácido pasa a ser apetecible al tener altos niveles de azúcar. Sin el azúcar, sería imposible de beber. Pero sin la acidez, esa cantidad de dulzor sería poco agradable. El alcohol, también, equilibra la acidez, no solamente porque el alcohol es dulce sino porque la sensación que produce modera en parte la percepción de la acidez. Asimismo, los vinos blancos que son intensamente aromáticos tolerarán una acidez mucho mayor que aquellos que no lo son.

El equilibrio de los vinos tintos es bastante más complicada porque los vinos tintos tienen una conformación más compleja que los blancos, al menos en lo que se refiere a sus principales componentes del sabor. Los vinos tintos son usualmente menos ácidos que los blancos, pero contienen niveles mucho mayores de compuestos fenólicos. Si se combina la acidez con muchos taninos, el vino resultante será duro y astringente. Por otro lado, si la acidez es menor pero el nivel de alcohol es alto, resultará aceptable un nivel muy alto de taninos. Afortunadamente, tanto los taninos como la acidez tienden a menguar al madurar el vino, de ahí la capacidad de los vinos que son duros cuando son jóvenes a pasar a ser bien equilibrados y deliciosos después de algunos años en la botella. Asimismo, otros componentes del sabor, especialmente los volátiles, juegan un papel

importante en el equilibrio de un vino aunque se sospecha que el atributo de un sabor agradable respecto del equilibrio forma parte de una cantidad procedente de razonamiento *post hoc* por la simple razón de que son tan difíciles de identificar (Hills, 2005).

d. Astringencia

La astringencia es, probablemente, la sensación en la boca más importante. Estamos familiarizados con ella aunque es difícil decir en qué consiste con exactitud, aparte de la sensación de sequedad y una tendencia a fruncir con los labios. De hecho, no se trata de una sola sensación sino de un conjunto de respuestas, principalmente, a compuestos fenólicos que son extraídos de las semillas y del hollejo. Asimismo, puede verse estimulada por lo agrio. En la práctica, la astringencia es experimentada como parte de la respuesta a lo amargo o agrio, y es muy difícil no asociarla con estos gustos. Este mecanismo parece involucrar el precipitado de proteínas que, al revestir los dientes, hacen que se sientan ásperos y, al expeler agua de la superficie del recubrimiento de la boca, hacen que se sienta seca. Puede ser que también esté involucrado el estrechamiento de los vasos sanguíneos en el recubrimiento de la boca y esto produce la reacción de fruncir la boca. Típicamente, el efecto de la astringencia es lento de percibir y permanece por bastante tiempo después de retirada la causa, por eso su importancia en el retrogusto de los vinos (Hills, 2005).

2.5. Hipótesis

Hipótesis nula (H₀)

El tratamiento enzimático con enzimas pectolíticas, la relación fruta:agua y el tipo de levadura no tienen influencia en la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño y en su contenido de antocianinas.

Hipótesis alternativa (Ha)

El tratamiento enzimático con enzimas pectolíticas, la relación fruta:agua y el tipo de levadura tienen influencia en la elaboración de vino de mortiño y en su contenido de antocianinas.

2.6. Señalamiento de variables de la hipótesis

Variable independiente

- El tratamiento enzimático con enzimas pectolíticas, la relación fruta:agua y el tipo de levadura.

Variable dependiente

- Elaboración de la bebida tipo vino de mortiño, su contenido de antocianinas y calidad sensorial.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Enfoque

Herrera et al. (2002), señalan que el enfoque asumido por el investigador está permanentemente en todo el proceso de estudio. En presente proyecto se realizará de manera cuantitativa, ya que se pondrá énfasis en la obtención de datos experimentales reales que permita evaluar el empleo de enzimas pectolíticas en la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño y su efecto en el contenido de antocianinas. Los resultados serán interpretados mediante análisis estadísticos que se procesarán en programas computacionales de cálculos complejos.

3.2. Modalidad básica de la investigación

En el presente estudio va a utilizar dos modalidades de investigación mencionados por Herrera et al. (2002):

a) Investigación documental-bibliografía.- puesto que se requiere una revisión previa en tesis, trabajos de investigación, planes, sitios de internet, experiencias en proyectos similares, entre otros; que permitan reconocer distintos enfoques, teorías o conceptualizaciones y criterios de diferentes autores sobre el tema a investigar, de modo que sustente y favorezca el camino de la investigación.

b) Investigación experimental.- de esta manera se alcanzarán los objetivos de predicción y de control en relación con la hipótesis puesta a prueba en el estudio; así que dicha investigación requiere el uso de laboratorios que ofrezcan las facilidades para efectuar dicha propuesta, ya que en efecto se deberá analizar las causas y efectos de las variables de estudio, entendiendo la naturaleza e implicaciones sobre el problema.

3.3. Nivel o tipo de investigación

Según Herrera et al. (2002), es de suma importancia tomar en cuenta el nivel de investigación, pues cada uno de ellos tiene características específicas y objetivas que se articulan con los objetivos tomados en cuenta para la investigación. Los niveles al que llegará la investigación son:

Explorativa, puesto a que se realiza con el propósito de destacar los aspectos fundamentales de una problemática determinada y encontrar los procedimientos adecuados para elaborar una investigación posterior. Es útil desarrollar este tipo de investigación porque, al contar con sus resultados, se simplifica abrir líneas de investigación y proceder a su consecuente aprobación.

Correlacional, ya que se pretende medir el grado de relación y la manera cómo interactúan las variables entre sí.

3.4. Diseño experimental

La investigación responderá a un diseño factorial de tipo AXBXC (2X3X2) corrido con 1 réplica, obteniéndose un total de 24 tratamientos, este diseño experimental, permitirá evaluar efectos combinados o interacciones entre los factores, según Saltos (2010).

Modelo Matemático

$$Y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + C_k + (AB)_{ij} + (AC)_{ik} + (BC)_{jk} + (ABC)_{ijk} + R_l + \epsilon_{ijkl}$$

Dónde:

μ = efecto global

A_i = efecto del i-ésimo nivel del factor A

B_j = efecto del j-ésimo nivel del factor B

C_k = efecto del k-ésimo nivel del factor C

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

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

$(BC)_{jk}$ = efecto de la interacción entre los factores B y C

$(ABC)_{ijk}$ = efecto de la interacción entre los factores A, B y C

R_l = efecto de la replicación del experimento

ϵ_{ijkl} = residuo o error experimental

A continuación se detalla los factores y niveles que se van a tomar en cuenta para el diseño experimental:

Factores

Niveles

A: Relación fruta:agua

a₀: 1:3

a₁: 1:4

B: Enzima pectolítica

b₀: Sin enzima

b₁: Ultrazym AFPL

b₂: Pectinex Ultra
SP-L

C: Tipo de levadura de panificación

c₀: Fresca

c₁: Liofilizada

3.5. La operacionalización de variables

Cuadro 3. Variable Independiente: Utilización de enzimas con diferente tipo de levadura y distinta relación fruta:agua.

Conceptualización	Categorización	Indicadores	Ítems	Técnicas e Instrumentos
<p>Enzimas pectinasas</p> <p>Son moléculas de naturaleza proteica que catalizan reacciones químicas, actúan sobre la pectina que es un polisacárido estructural de las células vegetales.</p> <p>Levadura</p> <p>Hongos microscópicos unicelulares capaces de fermentar carbohidratos para la producción de sustancias de interés</p> <p>Relación fruta:agua</p> <p>Cantidad de fruta con respecto a la cantidad de agua utilizada para la preparación del mosto</p>	<p>Ultrazym AFPL</p> <p>Pectinex Ultra SP-L</p> <p>Levadura fresca</p> <p>Levadura liofilizada</p> <p>Relación 1:3</p> <p>Relación 1:4</p>	<p>Contenido de antocianinas</p> <p>Sólidos solubles</p> <p>Grado Alcohólico</p> <p>Calidad sensorial</p>	<p>¿Influirá el uso de enzimas pectinasas en el contenido de antocianinas de la bebida tipo vino de mortiño?</p> <p>¿Influirá el tipo de levadura en el proceso fermentativo de la bebida tipo vino de mortiño?</p> <p>¿Influirá la relación fruta:agua en la calidad sensorial del vino de mortiño?</p>	<p>Espectofotometría</p> <p>Acidez (Norma INEN 341 1978) , pH, sólidos solubles, grado alcohólico (Norma INEN 340 1974)</p> <p>Análisis sensorial mediante prueba de escala hedónica de 5 puntos (Norma ISO 4121:1987)</p>

Elaborado por: José Jácome. 2014

Cuadro 4. Variable Dependiente: Contenido de antocianinas y calidad sensorial

Conceptualización	Categorización	Indicadores	Ítems	Técnicas e Instrumentos
<p>Características Físico - Químicas y Sensoriales</p> <p>Propiedades de naturaleza física y química que diferencian a un producto de otro y que contribuyen con las características organolépticas del mismo</p>	<p>Contenido de antocianinas</p> <p>Características Sensoriales</p>	<p>Incremento del proceso fermentativo</p> <p>Incremento en la estabilidad del color</p> <p>Producto final de mayor aceptabilidad por parte de los consumidores</p>	<p>¿Influirá el contenido de antocianinas en el color del vino de mortiño?</p> <p>¿Influirán las características sensoriales en la aceptabilidad por parte de los consumidores?</p>	<p>Medidas espectrofotométricas directas o tras diversas reacciones químicas</p> <p>Evaluación con panel de catadores</p> <p>Hojas de catación</p>

Elaborado por: José Jácome. 2014.

3.6. La recolección de datos

Los datos se recolectaron mediante análisis fisicoquímicos continuos durante el tiempo de fermentación del mosto y al finalizar la fermentación. Para la utilización de enzimas pectolíticas en la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño se registraron los siguientes parámetros:

- Análisis fisicoquímicos: acidez total, pH, sólidos solubles (°Brix).
- Análisis espectrofotométrico: absorbancia a 520 nm.
- Análisis cromatográficos: contenido de metanol, alcoholes superiores, aldehídos y esterés.
- Análisis de grado alcohólico.
- Análisis sensorial: evaluación organoléptica con escala hedónica de 7 puntos.
- Análisis microbiológicos: recuento total de aerobios, mohos y levaduras.

3.7. Plan de procesamiento de la información

Se utilizó para el análisis de datos los paquetes informáticos de Microsoft office: Word 2010 y Excel 2010. Además de paquetes estadísticos autorizados como STAT GRAPHICS.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Análisis de los resultados

En el Anexo A se presentan las tablas con los resultados de los análisis fisicoquímicos realizados a la materia prima y el mosto; también los parámetros de control de la fermentación y trasiegos como sólidos solubles, pH y acidez. De igual manera se encuentran las medidas de absorbancia de los diferentes tratamientos, los cuales permitieron calcular el contenido de antocianos monoméricos totales (AMT) tanto antes y después del tiempo de maduración. De acuerdo al contenido de sólidos solubles se determinó el tiempo de fermentación para cada tratamiento. Se presentan también los porcentajes de rendimiento calculados en base al peso inicial y final del producto. Los resultados de los análisis sensoriales se encuentran tabulados de acuerdo a las cuatro sesiones de catación. Finalmente, se muestran los resultados de los análisis microbiológicos y cromatográficos de alcoholes superiores realizados a los mejores tratamientos determinados en base a los análisis de antocianos monoméricos totales y sensoriales.

Los análisis estadísticos y procesamiento de datos como análisis de varianza y pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) se encuentran adjuntos en el Anexo B.

En el Anexo C se encuentran los gráficos del comportamiento de los parámetros fisicoquímicos durante el tiempo de fermentación y trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño, de igual manera el contenido de antocianos monoméricos totales antes y después de la maduración. Finalmente un gráfico del perfil sensorial de los tratamientos de la bebida tipo vino de mortiño para los atributos evaluados en el análisis sensorial.

4.2. Interpretación de datos

4.2.1. Materia prima

Para la realización de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), se utilizó como materia prima mortiño procedente de los páramos aledaños a la ciudad de Machachi, cantón Mejía, provincia de Pichincha, recolectado durante los meses de Octubre y Noviembre. Una vez seleccionados, se realizó la caracterización de los frutos de mortiño tomando muestras de manera aleatoria y con el mismo grado de madurez. Se determinaron los sólidos solubles, pH, acidez titulable, peso, color, apariencia y sabor como se muestra en la Tabla A1 del Anexo A.

4.2.2. Mostos de mortiño

Una vez realizados los mostos de mortiño de acuerdo al diseño experimental, se efectuó un análisis de sólidos solubles, pH, y acidez titulable a los 24 tratamientos obtenidos. Como indica la Tabla A1, el fruto de mortiño posee una cantidad de sólidos solubles de 12,4 °Brix; sin embargo, el fruto es diluido con agua para realizar el mosto, es por esto que existe un descenso en este valor siendo entre 2 y 3,2 °Brix en los mostos de mortiño. En la Tabla A2 se aprecia que los tratamientos con una relación fruta: agua de 1:4, poseen valores más bajos de sólidos solubles, debido a que la dilución de sólidos en agua es mayor. De la misma manera, los tratamientos más diluidos presentaron un mayor valor de pH y menor acidez titulable.

4.2.3. Análisis fisicoquímicos realizados durante la etapa de fermentación

4.2.3.1. Sólidos solubles

La evolución de la fermentación se aprecia mediante la disminución de azúcares, debido al consumo causado en este caso por las levaduras del mosto para la producción de etanol (Ocaña, 2012).

Como se observa en la Tabla A3, 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. El Gráfico C1 indica que en las etapas iniciales de la fermentación, el consumo de sólidos solubles es más rápido, el cual empieza después a estabilizarse y alcanza valores casi constantes al final del proceso. Según González (2012), citando a Lara (2010), el proceso fermentativo se ha detenido cuando se detiene la producción de CO₂ y se confirma por la obtención de tres lecturas iguales a 10 °Brix o menos. De acuerdo a este criterio se calculó el tiempo de fermentación como se indica en la Tabla A6, el cual varía entre 34 y 39 días. Se ha observado tiempos de fermentación menor con la utilización de levaduras vínicas a temperaturas controladas, en un rango de 24,8 hasta 27,4°C, lo que permite 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 estuvo entre 16 y 20°C.

En la Tabla B1 se muestra los resultados del análisis de varianza para sólidos solubles durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño. Con un 95% de nivel de confianza se demuestra que tanto el factor A (Relación fruta:agua) y el factor B (Enzimas) no provocan diferencias significativas sobre la respuesta experimental sólidos solubles. Por el contrario, existe diferencia significativa en cuanto al factor C (Levadura).

Al realizar la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para sólidos solubles por Levadura (Tabla B1.1) con un 95% de nivel de confianza indica que la levadura fresca presenta un mayor consumo de azúcares con un promedio de 7,69 °Brix a diferencia de la levadura liofilizada que alcanza una media de 7,89 °Brix.

4.2.3.2. pH

El pH es uno de los factores más variables del vino, variando de 2,8 a 4,2 aproximadamente. Es el resultado del equilibrio de los diversos ácidos incluidos en su composición (Chatonnet, 2005).

En la Tabla A4 se muestran los registros de pH durante de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño, la cual presentó variaciones pero al finalizar esta etapa, los valores de pH fueron más altos que al inicio de la fermentación, siendo inicialmente 2,53 y 2,88 y llegaron hasta valores de pH desde 2,80 hasta 3,09. Según Ocaña (2012), citando a Boulton et al. (2012), durante la fermentación alcohólica, los sólidos se están extrayendo de forma continua al estar en contacto con el mosto que se está fermentando, dando lugar a la subida de pH debido a los componentes alcalinos como potasio, sodio, calcio, magnesio, extraídos de los sólidos.

Valores de pH adecuados aseguran la estabilidad microbiológica de los vinos. Según Chatonnet (2005), por debajo de cierto pH específico para cada microorganismo, llamado pH de inhibición, ya no se puede producir la proliferación de gérmenes susceptibles de causar daños organolépticos. En la práctica, sólo los vinos con pH superiores a 3,5 pueden dar lugar al desarrollo de gérmenes de contaminación. Por lo tanto, los valores de pH en la bebida tipo vino de mortiño, inhiben el desarrollo de microorganismos no deseados, asegurando la estabilidad de la bebida.

Como se indica en la Tabla B2, a un 95% de nivel de confianza, el factor A (Relación fruta: agua) influye de manera significativa en el pH del vino; lo contrario ocurre con los demás factores estudiados (Enzimas y Levaduras) que no producen diferencias significativas.

En la Tabla B2.1 se muestran los resultados de la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para pH por relación fruta:agua, y con un 95% de nivel de confianza se demuestra que los vinos elaborados con la relación 1:3 (fruta:agua) tienen un valor de pH mayor con una media de 3, mientras que los que fueron elaborados con la relación 1:4 (fruta:agua) presentan una media de pH 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 diluída se encuentre la fruta en el mosto, menor es el valor de pH.

En el Gráfico C2 se observa la variación del pH para cada tratamiento durante el tiempo de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño.

4.2.3.3. Acidez

Según Ávila et al. (2007), los frutos de mortiño poseen algunos ácidos orgánicos como el ácido cítrico, málico y ascórbico; siendo el ácido cítrico el que predomina, especialmente después de que la fruta llega a su estado óptimo de maduración. Es por esto que en la bebida tipo vino de mortiño se ha calculado la acidez expresada como ácido cítrico.

Los valores de acidez expresados como porcentaje de ácido cítrico registrados durante la fermentación de la bebida tipo vino de mortiño se muestran en la Tabla A5 y muestran variación para todos los tratamientos, presentando una disminución durante el tiempo de fermentación que parte de valores que van desde 0,65 hasta 0,79% de ácido cítrico al inicio del proceso fermentativo y 0,50 hasta 0,58% al final. En el Gráfico C3 se puede apreciar la disminución de la acidez en cada uno de los tratamientos.

La maceración constituye el principal factor enológico susceptible de influir en el equilibrio ácido-base del vino. Los ácidos se concentran en la pulpa, mientras que los cationes que los neutralizan abundan sobre todo en las materias sólidas. La vinificación se caracteriza por una sensible disminución de la acidez a lo largo de la maceración, debido a la precipitación del bitartrato, formado a partir del potasio y del calcio procedentes de las partes sólidas, a consecuencia de la formación del alcohol, que reduce su solubilidad en el vino (Rizzon, 1985 y Rizzon et al., 1998).

La Tabla B3 muestra el análisis de varianza para acidez durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño, utilizando el 95% de nivel de

confianza se demuestra que no hay diferencia significativa entre los factores de estudio tanto para la relación fruta:agua, uso de enzimas y tipo de levadura.

4.2.3.4. Tiempo de fermentación

Como se ha mencionado anteriormente, se conoce que el proceso fermentativo se ha detenido cuando se detiene la producción de CO₂ y se confirma por la obtención de tres lecturas iguales a 10 °Brix o menos. De acuerdo a este criterio se calculó el tiempo de fermentación como se indica en la Tabla A6, el cual varía entre 34 y 39 días.

Como se indica la Tabla B4, a un nivel de confianza del 95%, ninguno de los factores de estudio (Relación fruta:agua, Tipo de Enzimas y Tipo de Levadura) influye de manera significativa en el tiempo de la fermentación. Se ha observado tiempos de fermentación menor con la utilización de levaduras vínicas a temperaturas controladas, en un rango de 24,8 hasta 27,4°C, lo que permite 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 estuvo entre 16 y 20°C.

4.2.4. Análisis fisicoquímicos realizados durante la etapa de trasiegos

Una vez finalizada la etapa de fermentación, se realizó el primer trasiego de la bebida tipo vino de mortiño el cual consiste en separar la fase líquida del mosto de los sólidos que han precipitado hacia el fondo del biorreactor. Después de 30 días se realizó el segundo trasiego en donde se obtuvo la bebida tipo vino de mortiño como tal. Durante este periodo se continuaron los análisis fisicoquímicos de control, cuyos resultados se detallan a continuación.

4.2.4.1. Sólidos solubles

Durante el periodo de trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño no hubo un mayor descenso de sólidos solubles, siendo el mayor descenso de 0,2 °Brix como se indica en la Tabla A7. Este pequeño descenso, el mismo que no se presentó en todos los tratamientos, se debe a que en el mosto existen todavía levaduras residuales que pueden realizar fermentación. En el Gráfico C4 también se puede apreciar el pequeño descenso en la cantidad de sólidos solubles en la bebida tipo vino de mortiño.

En la Tabla B5 se encuentra el análisis de varianza para sólidos solubles al finalizar la etapa de trasiegos de la bebida de mortiño, en donde a un 95% de nivel de confianza se comprueba que existe diferencia significativa entre los niveles de los factores A, B y C, que corresponden a la relación fruta:agua, tipo de enzimas y levaduras respectivamente.

La prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para sólidos solubles por relación fruta:agua en el periodo de trasiegos (Tabla B5.1) indica a un 95% de nivel de confianza que el factor a_0 (Relación fruta:agua 1:3) presenta menos sólidos solubles con una media de 7,66 °Brix que el factor a_1 (Relación fruta:agua 1:4) con una media de 7,85 °Brix.

En la Tabla B5.2 se muestran los resultados de la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para sólidos solubles por enzimas en el periodo de trasiegos en el que a un 95% de nivel de confianza se muestra que tanto la enzima Pectinex Ultra SP-L como Ultrazym AFPL tienen mayor contenido de sólidos solubles con 7,83 y 7,85 °Brix respectivamente, mientras que los tratamientos en los que no se realizó el tratamiento enzimático, el contenido de sólidos solubles es menor.

La Tabla B5.3 indica los resultados de la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para sólidos solubles por levadura en el periodo de trasiegos. A un 95% de nivel de confianza se demuestra que la levadura Fresca Levapan ha disminuido los sólidos solubles hasta 7,66 °Brix, más que la levadura Liofilizada Fleischmann que alcanzó 7,85°Brix.

4.2.4.2. pH

En la Tabla A8 se presentan 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, como se indica también en el Gráfico C5. El pH ha alcanzado valores que van 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 y, en su caso, de trazas de glucosa residual, que finalmente provocan un aumento del pH de +0,1 a 0,2 unidades o a veces incluso más.

El análisis de varianza para pH durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (Tabla B6) a un nivel de confianza del 95% indica que tanto el factor A (Relación fruta:agua) y el factor B (Enzimas) producen un efecto significativo en el pH de la bebida durante los trasiegos, al contrario el factor C (Levadura) no influye de manera significativa.

De acuerdo a la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para pH por relación fruta:agua (Tabla B6.1), con un 95% de nivel de confianza se demuestra que los vinos elaborados con la relación 1:3 (fruta:agua) tienen un valor de pH mayor con una media de 3,18; mientras que los que fueron elaborados con la relación 1:4 (fruta:agua) presentan una media de pH de 3,08. Así mismo, la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para pH por enzimas (Tabla B6.2) con un 95% de nivel de confianza, muestra que tanto los tratamientos en los que no se ha aplicado enzimas como el que contiene la enzima Ultrazym AFPL, presentan un mayor valor de pH con una media de 3,16 y 3,14 respectivamente, mientras que el menor valor de pH presentan los tratamientos con enzimas Pectinex Ultra SPL con una media de 3,09.

4.2.4.3. Acidez

El comportamiento de la acidez durante el periodo de trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño se muestra en la Tabla A9. Durante esta etapa ha existido un

descenso en el porcentaje de acidez como porcentaje de ácido cítrico, como se muestra también en el Gráfico C6. Como ya se ha indicado anteriormente, todas las circunstancias que favorecen el contacto de las partes sólidas del mosto propician la neutralización de los ácidos por las materias minerales y en el trasiego todavía se encuentran pequeñas partículas en suspensión que con el tiempo precipitan.

En la Tabla B7 muestra el análisis de varianza para acidez durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño, en donde se demuestra que ninguno de los factores de estudio, tanto relación fruta:agua, tipo de enzimas y tipo de levadura, no causa diferencia significativa en la acidez de la bebida a un 95% de nivel de confianza.

4.2.5. Maduración

Una vez realizadas las etapas anteriores y si se quiere elevar al vino a un estado superior de majestuosidad, se procederá a embotellar o encubar el vino y conservarlo en el místico silencio de una bodega para que se encuentre a sí mismo y desarrolle su carácter y mezclar de sabores y olores a la máxima perfección (Whiesenthal, 2004). El tiempo de maduración depende de la clase de la uva, el tipo de trasiego, el tamaño y la clase de la cuba, y la temperatura de la bodega. Un periodo común para la crianza es de tres a nueve meses (Hernandez, 2012). Después de este tiempo en la botella, siempre que no se haya dejado durante demasiado tiempo, el vino es diferente y mejor en todos los aspectos. Es menos ácido, menos astringente, se siente más suave en la boca, etc. (Hills, 2005).

De acuerdo a este criterio, una vez concluido el periodo de fermentación y trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño, se procedió a embotellar la bebida de manera que el proceso de maduración y crianza del vino sea en su propia botella. Previamente, el vino fue sometido a un proceso de pasteurización en la botella, para eliminar las levaduras restantes y garantizar su estabilidad. La temperatura de la bodega de almacenamiento estuvo entre 14 – 16 °C y privada de luz solar. El tiempo de maduración en la botella fue de seis meses, y posteriormente se realizó el análisis sensorial.

4.2.6. Contenido de Antocianos Monoméricos Totales (AMT)

Para determinar el contenido de Antocianos Monoméricos Totales (AMT) se realizaron medidas espectrofotométricas a 520nm para determinar la absorbancia de las muestras a pH 1 y 4,5; como se indica en las Tablas A10 y a A11 tanto al inicio de la maduración de la bebida como al finalizar el proceso. Los antocianos libres son poco resistentes y muy alterables a cambios de pH, por lo tanto a pH 1 la absorbancia de los antocianos aumenta y a pH 4,5 provoca la decoloración de los mismos (Córdova, 2010). Para el cálculo de AMT se utiliza la diferencia de las dos medidas como se indica en las Tablas A10 y A11.

En el Gráfico C7, se representa el contenido de AMT (mg/l) de cada uno de los tratamientos tanto antes como después de la maduración. Se puede observar que en todos los tratamientos ha existido 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 responsables 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 por este fenómeno se produce el cambio de color rojo de vinos tintos jóvenes hacia el castaño, el color 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 muy estables, complejos poliméricos de sensaciones gustativas de mayor suavidad y cuerpo (Hidalgo, 2003).

En la Tabla B8 se muestra el análisis de varianza para AMT al iniciar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño. A un 95% de nivel de confianza se demuestra que tanto el factor A (relación fruta:agua) y el factor B (Tipo de Enzima) influyen de manera significativa en el contenido de antocianinas, a diferencia del factor C (Tipo de Levadura) que no provoca diferencias significativas. Como indican las Tablas B8.1 y B8.2, la diferencia mínima significativa (LSD) para AMT por relación fruta:agua y enzimas respectivamente; a un 95% de nivel de confianza se asegura que la relación 1:3 (fruta:agua) produce un mayor contenido de AMT con

una media de 18,85mg/lit, a diferencia de la relación 1:4 (agua:fruta) con 17,46 mg/lit; quedando demostrado que mientras más agua se utiliza para realizar el mosto, menor es el contenido de AMT en el producto. En la Tabla B8.2, la prueba LSD para AMT por enzimas, a un 95% de nivel de confianza se demuestra que la enzima Pectinex Ultra SPL ha producido un mejor contenido de AMT con una media de 20,46 mg/lit, seguida de la enzima Ultrazym AFPL con 18,79 mg/lit y finalmente la media para los tratamientos sin enzima que es 15,23 mg/lit; demostrando que el tratamiento enzimático al mosto de mortiño, ha logrado incrementar el contenido de antocianinas en la bebida tipo vino de mortiño.

Luego de transcurrido el tiempo de maduración de la bebida tipo vino de mortiño, se realizó una vez más el análisis de AMT y los resultados se muestran en la Tabla A13. Considerando estos valores y los calculados al iniciar la etapa de maduración, se determinó el porcentaje de pérdida de antocianos monoméricos totales transcurrida la maduración, resultados que se muestran en la Tabla A14. El análisis de varianza para el porcentaje de pérdida de antocianos monoméricos totales (Tabla B9), a un 95% de nivel de confianza, indica que el factor relación fruta:agua produce diferencias significativas. La prueba de diferencia mínima significativa (LSD) para pérdida de antocianos monoméricos totales (%) por relación fruta:agua (Tabla B9.1), muestra que los tratamientos elaborados con la relación 1:4 (fruta:agua) tienen mayores pérdidas de AMT con una media de 55,59% a diferencia de los tratamientos elaborados con la relación 1:3, con una media de 45,70% de pérdida de AMT.

4.2.7. Análisis sensorial

Una vez que han transcurrido los seis meses de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) se realizó el análisis sensorial de los tratamientos de estudio en cuatro sesiones de catación con un panel de 13 catadores semi-entrenados. Los catadores recibieron la hoja de catación para

evaluar cada muestra asignada mediante una escala hedónica de 7 puntos, la misma que se encuentra adjunta en el Anexo F-8.1.

Los resultados del análisis sensorial se observan en las Tablas A15, A16, A17 y A18, correspondientes a las cuatro sesiones de catación, en las que se evaluó los atributos de color, aroma, acidez, astringencia y apreciación global. Cada catador recibió cuatro muestras en cada sesión de catación, de acuerdo a un diseño de bloques ajustados.

4.2.7.1. Color

La Tabla B10 muestra el análisis de varianza para color de la bebida tipo vino de mortiño, en donde se demuestra a un 95% de nivel de confianza, que existe diferencia significativa entre los tratamientos con respecto al color. Al realizar la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para color, que se muestra en la Tabla B10.1, con un 95% de nivel de confianza se establece al tratamiento 13 como el mejor, correspondiente a la muestra usada como testigo (vino comercial), con un promedio de 6,32. El mejor tratamiento sin contar con el testigo, es el tratamiento 5 el cual fue elaborado con la relación 1:3 (fruta:agua), Pectinex Ultra SP-L y levadura fresca.

4.2.7.2. Aroma

En la Tabla B11, el análisis de varianza para aroma, al 95% de nivel de confianza muestra que existe diferencia significativa entre los tratamientos. La prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para Aroma (Tabla B11.1) a un 95% de nivel de confianza indica que existe preferencia por los catadores hacia el tratamiento 9 (a₁b₁c₀), el cual se elaboró con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca, obteniendo una puntuación media de 5,41.

4.2.7.3. Acidez

En la Tabla B12, el análisis de varianza para acidez, al 95% de nivel de confianza, se observa que existe diferencia significativa entre los tratamientos. Al analizar la Tabla B12.1, la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) para acidez, a un

95% de nivel de confianza, se establece que los tratamientos 9 ($a_1b_1c_0$) y 11 ($a_1b_2c_0$) han sido mejor puntuados con una media de 6,23 y 6,12 respectivamente. El tratamiento 9 es el elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca; mientras que el tratamiento 11 es el elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Pectinex Ultra SPL y levadura fresca.

4.2.7.4. Astringencia

El análisis de varianza para astringencia se encuentra en la Tabla 13, en donde se muestra a un 95% de nivel de confianza que existe diferencia significativa entre los tratamientos. El Tabla B13.1, la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) para astringencia, indica a un 95% de nivel de confianza que la mejor puntuación corresponde al tratamiento 9 ($a_1b_1c_0$), con una media de 6,22; el mismo que es elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca.

4.2.7.5. Apreciación global

En la Tabla B14, el análisis de varianza para apreciación global, al 95% de nivel de confianza muestra que existe diferencia significativa entre los tratamientos. La prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para apreciación global (Tabla B14.1) a un 95% de nivel de confianza indica que existe preferencia por los catadores hacia el tratamiento 9 ($a_1b_1c_0$), el cual se elaboró con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca, obteniendo una puntuación media de 6,11.

4.2.7.6. Perfil sensorial

El Gráfico C8 representa el perfil sensorial de cada uno de los tratamientos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). Según Saltos (2010), esta técnica implica reconocer los atributos sensoriales, de tal modo que los ejes de la estrella coincidan con ellos.

Como se puede observar, el gráfico permite identificar de manera inmediata al mejor tratamiento ya que resume el análisis sensorial. Se muestra que tanto en los atributos de aroma, acidez, astringencia y apreciación global, el tratamiento $a_1b_1c_0$

tiene una mejor puntuación promedio de todos los catadores el cual corresponde al tratamiento elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca. En cuanto al color, la mejor puntuación promedio fue el tratamiento testigo, en el que se usó un vino comercial, seguido por los tratamientos a₀b₂c₀ y a₀b₂c₁ 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.

En los atributos aroma, acidez, astringencia y apreciación global, el vino comercial usado como testigo obtuvo una menor puntuación promedio comparado con la bebida tipo vino de mortiño, con lo que se comprueba que esta bebida puede ser comercializada como una alternativa al consumo de vino en el mercado.

4.2.8. Rendimiento

El análisis de varianza para Rendimiento (%) de la bebida tipo vino de mortiño (Tabla B15) a un nivel de confianza del 95% indica que tanto el factor A (Relación fruta:agua) y el factor B (Enzimas) producen un efecto significativo en el rendimiento de la bebida, al contrario el factor C (Levadura) no influye de manera significativa.

De acuerdo a la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para rendimiento por relación fruta:agua (Tabla B15.1), con un 95% de nivel de confianza se demuestra que los vinos elaborados con la relación 1:4 (fruta:agua) tienen un mayor rendimiento con una media de 65,89%; mientras que los que fueron elaborados con la relación 1:3 (fruta:agua) presentan una media de 51,71%. Así mismo, la prueba de Diferencia Mínima Significativa (LSD) para pH por enzimas (Tabla B15.2) con un 95% de nivel de confianza, muestra que tanto los tratamientos en los que se ha aplicado enzima Pectinex Ultra SPL como Ultrazym AFPL, presentan un mayor rendimiento con una media de 61,13 y 59,36% respectivamente, mientras que el

menor valor de rendimiento presentan los tratamientos en los que no se empleó enzimas con una media de 55,9%.

4.2.9. Determinación del mejor tratamiento

De acuerdo al análisis sensorial de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), se ha identificado al mejor tratamiento, el cual es el a₁b₁c₀ elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca.

Para establecer si el mejor tratamiento cumple con los parámetros de calidad, se realizaron análisis microbiológicos, de grado alcohólico y cromatográfico; así como el rendimiento y el costo de producción.

4.2.9.1. Análisis microbiológico

Se determinó la calidad microbiológica de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), determinándose por duplicado tanto contenido de aerobios totales como de mohos y levaduras (UFC/ml) para el mejor tratamiento y su réplica.

En la Tabla A20 se muestra que el recuento tanto para mohos y levaduras como para aerobios totales da como resultado menor a 10 UFC/ml en todos los casos.

Al tratarse de una bebida con un contenido importante de alcohol y de bajo pH, es muy difícil que se dé lugar al desarrollo de gérmenes de contaminación. Sumado a que la bebida tipo vino de mortiño ha sido sometida un proceso de pasteurización en botella a una temperatura de 65°C por 25 minutos. Estos factores garantizan no solo la destrucción de las levaduras remanentes de la fermentación, sino también de otros microorganismos que pueden afectar la estabilidad del producto como su inocuidad. Esto garantiza que las características de la bebida tipo vino de mortiño se mantendrán durante el almacenamiento y que su calidad microbiológica no presenta ningún riesgo para su consumo.

4.2.9.2. Análisis de grado alcohólico

Los resultados obtenidos para grado alcohólico por el Laboratorio de Análisis Ambiental e Inspección LABCESTTA para el tratamiento elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca se encuentran en el Anexo G, el cual muestra que la réplica 1 posee 8,75°GL y la réplica 2 8,69°GL, con un promedio de 8,72°GL a 20°C.

Según la norma INEN 374 (1987) para Vino de Frutas, el grado alcohólico a 20°C para este tipo de bebidas va desde 5 hasta 18°GL, por lo que se puede asegurar que la bebida tipo vino de mortiño elaborada con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca se encuentra dentro del rango permitido.

4.2.9.3. Análisis cromatográfico

Los análisis cromatográficos permiten determinar la presencia o ausencia de ciertos componentes en el vino, los mismos que no pueden ser identificados en la evaluación sensorial, pese a que durante la degustación se puede medir la interacción de los compuestos del vino demostrando equilibrio (Córdova, 2010).

La separación física de los componentes del vino y su cuantificación se logra mediante la cromatografía de gases; en el caso de alcoholes se puede obtener con precisión resultados de metanol, aldehídos, ésteres, alcoholes superiores, entre otros (Gamboa, 2003).

El análisis cromatográfico se realizó en el Laboratorio de Análisis Ambiental e Inspección LABCESTTA para el tratamiento elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca cuyos resultados para metanol, alcoholes superiores, ésteres y aldehídos se encuentran en la Tabla A21.

a. Metanol

El alcohol metílico existe siempre en los vinos, en concentraciones que varían entre 35 y 350 mg/100mL de alcohol anhidro. Se forma durante la fermentación pero sin

relación alguna con ella, por hidrólisis de las pectinas (pectinas solubles y protopectinas). Legalmente, la presencia de metanol en los vinos está limitada hasta un nivel máximo tolerable de 0,5g/l (Gil, 2010). Debido a que la pectina se encuentra más en la piel que en el mosto, los vinos blancos contienen mucho menos metanol que los vinos tintos. Según la Universidad Tecnológica Nacional UTN Enología (2011) informes del contenido de metanol en vinos de todo el mundo indican concentraciones de 60 mg/100ml de alcohol anhidro (en un rango que va desde 40-120 mg/100ml) para los vinos blancos y 150 mg/100ml (en un rango de 120-250 mg/100ml) para los vinos tintos. A pesar de ser el metanol tóxico, las cantidades que poseen el vino no son del todo malignas ya que las dosis letales de 340 ml/kg de peso, hace que una persona media de 70 kg tenga que tomar aproximadamente dos centenas de litros.

En la Tabla A20 se muestra que el contenido de metanol en la bebida tipo vino de mortiño elaborada con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca tiene un promedio de 128,50 mg/100mL de alcohol anhidro. De acuerdo a la información bibliográfica citada y a anteriores investigaciones se demuestra que la cantidad de metanol en la bebida tipo vino de mortiño se encuentra por debajo del rango perjudicial para la salud del consumidor.

b. Alcoholes Superiores

El origen de los alcoholes superiores (alcoholes con más de dos átomos de carbono, entre los que están el 1-propanol, 1-butanol, 2-butanol, isobutanol, alcoholes amílicos, entre otros) en los vinos está ligado al metabolismo de los aminoácidos. La síntesis de alcoholes superiores depende de la cepa de levadura y es función de las concentraciones de nitrógeno amínico y de nitrógeno amoniacal (González et al., 2002).

Como se indica en la Tabla A20, se analizó el contenido de alcoholes superiores en la bebida tipo vino de mortiño elaborada con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca, obteniéndose en promedio para n-propanol 1,90 mg/100mL, para 2-Metilpropanol 50,56 mg/100mL y para 2+3-Metilbutanol

206,04mg/100mL. Gil (2010), señala que los alcoholes superiores están presentes en vinos en dosis que oscilan entre 150 y 500mg/100mL, considerando que aquellas bebidas alcohólicas que no contengan alcoholes superiores, se supone que están falsificadas. Por lo tanto, la bebida tipo vino de mortiño posee alcoholes superiores dentro de los rangos normales para este tipo de bebidas.

c. Ésteres

La mayor parte de los ésteres del vino se forman por acción de las levaduras y bacterias durante la fermentación del mosto, dependiendo de la especie de levadura, de la composición del medio, de la aireación y particularmente de la temperatura (González et al., 2002). Los ésteres, en general presentan olores considerados como agradables, principalmente afrutados a excepción del acetato de etilo cuyo olor, aunque no es desagradable es mal percibido en el vino en cantidades superiores a los 200 mg/100mL de alcohol anhidro (Ribereau-Gayon et al., 1978; Bertuccioli et al., 1983).

En la Tabla A20 se indica el resultado promedio para etilacetato el cual es de 83,02mg/100mL de alcohol anhidro para la bebida tipo vino de mortiño elaborada con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca, valor inferior a los 200 mg/100mL necesario que se reconozca un olor no deseado en la bebida.

d. Aldehídos

En la bibliografía se indica la existencia de gran número de aldehídos en las bebidas fermentadas, pero solamente pocos son de importancia. El acetaldehído y el hidroximetil-furfural son los que generalmente están presentes en cantidades importantes (Gil, 2010). Según Gozález et al. (2010), la concentración considerada como normal para acetaldehído es de 41-180mg/100mL y de acuerdo al Código Alimentario de Argentina se considera apta para el consumo humano a las bebidas alcohólicas que cumplan como límite máximo para furfural de 5mg/100ml de alcohol anhidro.

Se indica en la Tabla A20 el contenido de aldehídos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). En el caso de acetaldehído se encontró un promedio de 134,99 mg/100mL y para furfural <1 mg/100mL de alcohol absoluto; por lo tanto, y de acuerdo a la bibliografía citada la bebida tipo vino de mortiño elaborada con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca es apta para el consumo en cuanto a su contenido de aldehídos.

4.2.9.4. Rendimiento

A partir del balance de materiales se obtuvo el rendimiento para el tratamiento a₁b₁c₀ elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca (Anexo D2), dando como resultado 67,26%. De igual manera se calculó el rendimiento para el tratamiento a₁b₀c₀ elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), sin enzima y levadura fresca (Anexo D3), siendo de 60,40%.

De esta manera se establece que el uso de la enzima Ultrazym AFPL ha incrementado el rendimiento en la obtención de una bebida tipo vino de mortiño en un 6,86% más comparada con la bebida en la que no se utilizó enzimas.

4.2.9.5. Análisis de costos

El Anexo E se encuentra el análisis de costos de producción elaborado en base al mejor tratamiento, es decir, la bebida tipo vino de mortiño elaborada con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca; en donde se obtuvo que trabajando a nivel de laboratorio y bajo condiciones experimentales, el costo de una botella de 750ml de la bebida tiene un costo para comercialización de \$8,84.

Al ser el mortiño una fruta exclusiva de la región andina y de uso ancestral en el Ecuador, la bebida tipo vino de mortiño sería de gran interés en el mercado, pudiendo posicionarse como un producto comparable al vino tinto. El costo de la bebida es bajo con respecto a vinos que se consiguen en el mercado los cuales provienen principalmente de Chile y Argentina, países líderes en producción de vinos de la región. Por lo que la propuesta de consumo de la bebida tipo vino de mortiño sería una alternativa de producción nacional, de calidad y con alto contenido

de antocianinas dirigido para un mercado altamente exigente que busca exclusividad e innovación.

4.3. Verificación de la hipótesis

En la presente investigación a un 95% de nivel de confianza, se rechaza la hipótesis nula que señala que el tratamiento enzimático con enzimas pectolíticas, la relación fruta:agua y el tipo de levadura no tienen influencia en la elaboración de vino de mortiño y en su contenido de antocianinas.

Consecuentemente, se acepta la hipótesis alternativa, es decir que el tratamiento enzimático con enzimas pectolíticas, la relación fruta:agua y el tipo de levadura, tienen influencia significativa en la elaboración de vino de mortiño y en su contenido de antocianinas.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

- Las enzimas pectolíticas Pectinex Ultra SP-L y Ultrazym AFPL pueden ser utilizadas para obtener una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) a una concentración de 2,5ml/HL, adicionadas una vez sulfitado el mosto y antes de la inoculación con levaduras, lo que permite mejorar el contenido de antocianos monoméricos totales (AMT), la calidad sensorial y el rendimiento del producto.
- El uso de enzimas pectolíticas Pectinex ultra SP-L y Ultrazym AFPL incrementa 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 mejor contenido de AMT antes de la maduración con una media de 20,46 mg/lit, seguida de la enzima Ultrazym AFPL con 18,79 mg/lit y finalmente la media para los tratamientos sin enzima que es 15,23 mg/lit. Transcurrido el tiempo de maduración el contenido de AMT se redujo, presentando mayores pérdidas de AMT los tratamientos elaborados con la relación 1:4 (fruta:agua) con una media de 55,59% a diferencia de los tratamientos elaborados con la relación 1:3, con una media de 45,70% de pérdida de AMT.
- La levadura de panificación fresca marca comercial Levapan y la levadura liofilizada marca comercial Fleischmann permiten, a través de la fermentación alcohólica del mosto de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), obtener una bebida tipo vino con atributos característicos de la fruta y de aceptada calidad sensorial, cumpliendo los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos para este tipo de bebidas. Los tratamientos que utilizaron

levadura fresca Levapan presentaron un mayor descenso de sólidos solubles (°Brix) durante el tiempo de fermentación y el periodo de trasiegos.

- El mejor tratamiento en base a los atributos evaluados durante el análisis sensorial de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) es el elaborado con la relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca Levapan. Estas condiciones y la tecnología utilizada permiten obtener un producto de características organolépticas atractivas, color y aroma característico de la fruta, acidez y astringencia equilibradas, con apreciación global incluso superior al vino tradicional de uva.
- En base al análisis de costos se obtuvo que la botella de 750ml de bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) elaborada con relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca Levapan es de \$8,84; que comparado con la mayoría de vinos, que en el mercado ecuatoriano son importados, representa una alternativa más económica y de similares o superiores características, y se constituye como una nueva opción de transformación agroindustrial factible para el mortiño.

5.2. Recomendaciones

- Realizar estudios con otras cepas de levaduras, de preferencia vínicas, que puedan reducir el tiempo de fermentación, que para el caso de la bebida tipo vino de mortiño elaborada con levadura de panificación, el descenso de sólidos solubles fue relativamente lento comparado a estudios realizados con otras materias primas.
- Los restos sólidos que quedan después de realizar los trasiegos pueden ser utilizados para obtener otros subproductos. Una opción es la extracción de colorantes naturales, ya que al ser tratada la fruta enzimáticamente se mejora

la extracción de compuestos de los hollejos, entre ellos colorantes que al precipitan se descartan en los trasiegos de la bebida alcohólica. Este material sólido puede ser secado, triturado y probarse como colorante natural de alimentos luego de los estudios respectivos.

- Hacer esfuerzos por utilizar bioreactores con sistemas de control, que faciliten el registro de los parámetros fisicoquímicos tomados durante la fermentación, debido a que la toma de muestras en bioreactores adaptados toma demasiado tiempo y el abrir el bioreactor constantemente para la toma de muestras puede generar contaminaciones o entrada de oxígeno, dificultando el proceso de estudio.
- Efectuar estudios que permitan obtener enzimas de microorganismos a nivel de laboratorio, permitiendo comparar las nuevas enzimas obtenidas con enzimas comerciales. De igual manera se compare si el costo de obtención de enzimas propias es menor que el de las enzimas comerciales, con mejores o iguales resultados.
- Se pueden probar diferentes concentraciones de enzima, que en el caso de este estudio fue de 2,5ml/HL como lo indica el fabricante; esto para diferentes sustratos. Sin embargo, se ha demostrado que se puede disminuir la cantidad de enzimas y obtenerse los mismos resultados, lo que significaría ahorrar el gasto de enzimas que es el material más costoso que se ha utilizado.

CAPITULO VI

PROPUESTA

6.1. Datos informativos

- **Título:**

Aplicación de una enzima pectinasa aislada del hongo *Aspergillus niger* en la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) y su efecto en el contenido de antocianinas.

- **Institución ejecutora:** Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

- **Beneficiarios:**

- Campesinos que recolectan mortiño y lo comercializan en el mercado ecuatoriano.
- La industria del vino que ha venido incrementándose en el Ecuador y que desea generar alternativas de producción con materias primas nacionales.
- Los consumidores que buscan productos innovadores que contengan antioxidantes como las antocianinas.

- **Ubicación:** Ambato - Ecuador

- **Tiempo estimado para la ejecución:** 12 meses

- **Equipo técnico responsable:** Egdo. José Jácome, Ing. Gladys Navas

- **Costo:** \$1300

6.2. Antecedentes de la propuesta

La adición de enzimas pectinolíticas es una práctica común en la elaboración de vinos, para aumentar el contenido fenólico, mejorar el rendimiento, y facilitar las etapas de clarificación y filtración (Kashyap et al., 2001). Las pectinasas son complejos enzimáticos efectivos en la despolimerización de pectinas vegetales, polisacárido estructural de la pared celular vegetal, y actúan facilitando la liberación de moléculas asociadas a la membrana celular o intracelular a partir de bayas, tales como polifenoles, pigmentos y compuestos de aroma y sabor (Valdés-Sánchez y Regodón, 1994).

Las pectinasas extracelulares pueden ser producidas por diferentes microorganismos, las más comunes en el mercado son producidas por hongos (Martín y de Ambrosini, 2008). La opción preferida por la industria es el hongo del género *Aspergillus*, particularmente el *A. niger*, el cual es un organismo generalmente considerado como seguro (GRAS: Generally Regarded As Safe) (Almeida et al., 2003).

Martín y Ambrosini (2008) produjeron un extracto pectinolítico producido por *Bacillus* sp. SC Ch-15 para la extracción de pigmentos y polifenoles totales de uva. Se realizó un análisis comparativo con preparaciones comerciales (Inozyme terroir y Extrazyme terroir). Se observó que el uso del nuevo preparado pectinolítico SC Ch-15 produjo mostos más ricos en compuestos fenólicos y con un mejor aspecto visual, a pH 5 (óptimo de la enzima) y a 30°C. Se encontró un óptimo de concentración enzimática para la extracción de color de 5,88% (ml extracto enzimático crudo/100 ml solución). Al pH de mostos (3,5), tanto el preparado enzimático en estudio como los comerciales, disminuyeron significativamente la actividad pectinásica.

Rincón (2007), aisló enzima pectinasa del hongo *Aspergillus niger* para su aplicación en la clarificación y fermentación del mosto de uva *Vitis laburca*. Se adicionó la enzima aislada en una concentración de 0,16gr/5l de mosto en un

ensayo, en el segundo ensayo a una concentración de 0,26gr/5L, y se comparó con un tercer ensayo con enzima comercial Ultrazym AFPL y un último ensayo sin tratamiento enzimático. El tratamiento en el cual se utilizó una mayor concentración de enzima pectinasa aislada presentó mejor clarificación y rendimiento (5,35%), comparada con la de menor concentración ya que esta última presentó un rendimiento del 3,84%.

Jácome (2008), elaboró una bebida tipo vino de mortiño aplicando enzimas comerciales (Pectinex Ultra SPL) y Ultrazym AFPL), que incrementaron el contenido de antocianinas en la bebida) medido como contenido de antocianos monoméricos totales (AMT). La enzima Pectinex Ultra SPL produjo un mejor contenido de AMT antes de la maduración con una media de 20,46 mg/lit, seguida de la enzima Ultrazym AFPL con 18,79 mg/lit y finalmente la media para los tratamientos sin enzima que fue 15,23 mg/lit. En base a los atributos evaluados durante el análisis sensorial de la bebida, el mejor tratamiento fue el elaborado con 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 incluso superior al vino tradicional de uva.

6.3. Justificación

El mortiño posee un interesante potencial en el mercado como una nueva fruta que puede cultivarse y promoverse su consumo en el mercado debido a la amplia aceptación de especies muy similares (MAG, 1998). Hace años el mortiño era parte importante dentro de la alimentación ecuatoriana y era de fácil adquisición en los campos de la sierra, pero en los últimos años su consumo ha venido decreciendo, lo que ha incrementado el riesgo de que desaparezca debido a la dificultad de su propagación y al poco conocimiento de sus beneficios (Torres y Trujillo, 2010).

El fruto al ser de color negro evidencia la alta concentración de antocianidinas como polifenoles de estos se han reportado la presencia de ácido gálico y sus ésteres, derivados del ácido vainillínico e hidroxibenzoico, proantocianidinas, quercetina, miricetina derivados del ácido clorogénico e hidroxicinámico, y antocianinas que evidencian una alta capacidad antioxidante (Vasco, 2009).

El probar nuevas sensaciones, experiencias y sabores ha hecho que el consumo de vino en el país aumente. Aunque Ecuador no es un país con tradición en el consumo de vino, el crecimiento promedio de más del 178% en las importaciones de este producto en los últimos 10 años refleja un aumento en el gusto por esta bebida (Layedra, 2012 & Ayala, 2011).

Por lo tanto, la aplicación de una enzima pectinasa aislada del hongo *Aspergillus niger* en la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) contribuiría a la producción de una bebida alternativa al vino, la misma que gracias al proceso de obtención mejorarán el contenido de compuestos fenólicos por lo que tendrá mejores características organolépticas como color y transparencia, pero también contribuirá con sustancias antioxidantes.

6.4. Objetivos

6.4.1. Objetivo general

Aplicar una enzima pectinasa aislada del hongo *Aspergillus niger* en la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).

6.4.2. Objetivos específicos

- Obtener la enzima pectinasa a partir de una fermentación sumergida con *Aspergillus niger*.

- Establecer la concentración más adecuada de enzima pectinasa aislada del hongo *Aspergillus niger* para ser usada en la obtención de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth).
- Comparar los resultados obtenidos con la enzima aislada y la enzima comercial Ultrazym AFPL en base al contenido de antocianinas y al análisis sensorial.

6.5. Análisis de factibilidad

El proyecto de investigación es de tipo tecnológico, ya que con ello es posible implementar una nueva metodología para la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth), con la adición de enzimas que permitirán mejorar el contenido de antioxidantes. Las enzimas pectolíticas no serán únicamente comerciales sino que se busca obtener enzimas aisladas del hongo *Aspergillus niger*, utilizando la biotecnología como principal herramienta.

El análisis de factibilidad es además de carácter socio económico y ambiental, puesto que se incentivaría el interés en explotar el mortiño, fruta considerada endémica de los páramos ecuatorianos y cuyo 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. Actualmente se lo emplea para consumo fresco así como en mermeladas, dulces y jugos; aunque sigue siendo poco común, por lo que se le daría una alternativa a su uso y convocaría interés para el desarrollo de estudios para su cultivo a granel.

6.6. Fundamentación

La propuesta de la aplicación de una enzima pectinasa aislada del hongo *Aspergillus niger* en la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium*

floribundum Kunth), se basa en una previa selección de la formulación más apropiada en base a antecedentes de elaboración y evaluación sensorial realizadas en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato.

El vino es definido, legal y tradicionalmente, como el producto de la fermentación del jugo de uvas. Pero en muchas legislaciones se contempla la figura del vino de frutas como aquel proveniente de la fermentación del jugo de determinada fruta, con la única exigencia de indicar claramente dicho origen (González, 2013). Por ejemplo, según la norma INEN 374 Segunda revisión 1987-07, el vino de frutas debe referirse como *vino de...*, seguido por el o los nombres de las frutas empleadas, pudiendo presentar la coloración y el aroma característicos, de acuerdo a la clase de fruta utilizada y a los procedimientos enológicos seguidos.

A continuación se detalla el proceso de elaboración de una bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) con tratamiento enzimático.

Recepción: se recibe los frutos de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) en un adecuado estado de madurez, frutos sanos y sin inicios de descomposición.

Pesado: utilizando una balanza se determina el peso de la materia prima que va a ser procesada.

Caracterización de la fruta: se realiza un análisis visual para medir parámetros de madurez, sabor y estado de la fruta; además se determinan las principales características fisicoquímicas de la materia prima.

Selección: se apartan los frutos en mal estado y partículas extrañas para procesar la materia prima seleccionada.

Lavado: con agua corriente potable se eliminan los restos de tierra, impurezas y partículas extrañas.

Trituración: se tritura la fruta junto con agua en una licuadora industrial, además se analizan los parámetros como sólidos solubles, pH y acidez.

Sulfitado: se adiciona metabisulfito de sodio (100 ppm) al mosto para eliminar hongos y levaduras silvestres que trae la fruta del campo.

Reposo: el mosto reposa en un recipiente tapado por 24 horas para que el metabisulfito de sodio actúe.

Adición de enzimas pectolíticas: Una vez descontaminado el mosto se adiciona las enzimas pectolíticas para mejorar la extracción, colocándose en una concentración de 2,5ml/HL en el caso de la enzima comercial Ultrazym AFPL.

Reposo: el mosto reposa por 24 horas para que se lleve a cabo la acción de las enzimas pectolíticas.

Análisis del mosto: se realizan los respectivos análisis de sólidos solubles, pH y acidez para posteriormente realizar la corrección del mosto.

Ajuste de sólidos solubles: se debe ajustar los sólidos solubles con azúcar de mesa hasta alcanzar los 23°Brix.

Inoculación: se añade la levadura previamente activada al mosto a una concentración de 0,5g/lit si se trata de levadura liofilizada y de 1,5 g/lit si se usa levadura fresca.

Fermentación: Se coloca el mosto en un recipiente estéril privado de oxígeno y con dos mangueras de salida, la primera para tomar las muestras y realizar controles; y la segunda conectada a una trampa de agua.

Trasiegos: Una vez terminada la fermentación, trasvasar la bebida alcohólica a otro recipiente con una manguera esterilizada, separando el líquido sobrenadante del precipitado. Realizar los trasiegos que sean necesarios hasta que la bebida no presente turbidez.

Envasado: Se envasa la bebida en botellas de vidrio previamente esterilizadas para evitar que se contamine.

Pasteurización: Con el fin de eliminar levaduras remanentes se realiza una pasteurización en la botella a una temperatura de 65°C por 25 minutos, de esta manera se asegura también que la bebida no pierda su aroma y grado alcohólico.

Maduración: Se deja en reposo la bebida por un tiempo mínimo de seis meses en un lugar fresco y privado de luz, en donde las características se desarrollan y se suavizan los sabores.

Consumo: Transcurrido el tiempo de maduración la bebida se encuentra en estado óptimo de consumo.

Para la obtención de la enzima pectinasa se realiza una fermentación sumergida. Según Rincón (2007), se deben seguir los siguientes pasos:

Inoculación del medio de cultivo: pectina cítrica (2.0%), salvado de trigo (1.0%), caseína (1.0%), extracto de levadura (0.5%) y sales de potasio y agua (resto del porcentaje); el cual se inocula con *Aspergillus niger*. sembrado con anterioridad a 30 °C en la incubadora durante 96 horas. La inoculación se realiza con una suspensión de conidias en agua destilada con Tween-80 (0.01%).

Fermentación sumergida: la fermentación se realiza en un biorreactor experimental con capacidad de 10 L. Se sella y se adapta un motor facilitando la mezcla del medio durante la fermentación. Se adaptan dos mangueras, una como trampa de agua para el CO₂ y la otra para la toma de muestras.

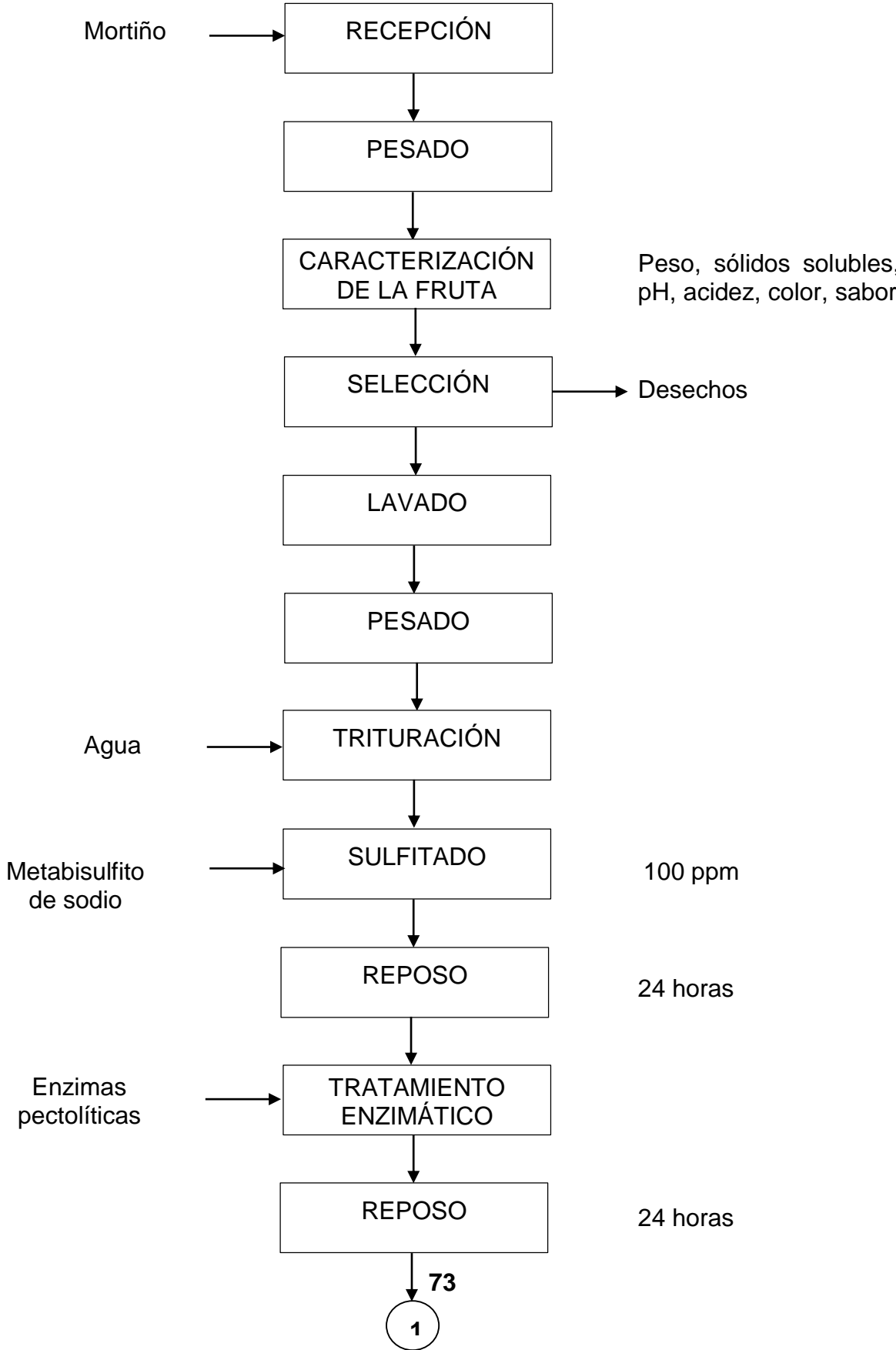
Clarificación: se filtra el medio de cultivo y después se centrifuga a 3000 revoluciones/min durante 20 min.

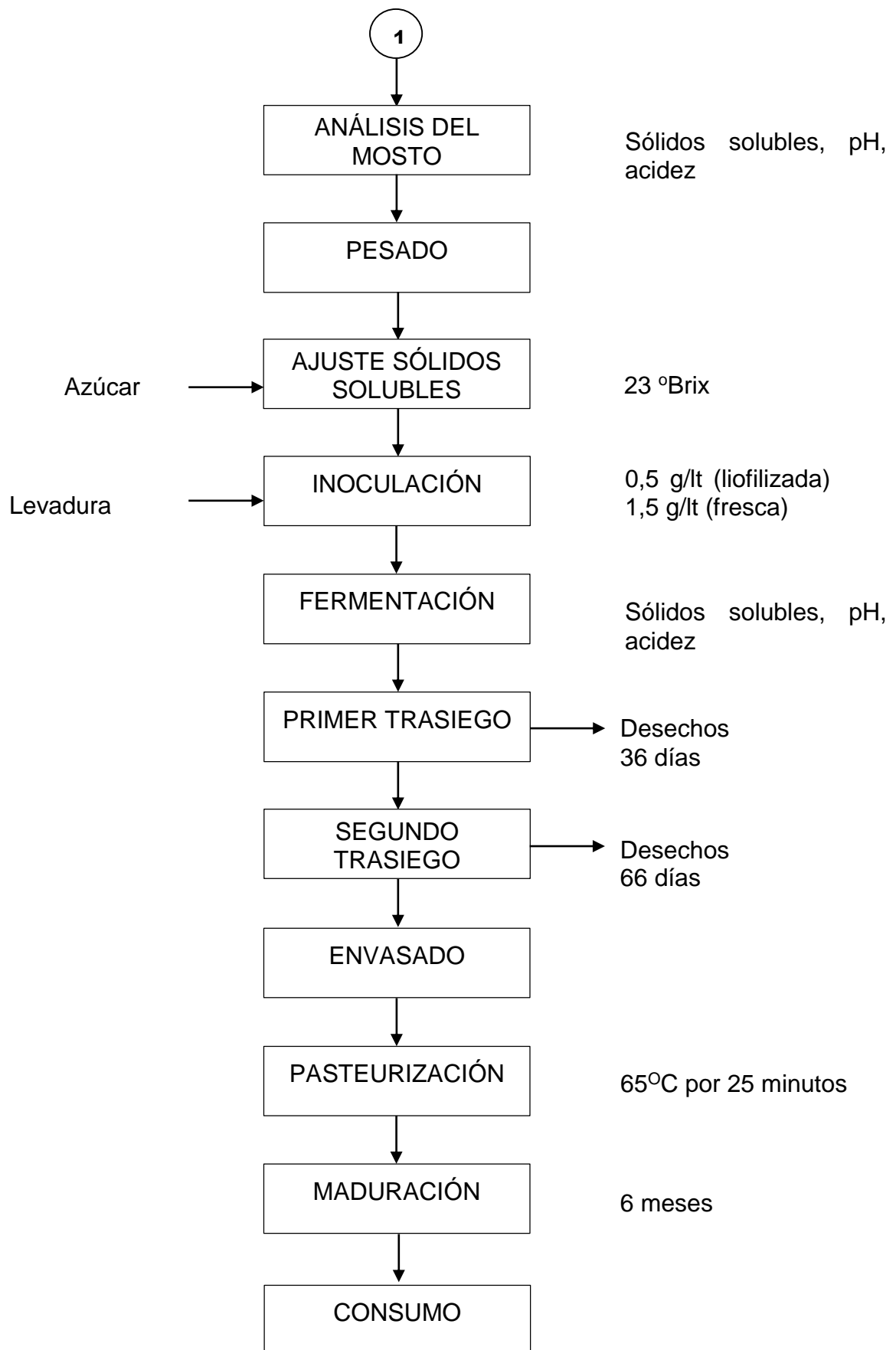
Purificación: Se prepara una solución madre de CaCl₂H₂O al 30%(P/V) y Na₂HPO₄.12H₂O al 27% (P/V). Primero se adiciona lentamente a la solución anterior, la solución de cloruro de calcio y luego la de fosfato ácido de sodio, en cantidades suficientes para lograr una concentración final del 5 % (P/V) del primero y 4.5% (P/V) del segundo. Se ajusta el pH en 4.5 con HCL 0.1 N. Se agita por 1 hora a temperatura ambiente y por 2 horas en refrigeración, luego se deja en refrigeración durante la noche. Se realiza separación del gel fosfato de calcio centrifugando la

solución anterior a 2000 revoluciones/min durante 15 min recuperando luego el líquido sobrenadante.

Concentración: Se mezcla un volumen de líquido purificado con fosfato de calcio con 3 volúmenes de etanol comercial al 96% lentamente, en frío (4°C) (para ello se colocan los frascos que contengan la solución en una cubeta con hielo para que estén a la misma temperatura del etanol que se está adicionando). Se agita completamente y luego se deja en reposo durante la noche a 4°C. Se recupera el precipitado por centrifugación a 2000 revoluciones/min durante 15 minutos. Este precipitado se seca adicionando pequeñas cantidades de etanol.

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





6.7. Metodología

Para la elaboración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) se sigue el procedimiento detallado anteriormente, cumpliendo normas de inocuidad que garanticen la calidad final del producto.

Cuadro 5. Modelo Operativo (Plan de acción)

Fases	Metas	Actividades	Responsables	Recursos	Presupuesto	Tiempo
1. Formulación de la propuesta	Aplicación de una enzima pectinasa asilada del hongo <i>Aspergillus niger</i> en la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth).	Revisión bibliográfica y procesos de elaboración	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 200	1 mes
2. Desarrollo preliminar de la propuesta	Cronograma de la propuesta	Pruebas preliminares de procesos de extracción de enzimas extracelulares del hongo <i>Aspergillus niger</i>	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$400	2 meses
3. Implementación de la propuesta	Ejecución de la propuesta	Aplicación de la tecnología de elaboración del producto	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$500	8 meses
4. Evaluación de la propuesta	Comprobación del proceso de la implementación	Encuestas a consumidores	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$200	1 mes

Elaborado por: José Jácome. 2014

6.8. Administración

La ejecución de la propuesta estará coordinada por los responsables del proyecto Ing. Gladys Navas y Egdo. José Jácome.

Cuadro 6. Administración de la Propuesta

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsables
<p>Conservar la calidad y características organolépticas de la bebida tipo vino de mortiño (<i>Vaccinium floribundum</i> Kunth)</p>	<p>Productos de limitadas características organolépticas y funcionales</p>	<p>Bebida tipo vino de mortiño con mejor color, sabor, aroma, astringencia, apreciación global, mayor contenido de antocianinas y su estabilidad a través del tiempo de maduración</p>	<p>Obtener la enzima pectinasa a partir de una fermentación sumergida con <i>Aspergillus niger</i></p> <p>Establecer la concentración más adecuada de enzima aislada para ser usada en la bebida tipo vino de mortiño</p> <p>Comparar los resultados con la enzima aislada y la enzima comercial Ultrazym AFPL en base al contenido de antocianinas y al análisis sensorial.</p>	<p>Investigador: Ing. Gladys Navas, Egdo. José Jácome</p>

Elaborado por: José Jácome. 2014

6.9. Previsión de la evaluación

Cuadro 7. Previsión de la evaluación

Preguntas básicas	Explicación
¿Quiénes solicitan evaluar?	<ul style="list-style-type: none">- Campesinos- Industrias procesadoras de vinos- Consumidores
¿Por qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none">- Corregir errores tecnológicos- Verificar la calidad del producto
¿Para qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none">- Determinar qué concentración de enzima actúa de mejor manera en la elaboración de una bebida tipo vino de mortiño.
¿Qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none">- Tecnología utilizada- Materias primas- Resultados obtenidos- Producto terminado
¿Quién evalúa?	<ul style="list-style-type: none">- Director del proyecto- Tutor- Calificadores
¿Cuándo evaluar?	<ul style="list-style-type: none">- Todo el tiempo, desde las pruebas preliminares hasta la obtención del producto final
¿Cómo evaluar?	<ul style="list-style-type: none">- Mediante métodos establecidos e instrumentos de evaluación
¿Con qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none">- Estudios relacionados- Normas establecidas

Elaborado por: José Jácome. 2014

CAPITULO VII

MATERIAL DE REFERENCIA

7.1. Bibliografía

- AGUILAR, Z., ULLOA, C., HIDALGO, P. 2009. Plantas útiles de los páramos de Zuleta, Ecuador. Proyecto de manejo y aprovechamiento sustentable de alpacas en los páramos de Zuleta. PPA-EcoCiencia, Quito, Ecuador. P. 43.
- ALEIXANDRE, J. 2006. La cultura del vino: cata y degustación. Editorial de la UPV. Valencia – España. 60-63.
- ALMEIDA, C., BRÁNYIK, T., MORADAS-FERREIRA, P., TEIXEIRA, J. 2003. Continuous production of pectinase by immobilized yeast cells on spent grains. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 6: 513-518.
- ALONSO, J. 2004. Tratado de Fitofármacos y Nutracéuticos. Corpus Libros, Rosario–Argentina, primera edición, pág. 1360.
- ALULEMA, C. & SALINAS, C.; 1993. Obtención de vino a partir de miel de abeja. Tesis 146.
- ANDRADE, M.; 2009. Efecto de la utilización de enzimas pectolíticas (Lallzyme C-max) en un mosto elaborado con levadura vínica (Lalvin EC 1118) y de panificación para la producción de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*). FCIAL – UTA. Págs. 100-103.
- ATANASOVA, V.; FULCRAND, H.; CHEYNIER, V.; MOUTNOUNET, M. 2002. Effect of oxygenation on polyphenol changes occurring in the course of wine-making. *Analytica Chimica Acta*. pp: 15-27.

- AYALA, P.; 2011. La importación y consumo vino en el Ecuador aumento. Diario Hoy. Obtenido vía on-line en: <http://www.hoy.com.ec/noticias-ecuador/la-importacion-y-el-consumo-de-vino-en-el-ecuador-aumento-496366.html>
- BADUI, D. S. 1993. Química de los alimentos. Addison Wesley Longman de México, S. A. DE C. V. México D. F., México.
- BAKKER, J; BELLWORTHY, S.J.; READER, H.P.; WATKINGS, S.J. 1999. Effect of enzymes during vinification on color and sensory properties of Porto wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 50: 271-276.
- BALSLEV, H.; OLLGAARD, B.; SANJINES, A.; 2006. Frutos comestibles. Botánica Económica de los Andes Centrales. Universidad Mayor de San Andrés, La Paz. 2006:329-346.
- BAYAS, T.; 1989. Elaboración de vino de manzana (*Malus communis*). Tesis 100. FCIAL – UTA.
- BERTUCCIOLI, M.; DADDI, C.; SENSIDONI, A.; 1983. Sensory quality in foods and beverages. Definition, measurement and control. Society Chemical Industry. London.
- BRIZUELA, R. 2008. “El vino de fruta es una alternativa que se difunde”. Colombia. Obtenido vía on-line en: http://www.diariodelvino.com/notas3/noticia1282_24mar08.htm
- CABRERA, J. & VELASCO, M.; 1989. Elaboracion de vino a partir de manzana, pera, piña y mora a escala piloto. Tesis 102. FCIAL – UTA.
- CANAL-LLAUBÈRES, R. M.; POUNS, J. P. 2002. Les enzymes de maceration en vinification en rouge. Influence d'une nouvelle preparation sur la composition des vins. *Revue des OEnologues*, 104: 29-31.

- CANO, A. 2011. Extracción y uso de tres pigmentos naturales a partir de tomate de árbol (*Solanum betaceum* Cav), mortiño (*Vaccinium myrtillus* L.) y mora de castilla (*Rubus glaucus*) como alternativa colorante natural para alimentos. Tesis de grado. Escuela Politécnica del Ejército. 96p.

- CANTOS, E.; ESPÍN, F.; TOMÁS-BARBERÁN. 2002. Varietal differences among the polyphenol profiles of seven table grape cultivars studied by LC-DAD-MS-MS.J. Agric. Food Chem. 50:5691-5696.

- CAPDEBOSQ, V.; LESKE, P.; BRUER, N. 1994. An evaluation of some winemaking characteristics of commercial pectic enzyme preparations. *Australian Grapegrower and Winemaker*, 366 A: 146-150.

- CHATONNET, P. 2005. Informe Técnico. Gestión de pH en el vino de calidad. Ed. Fundación para la cultura del vino. Madrid – España. págs. 9 – 20.

- CLARE, S.; SKURRAY, G.; THEAUD, L. 2002. Effect of a pectolytic enzyme on the colour of red wine. *The Australian & New Zealand Grapegrower & Winemaker*, 456: 29-35.

- COBA, P.; CORONEL, D.; VERDUGO, K.; PAREDES, M.; YUGSI, E.; HUACHI, L. Estudio etnobotánico del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimento ancestral y potencial alimento funcional. Universidad Politécnica Salesiana. La Granja, Revista de Ciencias de la vida, 15(2) 2012: 5-13.

- COCHRAN, W. 1990. Diseños experimentales. Editorial Trillas, Segunda Edición. México. Págs. 458-480.

- CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO. Capítulo XIV. Bebidas espirituosas, alcoholes, bebidas alcohólicas destiladas y licores. disponible vía on-line en: http://www.alimentosargentinos.gov.ar/contenido/marco/caa/capitulo_14.htm

- 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*). FCIAL - UTA. Págs. 129 – 132.
- CRIOLLO, E.; 2011. Desarrollo tecnológico de vino de frutas apartir de mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*) y manzana variedad emilia (*Malus communis – Reineta Amarilla de Blenheim*), de adecuada calidad sensorial. FCIAL - UTA. Págs. 83 – 85.
- ESTRELLA, E. 1998. El Pan de América: Etnohistoria de los alimentos aborígenes en el Ecuador. Transcrita y corregida de la 1ra impresión madrileña. Impreso en Cicetronic Offset. Tercera Edición. Quito – Ecuador.
- FELIX, R.; VILETTAZ, J.C. 1983. Wine. En: *Industrial Enzymology: The applications of enzymes in industry*. T. Godfrey and J. Reichelt (Eds). The Nature Press, New York, pp. 410-421.
- FERNÁNDEZ, M. & ZAPATA, E. 1994. Elaboración de vino de uvilla (*Physalis peruviana*). Tesis 155. FCIAL – UTA.
- FORYTHER, S. 1999. Higiene de los alimentos, microbiología y HACCP. Editorial Acribia S.S. Segunda edición. Pág. 137.
- GAMBOA, M.; 2003. Utilización de preparados enzimáticos en la producción de vino de mora (*Rubus glaucus Benth*). Tesis 307.
- GARCÍA, G.; QUINTERO, R.; LÓPEZ, M.; 2004. Biotecnología Alimentaria. Editorial Limusa, México D.F. – México. Págs. 508-515.
- GARIBAY, G.; RAMÍREZ, Q.; MUNGUÍA, L. 2004. Biotecnología alimentaria. Editorial Limusa. México D.F. Págs. 267-268.

- GIL, A. 2010. Tratado de nutrición: composición y calidad nutritiva de los Alimentos. Volumen 2. Segunda Edición. Editorial Médica Panamericana. España. Pág 293.
- GIL, J.V.; VALLÉS, S. 2001. Effect of macerating enzymes on red wine aroma al laboratory scale: Exogenous addition or expression by transgenic wine.M *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49: 5515-5523.
- GIUSTI, M.; WROLSTAD, R. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. 1st ed. New York. JohnWiley & Sons, Inc. p F1.2.1 – F2.13.
- GONZÁLEZ, J.; RODRÍGUEZ, M.; RODRÍGUEZ, J.; CABRERA, H.; PÉREZ, J. 2002. Determinación de volátiles mayoritarios en vinos tintos de las islas canarias. Universidad de La Laguna. Jornadas Técnicas vitivinícolas Canarias.
- GONZÁLEZ, L. 2002. Proyecto páramo andino – Ecopar. Propagación y productos del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). Tesis de grado. 110 pp.
- GONZÁLEZ, M. 1996. “Elaboración Artesanal de Vino de Frutas”. Determinación de acidez. Pág. 27.
- GONZÁLEZ, X. 2012. Desarrollo de una tecnología para elaborar una bebida alcohólica a partir de la grosella blanca (*Phyllanthus acidus*). Universidad Técnica de Ambato. Tesis de grado. 163pp.
- GUANO, P.; 2010. Utilizacion de enzimas pectolíticas (Lallzume EC y Lallzyme C-MAX), en la elaboración de vino de mora (*Rubus glaucus* Benth) y su incidencia en la calidad sensorial. FCIAL – UTA. Págs. 91 – 93.
- HAKKINEN, S. 2000. Flavonolssand phenolic acids in berries and Berry products. Kuopion Univesity Publications. Kuopio, Finland. 18p.

- HERNÁNDEZ, A. 2003. Microbiología industrial. Editorial Universidad Estatal. pág. 144.
- HERNÁNDEZ, FERNÁNDEZ y BATISTA. 2008. Metodología de la Investigación. Edición Mac Graw Hill. México. 850 págs.
- HERRERA E., MEDINA F. y NARANJO L. 2008. Tutoría de la Investigación. Edición Universitaria. Ambato, Ecuador. 250. págs.
- HIDALGO, J. 2003. Tratado de enología. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid-España, Págs. 789, 790-792, 888.
- HILLS, P. 2005. Degustar el vino. El sabor del vino explicado. Editorial Albatros. Buenos Aires-Argentina. Pág 152.
- HUACHI, L; YUGSI, E.; PAREDES, M.; VERDUGO, K.; CORONEL, D.; COBA, P.; 2012. Estudio etnobotánico del mortiño (*Vaccinium floribundum*) como alimentos ancestral y potencial alimento funcional. La Granja Revista de Ciencias de la Vida, 15(2) 2012: 5 - 13.
- INGRAHAM, J.; INGRAHAM, C. 1998. Introducción a la microbiología. Editorial Reverté. Barcelona-España. 735p.
- IZA, A.; 2011. Aprovechamiento de la zanahoria amarilla (*Daucus carota*) tratada enzimáticamente en la obtención de una bebida tipo vino. FCIAL - UTA. Págs. 82 – 83.
- JORGENSEN, P. M. C., R. ULLOA, VALENCIA Y J. E. MADSEN. 1995. A floristic analysis of the high andes of ecuador. S.P. Churchill et al. (editors), Biodiversity and Conservation of Neotropical Montane Forest. The New York Botanical Garden, págs. 221–237.

- KASHYAP D.R., VOHRA S., CHOPRA R. AND TEWARI R. 2001. Applications of pectinases in the commercial sector: a review. *Bioresource Technology*, 77(3), 215-227.

- KONG J M, L S CHIAM, N K GOH, T F CHIA, C BROUILLARD. 2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry* 64:923-933.

- LAYEDRA, F.; 2012. El consumo de vino sube en el país. *Diario El Comercio*. Obtenido vía on-line en: http://www.elcomercio.com/negocios/consumo-vino-sube-pais_0_829717133.html

- LECAS, M.; BRILLOUET, J.M. 1994. Cell wall composition of grape berry skins. *Phytochemistry*, 35: 1241-1243.

- LOJÁN, L. 2003. El verdor de los andes ecuatorianos: realidades y promesas. *Proyecto Desarrollo Forestal Participativo en los Andes*, pág. 296.

- LÓPEZ, C.; 1994. Obtención de vino blanco a partir de babaco (*Carica pentagonata*). Tesis 159. FCIAL – UTA.

- MARKHAM, K. R.; GOULD, K. S.; WINEFIELD, C. S.; MITCHELL, K. A.; BLOOR, S. J.; BOASE, M. R. 2000. Anthocyanic vacuolar inclusions - their nature and significance in flower coloration. *Phytochemistry*, 55: 327-336.

- MARTIN, M.; 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. Medoza-Argentina.

- MAG, 1998. Hoja técnica de mortiño – blueberry. Ministerio de Agricultura y Ganadería. Quito – Ecuador, pp. 11-14.

- MODERNIST PANTRY, 2013. Pectinex Ultra SP-L. Magical ingredients for the modern cook. Obtenido vía on-line en: <http://www.modernistpantry.com/pectinex-ultra-spl.html>
- MORALES, A. 2002–2011. Frutoterapia, nutrición y salud Plus Vitae. EDAF del Plata, Madrid–España, primera edición, pág. 212.
- MORENO, M. 2011. ¿Qué sabemos del vino? Editorial Catarata. Madrid-España. 23p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1989. Lost crops of the Incas: little know plantas of the Andes with promise for worldwide cultivation. National Academy Press. Washington, D. C. Págs. 218-221.
- NOBA, V. 2010. Efecto de seis tipos de sustratos y tres dosis de ácido a-Naftalenacetico en la propagación vegetativa de mortiño. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Tesis de grado. 105p.
- NORMA INEN N° 360. Grado alcohólico. AL04.02-321, 1978-04.
- NORMA INEN N° 374. Bebidas alcohólicas. Vino de frutas. Requisitos. AL 04.01-403. 1987.07.
- NORMA ISO 4121:1987. Análisis Sensorial.
- NOVOZYMES, 2002. Fruit and vegetables. Aplication sheet Ultrazym AFP-L. Suiza.
- NOVOZYMES, 2006. Fruit and vegetables. Aplication sheet Pectinex Ultra SP-L. Suiza. Obtenido vía on-line en: file:///C:/Users/saz/Downloads/olive_oil_processing_application_data.pdf
- NOVOZYMES, 2007. Pectinex Ultra SP-L. Product Data Sheet. Dinamarca.

- OCAÑA, I. 2012. Estudio del vino de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) elaborado a tres proporciones distintas de fruta:agua y tres niveles de dulzor. Tesis de grado. Universidad Técnica de Ambato. 301 Págs.

- OUGH, C. 1996. Tratado básico de enología. Editorial Acribia S.A. Zaragoza-España, Pág. 227.

- OUGH, C. S.; BERG, H. W. 1974. The effect of two commercial pectic enzymes on grape musts and wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 25: 108-211.

- OUGH, C. S.; CROWELL, E. A. 1979. Pectic-enzyme treatment of white grapes: temperature, variety and skin-contact time factors. *American Journal of Enology and Viticulture*, 30: 22-27.

- OUGH, C. S.; NOBLE, A.; TEMPLE, D. 1975. Pectin enzyme effects on red grapes. *American Journal of Enology and Viticulture*, 26: 195-200.

- PARLEY, A. 1997. The Effect of Pre-Fermentation Enzyme Maceration on Extraction and Colour Stability in Pinot noir Wine. *Tesis de Master*, Lincoln University, Nueva Zelanda.

- PELLERIN, P.; CABANIS, J. C. 2000. Los Glúcidos. En: *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*, Flanzky, C. (Ed.), AMV Ediciones, Ediciones Mundi-Prensa, Madrid, pp. 66-96.

- PEÑA, A.; ARROYO, B.; GÓMEZ, C.; TAPIA, D.; GÓMEZ, E.; 2004. Bioquímica. Editorial Limusa. México D.F. – México. Págs. 179-189.

- PÉREZ, S.; VALDIVIEZO, C.; 2007. Colección y caracterización morfológica *In situ* del mortino (*Vaccinium floribundum* Kunth) en la Sierra norte de Ecuador. Tesis de grado de Ingeniería Agropecuaria. ESPE. 198 págs.
- PROCEL, L.; 1985. Elaboración del vino de pera variedad piña (*Pirus comunis*, variedad ANONNA MARICATUM). Tesis 55. FCIAL – UTA.
- PUCE. 2006. Herbario de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador.
- RAMIREZ, M.; WILLIAMS, D.; 2003. Guía agroculinaria de Cotacachi, Ecuador y alrededores. IPGRI - Américas.
- RIBERAU-GAYON, P.; CHARALAMBOUS, G.; INGLETTE, G.; 1978. Flavor of foods and beverages, Wine flavor. Chemistry and Technology. Academic Press. New York.
- RINCON, N., 2007. Evaluar la aplicación de enzima pectinasa aislada del hongo *Aspergillus niger* durante el proceso de clarificación y fermentación del mosto de vino de uva (*Vitis labrusca*) variedad Isabella para la obtención de vino tinto. Tesis de Grado. Universidad de la Salle. Bogotá-Colombia. 100pp.
- RIZZON L. 1985. Incidence de la macération sur la composition chimique des vin. Tesis doctoral, Universidad de Burdeos II, N°26; SEBERT K.J., CHASSY A.W. 2004. An alternative mechanism for the astringent sensation of acids. Food Quality Preference, 15, 1, 13- 18.
- RIZZON, L.; ZANU, H.; MIELE, A. 1998. Evolução da acidez durante a vinificação de uvas tintas de três regiões vitícola do Rio grande do sul. Cienc. Technol. Alim., 118, 2, 1-12.
- ROLDÁN, S. 2012. Caracterización molecular, funcional y estudio del comportamiento post cosecha del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) de la

comunidad de quinticusig del cantón Sigchos de la provincia de Cotopaxi. Escuela Politécnica Nacional. Tesis de grado. 124 pp.

- ROMERO, I. 2008. Extracción de compuestos fenólicos de la uva al vino. Papel de los enzimas de maceración. Tesis de Doctorado. Universidad de Murcia. 273pp.
- SALTOS, H.; 2010. Sensometría. Análisis en el Desarrollo de Alimentos Procesados. Ambato-Ecuador. Pedagógica Freire. Pág. 180.
- SERVILI, M.; BEGLIOMINI, A.L.; MONTEDORO, G. 1992. Utilisation of yeast pectinase in olive oil extraction and red wine making processes. *Journal Science of Food and Agriculture*, 58: 253-260.
- TORRES, M. L. Y D. TRUJILLO. 2010. Cultivo in vitro del mortiño (*Vaccinium floribundum*), tomo 2. Laboratorio de Biotecnología Vegetal, Universidad San Francisco de Quito, Quito, Ecuador, págs. B9–B15.
- UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA NACIONAL UTN ENOLOGÍA. 2011. Alcoholes y fenoles en el vino. Ministerio de Educación, Ciencia y Tecnología. Mendoza-Argentina. 3pp.
- USDA. 2010. National nutrient database for standardreference. URL <http://ndb.nal.usda.gov/ndb/foods/show/2184?fg=&man=&facet=&count=&max=&sort=&qlookup=&offset=&format=Stats&new=i>
- VALDÉS-SÁNCHEZ Y REGODÓN M. 1994. Elaboración de tintos en presencia de enzimas pectolíticos: Evolución de compuestos fenólicos. Incidencia de atributos cromáticos. *Alimentaria*, Junio, 63-68.
- VASCO, C. 2009. Phenolic compounds in Ecuadorian fruits. Tesis Doctoral, Faculty of Natural Resources and Agricultural Sciences. Department of Food Science. Uppsala. Doctoral Thesis. Swedish University of Agricultural Sciences.

- VASCO, C., K. RIHINEN, J. RUALES Y A. KAMAL-ELDIN. 2009. Chemical composition and phenolic compound profile of mortiño (*vaccinium floribundum*). *J. Agric. Food Chem*, 57: 8274–8281.
- VAVILOV, N.; 1960. Estudio sobre el origen de las plantas cultivadas. Ediciones ACME Agency S.R. Buenos Aires – Argentina.
- VIDAL, S.; WILLIAMS, P.; O'NEILL, M.; PELLERIN, P. 2001. Polysaccharides from grape berry cell walls. Part I. Tissue distribution and structural characterization of the pectic polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 45: 315-323.
- VILLACRES, C.; 1985. "Elaboracion de vino de mora (*Rubus glaucus*). Tesis 56. FCIAL – UTA. Pags. 159-162.
- WHIESENTHAL, M. 2004. La cultura del vino. Editorial Amat. Barcelona-España. pág. 76.
- WIGHTMAN, J. Y WROLSTAD, R. 1996. β -Glucosidase activity in juiceprocessing enzymes based on anthocyanin analysis. *Journal of Food Science*, 61: 544-547,552.
- WIGHTMAN, J.D.; PRICE, S.F.; WATSON, B.T.; WROLSTRAD, R.E. 1997. Some effects of processing enzymes on anthocyanins and phenolics in Pinor noir and Cabernet sauvignon wines. *American Journal of Enology and Viticulture*, 48: 39-48.
- WIGHTMAN, J.D.; WROLSTRAD, R.E. 1995. Anthocyanin analysis as a measure of glycosidase activity in enzymes for juice processing. *Journal of Food Science*, 60: 862-867.
- YARROW, D. 1984. *Saccharomyces. The yeasts. A taxonomic study*, N.J.W. Kriger-van-Rij (comp.), Elsevier, Amsterdam.

- ZENT, J.B.; INAMA, S. 1992. Influence of macerating enzymes on the quality and composition of red wines obtained from Valpolicella wine grape. *American Journal of Enology and Viticulture*, 43: 311.

ANEXO A

**RESPUESTAS
EXPERIMENTALES**

Tabla A1. Caracterización del mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Parámetro	Resultado
Sólidos solubles (°Brix)	12,4
pH	2,47
Acidez titulable (% ac. cítrico)	1,54
Peso 20 unidades (g)	7,0
Color	Morado oscuro
Apariencia	Baya cerosa
Sabor	Ácido

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla A2. Caracterización del mosto de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Sólidos solubles (°Brix)	pH	Acidez (% ác. cítrico)	Tratamiento	Sólidos solubles (°Brix)	pH	Acidez (% ác. cítrico)
a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	3,00	2,50	0,79	a ₁ b ₀ c ₀ R ₁	2,00	2,80	0,69
a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	2,50	2,55	0,81	a ₁ b ₀ c ₀ R ₂	2,00	2,80	0,73
Promedio	2,75	2,53	0,80	Promedio	2,00	2,80	0,71
a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	3,20	2,50	0,81	a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	2,00	2,83	0,73
a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	2,90	2,48	0,81	a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	2,00	2,85	0,71
Promedio	3,05	2,49	0,81	Promedio	2,00	2,84	0,72
a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	3,10	2,55	0,81	a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	2,00	2,83	0,69
a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	3,10	2,55	0,77	a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	2,40	2,83	0,69
Promedio	3,10	2,55	0,79	Promedio	2,20	2,83	0,69
a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	2,90	2,51	0,81	a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	2,20	2,82	0,69
a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	3,00	2,53	0,79	a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	2,30	2,81	0,69
Promedio	2,95	2,52	0,80	Promedio	2,25	2,82	0,69
a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	3,00	2,54	0,81	a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	2,00	2,80	0,71
a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	3,00	2,55	0,81	a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	2,00	2,83	0,69
Promedio	3,00	2,55	0,81	Promedio	2,00	2,82	0,70
a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	2,10	2,51	0,81	a ₁ b ₂ c ₁ R ₁	2,30	2,84	0,69
a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	2,30	2,50	0,83	a ₁ b ₂ c ₁ R ₂	2,20	2,84	0,71
Promedio	2,20	2,51	0,82	Promedio	2,25	2,84	0,70

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A3. Comportamiento de los Sólidos Solubles (°Brix) registrados durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Tiempo (horas)														
	0	24	72	120	168	240	360	432	552	648	744	816	888	936	984
a₀b₀c₀ R₁	22,9	22,8	21,0	19,8	19,0	17,0	15,6	13,8	12,6	11,4	10,4	9,6	7,5	7,5	7,5
a₀b₀c₀ R₂	23,0	22,8	21,2	19,8	19,0	17,0	15,0	13,6	12,4	11,4	10,6	9,2	7,5	7,5	7,5
Promedio	23,0	22,8	21,1	19,8	19,0	17,0	15,3	13,7	12,5	11,4	10,5	9,4	7,5	7,5	7,5
a₀b₀c₁ R₁	23,8	23,0	20,3	19,6	17,8	16,2	15,0	12,8	11,6	9,6	8,0	7,5	7,5	7,5	7,5
a₀b₀c₁ R₂	23,0	22,8	20,0	19,6	18,0	16,4	15,4	13,0	12,0	10,4	8,8	7,8	7,8	7,8	7,8
Promedio	23,4	22,9	20,2	19,6	17,9	16,3	15,2	12,9	11,8	10,0	8,4	7,7	7,7	7,7	7,7
a₀b₁c₀ R₁	23,5	22,2	20,0	19,2	18,0	16,0	14,4	12,4	11,0	9,6	8,6	7,4	7,4	7,4	7,4
a₀b₁c₀ R₂	23,2	23,0	20,2	19,4	18,2	17,0	14,8	12,4	11,2	10,0	8,8	7,8	7,8	7,8	7,8
Promedio	23,4	22,6	20,1	19,3	18,1	16,5	14,6	12,4	11,1	9,8	8,7	7,6	7,6	7,6	7,6
a₀b₁c₁ R₁	22,8	22,6	20,0	19,6	18,8	16,8	15,4	14,0	13,2	12,2	11,2	10,4	8,2	8,0	8,0
a₀b₁c₁ R₂	23,0	22,4	20,2	19,8	19,0	17,4	15,8	13,8	13,0	12,2	11,0	9,8	8,0	8,0	8,0
Promedio	22,9	22,5	20,1	19,7	18,9	17,1	15,6	13,9	13,1	12,2	11,1	10,1	8,1	8,0	8,0
a₀b₂c₀ R₁	23,0	22,4	20,0	19,2	18,4	16,6	15,6	13,8	13,0	12,0	11,2	9,8	8,2	8,0	8,0
a₀b₂c₀ R₂	23,4	22,6	20,2	19,4	18,0	15,8	14,6	12,4	11,2	9,6	8,6	7,4	7,4	7,4	7,4
Promedio	23,2	22,5	20,1	19,3	18,2	16,2	15,1	13,1	12,1	10,8	9,9	8,6	7,8	7,7	7,7
a₀b₂c₁ R₁	23,4	23,0	20,8	20,0	19,4	17,0	15,4	13,4	12,2	11,4	9,4	8,0	8,0	8,0	8,0
a₀b₂c₁ R₂	23,6	23,2	20,6	20,2	19,2	17,0	15,6	13,4	12,4	10,6	8,5	7,6	7,6	7,6	7,6
Promedio	23,5	23,1	20,7	20,1	19,3	17,0	15,5	13,4	12,3	11,0	9,0	7,8	7,8	7,8	7,8
a₁b₀c₀ R₁	22,8	22,6	19,0	18,4	17,6	15,8	14,2	12,0	11,2	9,6	8,8	7,4	7,4	7,4	7,4
a₁b₀c₀ R₂	22,5	22,2	19,2	18,6	18,0	15,8	14,6	12,6	11,8	10,0	9,0	7,5	7,5	7,5	7,5
Promedio	22,7	22,4	19,1	18,5	17,8	15,8	14,4	12,3	11,5	9,8	8,9	7,5	7,5	7,5	7,5
a₁b₀c₁ R₁	22,0	21,8	19,4	19,0	17,4	16,2	14,8	13,0	12,0	10,6	9,0	7,8	7,8	7,8	7,8
a₁b₀c₁ R₂	22,0	21,8	19,6	19,0	17,6	16,6	15,2	13,2	12,2	10,6	8,8	8,2	8,0	8,0	8,0
Promedio	22,0	21,8	19,5	19,0	17,5	16,4	15,0	13,1	12,1	10,6	8,9	8,0	7,9	7,9	7,9
a₁b₁c₀ R₁	22,0	21,4	20,0	18,2	17,4	16,0	14,8	13,2	12,6	11,4	10,4	9,6	8,0	8,0	8,0
a₁b₁c₀ R₂	22,0	21,4	19,8	18,6	17,6	16,0	14,4	12,6	11,8	10,8	10,2	9,2	8,0	8,0	8,0
Promedio	22,0	21,4	19,9	18,4	17,5	16,0	14,6	12,9	12,2	11,1	10,3	9,4	8,0	8,0	8,0
a₁b₁c₁ R₁	22,0	21,6	20,2	19,6	18,8	17,0	15,4	13,8	12,8	12,0	11,0	9,8	8,0	8,0	8,0
a₁b₁c₁ R₂	22,0	21,8	19,6	18,8	18,2	17,0	15,4	13,4	12,6	12,0	10,8	9,6	8,0	8,0	8,0
Promedio	22,0	21,7	19,9	19,2	18,5	17,0	15,4	13,6	12,7	12,0	10,9	9,7	8,0	8,0	8,0
a₁b₂c₀ R₁	22,2	21,8	20,6	19,4	18,6	16,8	15,2	13,0	12,0	11,6	10,8	9,6	8,2	8,0	8,0
a₁b₂c₀ R₂	22,2	21,6	20,4	19,4	18,4	16,6	15,2	13,6	12,2	11,4	10,4	8,8	7,8	7,8	7,8
Promedio	22,2	21,7	20,5	19,4	18,5	16,7	15,2	13,3	12,1	11,5	10,6	9,2	8,0	7,9	7,9
a₁b₂c₁ R₁	22,8	22,4	20,4	20,0	19,2	17,0	16,0	14,8	13,2	12,8	11,6	10,6	8,0	8,0	8,0
a₁b₂c₁ R₂	22,5	22,2	20,6	20,0	19,0	17,2	15,8	14,8	13,2	12,6	11,4	10,0	8,0	8,0	8,0
Promedio	22,7	22,3	20,5	20,0	19,1	17,1	15,9	14,8	13,2	12,7	11,5	10,3	8,0	8,0	8,0

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A4. Comportamiento del pH registrado durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Tiempo (horas)														
	0	24	72	120	168	240	360	432	552	648	744	816	888	936	984
a₀b₀c₀R₁	2,55	2,61	2,62	2,65	2,71	2,72	2,75	2,79	2,83	2,85	2,88	2,94	3,00	3,06	3,08
a₀b₀c₀R₂	2,60	2,68	2,63	2,72	2,73	2,76	2,79	2,81	2,84	2,85	2,86	2,92	2,98	3,00	3,01
Promedio	2,58	2,65	2,63	2,69	2,72	2,74	2,77	2,80	2,84	2,85	2,87	2,93	2,99	3,03	3,05
a₀b₀c₁R₁	2,55	2,58	2,60	2,66	2,68	2,70	2,76	2,78	2,79	2,81	2,84	2,85	2,87	2,90	2,95
a₀b₀c₁R₂	2,53	2,57	2,61	2,64	2,68	2,70	2,68	2,70	2,73	2,80	2,82	2,84	2,85	2,91	2,96
Promedio	2,54	2,58	2,61	2,65	2,68	2,70	2,72	2,74	2,76	2,81	2,83	2,85	2,86	2,91	2,96
a₀b₁c₀R₁	2,60	2,65	2,71	2,73	2,78	2,80	2,81	2,84	2,80	2,82	2,84	2,86	2,92	2,98	3,09
a₀b₁c₀R₂	2,60	2,66	2,73	2,75	2,77	2,78	2,82	2,85	2,82	2,83	2,85	2,96	2,92	3,00	3,02
Promedio	2,60	2,66	2,72	2,74	2,78	2,79	2,82	2,85	2,81	2,83	2,83	2,85	2,91	2,99	3,06
a₀b₁c₁R₁	2,54	2,58	2,66	2,69	2,76	2,80	2,80	2,82	2,83	2,82	2,83	2,86	2,85	2,93	2,99
a₀b₁c₁R₂	2,55	2,60	2,65	2,72	2,76	2,78	2,80	2,81	2,83	2,86	2,83	2,86	2,93	2,93	2,98
Promedio	2,55	2,59	2,66	2,71	2,76	2,79	2,80	2,82	2,83	2,84	2,83	2,86	2,89	2,93	2,99
a₀b₂c₀R₁	2,55	2,57	2,63	2,68	2,73	2,74	2,76	2,81	2,85	2,87	2,88	2,87	2,90	2,92	2,93
a₀b₂c₀R₂	2,55	2,59	2,65	2,70	2,75	2,80	2,82	2,83	2,85	2,88	2,89	2,90	2,92	2,94	2,95
Promedio	2,55	2,58	2,64	2,69	2,74	2,77	2,79	2,82	2,85	2,88	2,89	2,89	2,91	2,93	2,94
a₀b₂c₁R₁	2,58	2,63	2,68	2,71	2,76	2,80	2,81	2,84	2,89	2,88	2,89	2,93	2,96	2,99	3,02
a₀b₂c₁R₂	2,56	2,62	2,68	2,73	2,75	2,80	2,83	2,87	2,90	2,89	2,92	2,94	2,98	3,01	3,03
Promedio	2,57	2,63	2,68	2,72	2,76	2,80	2,82	2,86	2,90	2,89	2,91	2,94	2,94	2,97	3,03
a₁b₀c₀R₁	2,86	2,85	2,83	2,84	2,86	2,88	2,90	2,92	2,93	2,95	2,98	2,98	3,01	3,03	3,05
a₁b₀c₀R₂	2,88	2,86	2,86	2,86	2,87	2,88	2,93	2,93	2,95	2,97	3,00	3,03	3,04	3,06	3,08
Promedio	2,87	2,86	2,85	2,85	2,87	2,88	2,92	2,93	2,94	2,96	2,99	3,01	3,01	3,03	3,03
a₁b₀c₁R₁	2,87	2,87	2,86	2,83	2,84	2,84	2,85	2,86	2,85	2,85	2,87	2,88	2,90	2,90	2,91
a₁b₀c₁R₂	2,88	2,86	2,85	2,84	2,83	2,83	2,82	2,82	2,83	2,84	2,86	2,85	2,86	2,87	2,87
Promedio	2,88	2,87	2,86	2,84	2,84	2,84	2,84	2,84	2,84	2,85	2,87	2,87	2,88	2,89	2,89
a₁b₁c₀R₁	2,78	2,77	2,76	2,76	2,77	2,79	2,79	2,78	2,79	2,81	2,80	2,81	2,83	2,84	2,84
a₁b₁c₀R₂	2,78	2,77	2,75	2,77	2,78	2,79	2,80	2,78	2,78	2,82	2,81	2,81	2,80	2,81	2,82
Promedio	2,78	2,77	2,76	2,77	2,78	2,79	2,80	2,78	2,79	2,82	2,81	2,81	2,82	2,83	2,83
a₁b₁c₁R₁	2,76	2,76	2,74	2,74	2,75	2,76	2,78	2,80	2,80	2,83	2,82	2,83	2,84	2,85	2,85
a₁b₁c₁R₂	2,76	2,77	2,75	2,76	2,77	2,76	2,77	2,76	2,75	2,76	2,77	2,78	2,77	2,78	2,78
Promedio	2,76	2,77	2,75	2,75	2,76	2,76	2,78	2,78	2,78	2,80	2,80	2,81	2,81	2,82	2,82
a₁b₂c₀R₁	2,78	2,77	2,75	2,74	2,71	2,72	2,74	2,76	2,73	2,75	2,76	2,79	2,80	2,81	2,83
a₁b₂c₀R₂	2,77	2,77	2,76	2,76	2,76	2,77	2,78	2,79	2,78	2,78	2,79	2,80	2,80	2,79	2,80
Promedio	2,78	2,77	2,76	2,75	2,74	2,75	2,76	2,78	2,76	2,77	2,78	2,80	2,80	2,80	2,82
a₁b₂c₁R₁	2,72	2,74	2,75	2,74	2,76	2,78	2,84	2,83	2,83	2,84	2,85	2,86	2,87	2,86	2,86
a₁b₂c₁R₂	2,72	2,71	2,72	2,73	2,75	2,76	2,78	2,79	2,80	2,83	2,85	2,87	2,86	2,86	2,86
Promedio	2,72	2,73	2,74	2,74	2,76	2,77	2,81	2,81	2,82	2,84	2,85	2,87	2,87	2,86	2,86

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A5. Comportamiento de la acidez (% ácido cítrico) registrada durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Tiempo (horas)														
	0	24	72	120	168	240	360	432	552	648	744	816	888	936	984
a₀b₀c₀ R₁	0,77	0,79	0,77	0,75	0,75	0,77	0,73	0,69	0,71	0,67	0,65	0,61	0,60	0,58	0,58
a₀b₀c₀ R₂	0,77	0,75	0,73	0,67	0,69	0,67	0,67	0,63	0,61	0,60	0,60	0,58	0,54	0,56	0,54
Promedio	0,77	0,77	0,75	0,71	0,72	0,72	0,70	0,66	0,66	0,63	0,62	0,60	0,57	0,57	0,56
a₀b₀c₁ R₁	0,79	0,77	0,79	0,75	0,73	0,73	0,69	0,69	0,67	0,61	0,58	0,60	0,60	0,56	0,54
a₀b₀c₁ R₂	0,77	0,75	0,75	0,73	0,69	0,71	0,65	0,61	0,61	0,60	0,58	0,56	0,50	0,52	0,52
Promedio	0,78	0,76	0,77	0,74	0,71	0,72	0,67	0,65	0,64	0,60	0,58	0,58	0,55	0,54	0,53
a₀b₁c₀ R₁	0,77	0,79	0,81	0,79	0,77	0,73	0,69	0,67	0,69	0,71	0,67	0,63	0,60	0,60	0,58
a₀b₁c₀ R₂	0,75	0,77	0,79	0,75	0,71	0,73	0,77	0,65	0,67	0,63	0,60	0,56	0,58	0,54	0,56
Promedio	0,76	0,78	0,80	0,77	0,74	0,73	0,73	0,66	0,68	0,67	0,67	0,63	0,60	0,57	0,57
a₀b₁c₁ R₁	0,77	0,73	0,71	0,73	0,67	0,65	0,63	0,63	0,60	0,61	0,56	0,54	0,54	0,52	0,52
a₀b₁c₁ R₂	0,77	0,79	0,75	0,73	0,69	0,67	0,71	0,65	0,67	0,63	0,60	0,58	0,60	0,54	0,52
Promedio	0,77	0,76	0,73	0,73	0,68	0,66	0,67	0,64	0,63	0,62	0,58	0,56	0,57	0,53	0,52
a₀b₂c₀ R₁	0,77	0,79	0,77	0,75	0,77	0,73	0,71	0,71	0,67	0,63	0,56	0,58	0,54	0,52	0,54
a₀b₂c₀ R₂	0,79	0,77	0,77	0,75	0,71	0,71	0,73	0,69	0,69	0,67	0,65	0,60	0,58	0,54	0,52
Promedio	0,78	0,78	0,77	0,75	0,74	0,72	0,72	0,70	0,68	0,65	0,60	0,59	0,56	0,53	0,53
a₀b₂c₁ R₁	0,79	0,77	0,77	0,75	0,73	0,69	0,65	0,63	0,60	0,61	0,61	0,60	0,58	0,56	0,56
a₀b₂c₁ R₂	0,79	0,79	0,81	0,77	0,73	0,67	0,63	0,61	0,63	0,61	0,58	0,58	0,56	0,54	0,54
Promedio	0,79	0,78	0,79	0,76	0,73	0,68	0,64	0,62	0,61	0,61	0,60	0,59	0,59	0,57	0,55
a₁b₀c₀ R₁	0,67	0,67	0,69	0,71	0,67	0,65	0,60	0,61	0,58	0,60	0,60	0,56	0,58	0,58	0,54
a₁b₀c₀ R₂	0,69	0,71	0,71	0,73	0,71	0,67	0,63	0,61	0,61	0,60	0,60	0,58	0,56	0,56	0,58
Promedio	0,68	0,69	0,70	0,72	0,69	0,66	0,61	0,61	0,60	0,60	0,60	0,57	0,57	0,57	0,57
a₁b₀c₁ R₁	0,69	0,67	0,69	0,69	0,63	0,67	0,69	0,65	0,63	0,61	0,60	0,61	0,60	0,56	0,54
a₁b₀c₁ R₂	0,69	0,67	0,71	0,69	0,67	0,67	0,63	0,61	0,60	0,56	0,54	0,50	0,50	0,48	0,50
Promedio	0,69	0,67	0,70	0,69	0,65	0,67	0,66	0,63	0,61	0,59	0,57	0,56	0,55	0,52	0,52
a₁b₁c₀ R₁	0,67	0,65	0,65	0,67	0,63	0,65	0,67	0,65	0,58	0,60	0,58	0,56	0,54	0,52	0,52
a₁b₁c₀ R₂	0,65	0,67	0,67	0,63	0,61	0,60	0,60	0,58	0,60	0,61	0,60	0,58	0,54	0,52	0,52
Promedio	0,66	0,66	0,66	0,65	0,62	0,62	0,63	0,61	0,59	0,60	0,59	0,57	0,54	0,52	0,52
a₁b₁c₁ R₁	0,65	0,65	0,63	0,65	0,65	0,65	0,63	0,61	0,58	0,58	0,54	0,56	0,54	0,52	0,52
a₁b₁c₁ R₂	0,67	0,67	0,67	0,69	0,65	0,63	0,61	0,56	0,58	0,54	0,48	0,50	0,48	0,46	0,48
Promedio	0,66	0,66	0,65	0,67	0,65	0,64	0,62	0,59	0,58	0,56	0,51	0,53	0,51	0,49	0,50
a₁b₂c₀ R₁	0,67	0,67	0,69	0,65	0,65	0,65	0,63	0,58	0,56	0,54	0,54	0,52	0,50	0,52	0,50
a₁b₂c₀ R₂	0,67	0,67	0,67	0,65	0,63	0,63	0,61	0,60	0,58	0,56	0,56	0,54	0,56	0,50	0,48
Promedio	0,67	0,67	0,68	0,65	0,64	0,64	0,62	0,59	0,57	0,55	0,55	0,53	0,53	0,51	0,49
a₁b₂c₁ R₁	0,65	0,67	0,67	0,65	0,63	0,61	0,63	0,60	0,60	0,60	0,58	0,58	0,54	0,50	0,48
a₁b₂c₁ R₂	0,69	0,69	0,67	0,67	0,65	0,61	0,61	0,60	0,56	0,52	0,52	0,50	0,48	0,46	0,48
Promedio	0,67	0,68	0,67	0,66	0,64	0,61	0,62	0,60	0,58	0,56	0,55	0,54	0,51	0,48	0,48

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A6. Duración de la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Tiempo (días)
a₀b₀c₀ R₁	37
a₀b₀c₀ R₂	37
Promedio	37
a₀b₀c₁ R₁	34
a₀b₀c₁ R₂	34
Promedio	34
a₀b₁c₀ R₁	34
a₀b₁c₀ R₂	34
Promedio	34
a₀b₁c₁ R₁	39
a₀b₁c₁ R₂	37
Promedio	38
a₀b₂c₀ R₁	39
a₀b₂c₀ R₂	34
Promedio	37
a₀b₂c₁ R₁	34
a₀b₂c₁ R₂	34
Promedio	34
a₁b₀c₀ R₁	34
a₁b₀c₀ R₂	34
Promedio	34
a₁b₀c₁ R₁	34
a₁b₀c₁ R₂	37
Promedio	36
a₁b₁c₀ R₁	37
a₁b₁c₀ R₂	37
Promedio	37
a₁b₁c₁ R₁	37
a₁b₁c₁ R₂	37
Promedio	37
a₁b₂c₀ R₁	39
a₁b₂c₀ R₂	37
Promedio	38
a₁b₂c₁ R₁	37
a₁b₂c₁ R₂	37
Promedio	37

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A7. Comportamiento de los Sólidos Solubles (°Brix) registrados durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Tiempo (horas)				
	0	168	336	504	720
a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
Promedio	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5
a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	7,8	7,7	7,7	7,6	7,6
Promedio	7,7	7,6	7,6	7,6	7,6
a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4
a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	7,8	7,8	7,8	7,7	7,7
Promedio	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6
a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	8,0	8,0	7,9	7,8	7,8
a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Promedio	8,0	8,0	8,0	7,9	7,9
a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	8,0	8,0	8,0	7,9	7,9
a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4
Promedio	7,7	7,7	7,7	7,7	7,7
a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6
Promedio	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8
a ₁ b ₀ c ₀ R ₁	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4
a ₁ b ₀ c ₀ R ₂	7,5	7,4	7,4	7,4	7,4
Promedio	7,5	7,4	7,4	7,4	7,4
a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8
a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Promedio	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9
a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	8,0	7,9	7,9	7,9	7,9
a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Promedio	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Promedio	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8
Promedio	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9
a ₁ b ₂ c ₁ R ₁	8,0	7,9	7,9	7,9	7,9
a ₁ b ₂ c ₁ R ₂	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0
Promedio	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A8. Comportamiento del pH registrado durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Tiempo (horas)				
	0	168	336	504	720
a₀b₀c₀ R₁	3,08	3,10	3,14	3,15	3,15
a₀b₀c₀ R₂	3,01	3,05	3,12	3,15	3,17
Promedio	3,05	3,08	3,13	3,15	3,16
a₀b₀c₁ R₁	2,95	3,00	3,10	3,18	3,23
a₀b₀c₁ R₂	2,96	3,06	3,12	3,18	3,19
Promedio	2,96	3,03	3,11	3,18	3,21
a₀b₁c₀ R₁	3,09	3,11	3,15	3,19	3,20
a₀b₁c₀ R₂	3,02	3,09	3,16	3,18	3,21
Promedio	3,06	3,10	3,16	3,19	3,21
a₀b₁c₁ R₁	2,99	3,04	3,07	3,14	3,13
a₀b₁c₁ R₂	2,98	3,05	3,13	3,15	3,17
Promedio	2,99	3,05	3,10	3,15	3,15
a₀b₂c₀ R₁	2,93	3,00	3,09	3,11	3,12
a₀b₂c₀ R₂	2,95	3,02	3,09	3,16	3,17
Promedio	2,94	3,01	3,09	3,14	3,15
a₀b₂c₁ R₁	3,02	3,06	3,14	3,18	3,19
a₀b₂c₁ R₂	3,03	3,10	3,18	3,22	3,21
Promedio	3,03	3,08	3,16	3,20	3,20
a₁b₀c₀ R₁	3,05	3,09	3,14	3,16	3,16
a₁b₀c₀ R₂	3,08	3,12	3,16	3,17	3,16
Promedio	3,07	3,11	3,15	3,17	3,16
a₁b₀c₁ R₁	2,91	2,98	3,06	3,12	3,14
a₁b₀c₁ R₂	2,87	2,96	3,07	3,11	3,14
Promedio	2,89	2,97	3,07	3,12	3,14
a₁b₁c₀ R₁	2,84	2,92	3,01	3,08	3,12
a₁b₁c₀ R₂	2,82	2,96	3,05	3,11	3,12
Promedio	2,83	2,94	3,03	3,10	3,12
a₁b₁c₁ R₁	2,85	2,93	2,99	3,04	3,09
a₁b₁c₁ R₂	2,78	2,85	2,95	3,02	3,06
Promedio	2,82	2,89	2,97	3,03	3,08
a₁b₂c₀ R₁	2,83	2,90	2,96	3,00	2,99
a₁b₂c₀ R₂	2,80	2,88	2,94	3,00	3,01
Promedio	2,82	2,89	2,95	3,00	3,00
a₁b₂c₁ R₁	2,86	2,88	2,92	2,96	2,98
a₁b₂c₁ R₂	2,86	2,90	2,96	2,98	3,01
Promedio	2,86	2,89	2,94	2,97	3,00

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A9. Comportamiento de la acidez (% ácido cítrico) registrada durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Tiempo (horas)				
	0	168	336	504	720
a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	0,58	0,54	0,52	0,50	0,50
a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	0,54	0,54	0,52	0,50	0,50
Promedio	0,56	0,54	0,52	0,50	0,50
a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	0,54	0,54	0,54	0,54	0,52
a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	0,52	0,54	0,52	0,48	0,48
Promedio	0,53	0,54	0,53	0,51	0,50
a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	0,58	0,56	0,54	0,52	0,50
a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	0,56	0,52	0,52	0,48	0,48
Promedio	0,57	0,54	0,53	0,50	0,49
a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	0,52	0,50	0,48	0,46	0,46
a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	0,52	0,52	0,50	0,50	0,50
Promedio	0,52	0,51	0,49	0,48	0,48
a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	0,54	0,52	0,50	0,50	0,50
a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	0,52	0,50	0,52	0,52	0,52
Promedio	0,53	0,51	0,51	0,51	0,51
a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	0,56	0,54	0,52	0,50	0,50
a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	0,54	0,52	0,50	0,50	0,48
Promedio	0,55	0,53	0,51	0,50	0,49
a ₁ b ₀ c ₀ R ₁	0,54	0,56	0,50	0,50	0,48
a ₁ b ₀ c ₀ R ₂	0,58	0,54	0,52	0,52	0,50
Promedio	0,56	0,55	0,51	0,51	0,49
a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	0,54	0,54	0,50	0,48	0,48
a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	0,50	0,50	0,50	0,50	0,50
Promedio	0,52	0,52	0,50	0,49	0,49
a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	0,52	0,50	0,50	0,50	0,48
a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	0,52	0,52	0,50	0,48	0,48
Promedio	0,52	0,51	0,50	0,49	0,48
a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	0,52	0,48	0,46	0,44	0,44
a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	0,48	0,46	0,46	0,42	0,40
Promedio	0,50	0,47	0,46	0,43	0,42
a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	0,50	0,50	0,48	0,48	0,46
a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	0,48	0,50	0,48	0,46	0,44
Promedio	0,49	0,50	0,48	0,47	0,45
a ₁ b ₂ c ₁ R ₁	0,48	0,46	0,44	0,42	0,42
a ₁ b ₂ c ₁ R ₂	0,48	0,44	0,42	0,40	0,38
Promedio	0,48	0,45	0,43	0,41	0,40

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A10. Medidas de absorbancia a 520 nm al iniciar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	pH		Diferencia
	1	4,5	
a₀b₀c₀ R₁	0,053	0,034	0,019
a₀b₀c₀ R₂	0,057	0,036	0,021
Promedio	0,055	0,035	0,020
a₀b₀c₁ R₁	0,050	0,032	0,018
a₀b₀c₁ R₂	0,060	0,042	0,018
Promedio	0,055	0,037	0,018
a₀b₁c₀ R₁	0,064	0,041	0,023
a₀b₁c₀ R₂	0,063	0,041	0,022
Promedio	0,064	0,041	0,023
a₀b₁c₁ R₁	0,063	0,042	0,021
a₀b₁c₁ R₂	0,055	0,034	0,021
Promedio	0,059	0,038	0,021
a₀b₂c₀ R₁	0,053	0,032	0,021
a₀b₂c₀ R₂	0,074	0,050	0,024
Promedio	0,064	0,041	0,023
a₀b₂c₁ R₁	0,072	0,040	0,032
a₀b₂c₁ R₂	0,080	0,049	0,031
Promedio	0,076	0,045	0,032
a₁b₀c₀ R₁	0,046	0,029	0,017
a₁b₀c₀ R₂	0,046	0,027	0,019
Promedio	0,046	0,028	0,018
a₁b₀c₁ R₁	0,050	0,032	0,018
a₁b₀c₁ R₂	0,047	0,031	0,016
Promedio	0,049	0,032	0,017
a₁b₁c₀ R₁	0,050	0,025	0,025
a₁b₁c₀ R₂	0,049	0,026	0,023
Promedio	0,050	0,026	0,024
a₁b₁c₁ R₁	0,072	0,050	0,022
a₁b₁c₁ R₂	0,063	0,040	0,023
Promedio	0,068	0,045	0,023
a₁b₂c₀ R₁	0,044	0,024	0,020
a₁b₂c₀ R₂	0,050	0,028	0,022
Promedio	0,047	0,026	0,021
a₁b₂c₁ R₁	0,054	0,030	0,024
a₁b₂c₁ R₂	0,052	0,030	0,022
Promedio	0,053	0,030	0,023

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A11. Medidas de absorbancia a 520 nm al finalizar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	pH		Diferencia
	1	4,5	
a₀b₀c₀ R₁	0,036	0,028	0,008
a₀b₀c₀ R₂	0,042	0,031	0,011
Promedio	0,039	0,030	0,010
a₀b₀c₁ R₁	0,038	0,029	0,009
a₀b₀c₁ R₂	0,049	0,039	0,010
Promedio	0,044	0,034	0,009
a₀b₁c₀ R₁	0,054	0,041	0,013
a₀b₁c₀ R₂	0,056	0,045	0,011
Promedio	0,055	0,043	0,012
a₀b₁c₁ R₁	0,069	0,057	0,012
a₀b₁c₁ R₂	0,060	0,047	0,013
Promedio	0,065	0,052	0,013
a₀b₂c₀ R₁	0,063	0,052	0,011
a₀b₂c₀ R₂	0,057	0,042	0,015
Promedio	0,060	0,047	0,013
a₀b₂c₁ R₁	0,053	0,035	0,018
a₀b₂c₁ R₂	0,059	0,042	0,017
Promedio	0,056	0,039	0,018
a₁b₀c₀ R₁	0,045	0,040	0,005
a₁b₀c₀ R₂	0,050	0,043	0,007
Promedio	0,048	0,042	0,006
a₁b₀c₁ R₁	0,052	0,044	0,008
a₁b₀c₁ R₂	0,052	0,046	0,006
Promedio	0,052	0,045	0,007
a₁b₁c₀ R₁	0,060	0,048	0,012
a₁b₁c₀ R₂	0,058	0,047	0,011
Promedio	0,059	0,048	0,012
a₁b₁c₁ R₁	0,049	0,039	0,010
a₁b₁c₁ R₂	0,046	0,034	0,012
Promedio	0,048	0,037	0,011
a₁b₂c₀ R₁	0,043	0,033	0,010
a₁b₂c₀ R₂	0,048	0,037	0,011
Promedio	0,046	0,035	0,011
a₁b₂c₁ R₁	0,047	0,036	0,011
a₁b₂c₁ R₂	0,042	0,032	0,010
Promedio	0,045	0,034	0,011

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A12. Contenido de los antocianos monoméricos totales (AMT) (mg/lit) al iniciar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Antocianos monoméricos totales (mg/lit)
a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	15,864
a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	17,534
Promedio	16,699
a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	15,029
a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	15,029
Promedio	15,029
a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	19,204
a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	18,369
Promedio	18,786
a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	17,534
a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	17,534
Promedio	17,534
a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	17,534
a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	20,039
Promedio	18,786
a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	26,718
a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	25,883
Promedio	26,301
a ₁ b ₀ c ₀ R ₁	14,194
a ₁ b ₀ c ₀ R ₂	15,864
Promedio	15,029
a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	15,029
a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	13,359
Promedio	14,194
a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	20,874
a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	19,204
Promedio	20,039
a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	18,369
a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	19,204
Promedio	18,786
a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	16,699
a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	18,369
Promedio	17,534
a ₁ b ₂ c ₁ R ₁	20,039
a ₁ b ₂ c ₁ R ₂	18,369
Promedio	19,204

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A13. Contenido de los antocianos monoméricos totales (AMT) (mg/lit) al finalizar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Antocianos monoméricos totales (mg/lit)
a₀b₀c₀ R₁	6,680
a₀b₀c₀ R₂	9,184
Promedio	7,932
a₀b₀c₁ R₁	7,514
a₀b₀c₁ R₂	8,349
Promedio	7,932
a₀b₁c₀ R₁	10,854
a₀b₁c₀ R₂	9,184
Promedio	10,019
a₀b₁c₁ R₁	10,019
a₀b₁c₁ R₂	10,854
Promedio	10,437
a₀b₂c₀ R₁	9,184
a₀b₂c₀ R₂	12,524
Promedio	10,854
a₀b₂c₁ R₁	15,029
a₀b₂c₁ R₂	14,194
Promedio	14,612
a₁b₀c₀ R₁	4,175
a₁b₀c₀ R₂	5,845
Promedio	5,010
a₁b₀c₁ R₁	6,680
a₁b₀c₁ R₂	5,010
Promedio	5,845
a₁b₁c₀ R₁	10,019
a₁b₁c₀ R₂	9,184
Promedio	9,602
a₁b₁c₁ R₁	8,349
a₁b₁c₁ R₂	10,019
Promedio	9,184
a₁b₂c₀ R₁	8,349
a₁b₂c₀ R₂	9,184
Promedio	8,767
a₁b₂c₁ R₁	9,184
a₁b₂c₁ R₂	8,349
Promedio	8,767

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A14. Pérdida de antocianos monoméricos totales (%) al finalizar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Pérdida de antocianos monoméricos totales
	(%)
a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	57,89
a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	47,62
Promedio	52,50
a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	50,00
a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	44,44
Promedio	47,22
a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	43,48
a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	50,00
Promedio	46,67
a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	42,86
a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	38,10
Promedio	40,48
a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	47,62
a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	37,50
Promedio	42,22
a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	43,75
a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	45,16
Promedio	44,44
a ₁ b ₀ c ₀ R ₁	70,59
a ₁ b ₀ c ₀ R ₂	63,16
Promedio	66,67
a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	55,56
a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	62,50
Promedio	58,82
a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	52,00
a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	52,17
Promedio	52,08
a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	54,55
a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	47,83
Promedio	51,11
a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	50,00
a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	50,00
Promedio	50,00
a ₁ b ₂ c ₁ R ₁	54,17
a ₁ b ₂ c ₁ R ₂	54,55
Promedio	54,35

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A15. Resultados de las pruebas sensoriales de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). Réplica 1.

Catador	Tratamiento	Color	Aroma	Acidez	Astringencia	Apreciación Global
1	a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	6	3	4	5	5
1	a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	4	4	2	2	3
1	a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	5	6	5	6	6
1	a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	3	5	4	5	4
2	a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	3	5	4	4	5
2	a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	6	4	5	6	5
2	a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	5	4	4	6	4
2	a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	4	5	6	6	6
3	a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	5	3	4	4	5
3	a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	5	4	4	4	5
3	a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	6	3	3	5	3
3	a ₁ b ₂ c ₁ R ₁	6	4	6	6	6
4	a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	3	5	3	4	4
4	a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	7	5	5	4	4
4	a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	4	5	3	4	5
4	Testigo	5	3	3	3	3
5	a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	6	4	6	5	6
5	a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	6	6	4	5	5
5	a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	6	5	4	6	5
5	a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	4	3	5	3	3
6	a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	5	4	5	5	6
6	a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	6	4	3	4	3
6	a ₁ b ₀ c ₀ R ₁	5	4	4	5	5
6	a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	6	5	5	5	5
7	a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	6	5	6	6	5
7	a ₁ b ₀ c ₀ R ₁	6	5	4	4	5
7	a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	6	4	7	5	5
7	a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	5	6	5	6	5
8	a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	4	4	5	6	5
8	a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	3	5	5	6	5
8	a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	6	5	5	5	6
8	a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	5	4	5	5	5
9	a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	7	5	6	6	6
9	a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	5	6	6	6	7
9	a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	4	5	4	5	5
9	a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	5	5	5	5	4
10	a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	5	4	5	3	4
10	a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	4	5	6	7	7
10	a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	6	6	5	5	6
10	Testigo	7	4	3	5	5
11	a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	4	5	6	7	7
11	a ₁ b ₀ c ₀ R ₁	4	3	2	2	3
11	a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	6	5	7	7	7
11	a ₁ b ₂ c ₁ R ₁	4	5	6	6	6
12	a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	5	5	5	4	6
12	a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	5	5	7	6	5
12	a ₁ b ₂ c ₁ R ₁	6	6	7	7	6
12	Testigo	7	5	5	5	5
13	a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	5	6	4	5	6
13	a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	5	5	6	6	6
13	a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	5	7	7	7	7
13	Testigo	6	5	3	4	5

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Testigo: Vino comercial

Tabla A16. Resultados de las pruebas sensoriales de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). Réplica 2.

Catador	Tratamiento	Color	Aroma	Acidez	Astringencia	Apreciación Global
1	a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	5	4	4	3	4
1	a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	4	4	4	3	4
1	a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	5	6	6	5	5
1	a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	6	5	5	5	5
2	a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	4	4	6	6	6
2	a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	4	5	2	4	4
2	a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	6	5	5	5	5
2	a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	4	3	5	6	5
3	a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	5	4	5	5	5
3	a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	5	6	6	6	6
3	a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	6	4	3	4	3
3	a ₁ b ₂ c ₁ R ₂	5	5	5	5	5
4	a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	3	4	4	4	4
4	a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	4	3	4	4	4
4	a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	3	4	4	4	5
4	Testigo	6	5	2	3	3
5	a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	4	6	5	5	6
5	a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	5	5	4	5	5
5	a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	5	5	4	6	6
5	a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	4	5	5	5	6
6	a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	5	5	6	5	7
6	a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	6	6	4	5	5
6	a ₁ b ₀ c ₀ R ₂	5	4	5	3	6
6	a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	5	5	6	6	6
7	a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	6	4	3	4	5
7	a ₁ b ₀ c ₀ R ₂	5	5	3	1	5
7	a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	5	3	4	5	6
7	a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	5	4	4	5	5
8	a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	4	5	4	4	4
8	a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	3	4	3	4	4
8	a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	4	5	5	6	5
8	a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	3	4	5	5	4
9	a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	6	4	3	4	5
9	a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	6	6	7	7	7
9	a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	6	6	6	6	6
9	a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	5	6	6	6	6
10	a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	6	5	5	5	5
10	a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	6	6	6	6	6
10	a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	4	5	6	6	5
10	Testigo	7	6	3	4	5
11	a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	4	4	5	5	5
11	a ₁ b ₀ c ₀ R ₂	5	4	3	3	4
11	a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	3	5	7	7	6
11	a ₁ b ₂ c ₁ R ₂	5	5	5	5	5
12	a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	5	4	5	4	5
12	a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	5	5	5	6	6
12	a ₁ b ₂ c ₁ R ₂	7	7	7	7	7
12	Testigo	7	6	4	5	6
13	a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	5	6	3	5	5
13	a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	6	6	5	6	6
13	a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	6	7	7	7	7
13	Testigo	7	6	3	5	5

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Testigo: Vino comercial

Tabla A17. Resultados de las pruebas sensoriales de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). Réplica 3.

Catador	Tratamiento	Color	Aroma	Acidez	Astringencia	Apreciación Global
1	a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	6	5	5	5	6
1	a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	4	4	4	3	4
1	a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	5	5	4	4	5
1	a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	4	5	5	5	5
2	a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	3	5	3	4	5
2	a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	5	4	5	5	5
2	a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	6	4	4	6	5
2	a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	4	5	6	6	6
3	a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	5	4	4	3	4
3	a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	5	5	5	6	6
3	a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	6	2	3	2	2
3	a ₁ b ₂ c ₁ R ₁	5	4	5	5	5
4	a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	3	4	4	5	5
4	a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	5	4	5	5	4
4	a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	4	5	3	4	3
4	Testigo	5	3	2	3	2
5	a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	6	3	5	4	5
5	a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	5	5	5	5	5
5	a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	6	4	4	5	4
5	a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	4	3	5	4	4
6	a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	5	4	3	4	4
6	a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	5	4	4	4	4
6	a ₁ b ₀ c ₀ R ₁	5	5	5	4	5
6	a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	4	5	6	6	5
7	a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	6	5	5	2	4
7	a ₁ b ₀ c ₀ R ₁	6	4	4	5	5
7	a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	4	3	6	6	6
7	a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	5	5	4	5	4
8	a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	4	4	4	4	4
8	a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	4	4	5	3	4
8	a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	6	5	5	5	5
8	a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	4	4	5	5	5
9	a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	7	5	5	6	6
9	a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	5	5	7	7	6
9	a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	4	4	5	4	5
9	a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	5	4	5	5	5
10	a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	5	5	5	5	5
10	a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	5	4	5	6	5
10	a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	6	6	7	7	7
10	Testigo	7	5	4	5	4
11	a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	4	5	5	5	5
11	a ₁ b ₀ c ₀ R ₁	4	3	3	3	3
11	a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	6	6	7	7	7
11	a ₁ b ₂ c ₁ R ₁	4	5	7	7	6
12	a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	5	4	5	5	5
12	a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	6	5	6	5	6
12	a ₁ b ₂ c ₁ R ₁	6	6	7	7	6
12	Testigo	7	5	4	5	4
13	a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	6	5	5	4	5
13	a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	5	6	4	4	6
13	a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	7	7	7	7	7
13	Testigo	7	5	4	5	4

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Testigo: Vino comercial

Tabla A18. Resultados de las pruebas sensoriales de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth). Réplica 4.

Catador	Tratamiento	Color	Aroma	Acidez	Astringencia	Apreciación Global
1	a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	6	5	5	5	5
1	a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	5	5	5	5	5
1	a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	4	5	6	6	6
1	a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	6	6	6	6	6
2	a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	5	3	4	5	5
2	a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	5	5	3	5	6
2	a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	4	3	4	3	4
2	a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	4	4	5	5	3
3	a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	4	4	3	3	4
3	a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	5	6	5	5	5
3	a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	6	3	3	3	4
3	a ₁ b ₂ c ₁ R ₂	6	5	5	5	5
4	a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	3	4	5	5	4
4	a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	5	4	4	4	3
4	a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	3	2	4	3	3
4	Testigo	5	3	2	2	3
5	a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	5	5	5	5	5
5	a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	5	6	5	6	6
5	a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	6	6	5	5	5
5	a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	4	4	4	4	4
6	a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	5	5	5	5	5
6	a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	5	5	5	4	5
6	a ₁ b ₀ c ₀ R ₂	5	4	5	4	5
6	a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	4	5	6	6	6
7	a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	6	5	3	3	4
7	a ₁ b ₀ c ₀ R ₂	5	5	4	2	5
7	a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	5	2	5	4	5
7	a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	5	5	5	6	6
8	a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	5	5	4	4	4
8	a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	4	4	3	4	4
8	a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	6	4	5	4	5
8	a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	3	6	6	5	4
9	a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	6	4	4	3	3
9	a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	5	6	7	7	7
9	a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	7	6	5	5	6
9	a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	4	4	4	5	5
10	a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	5	6	5	5	5
10	a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	6	7	6	7	7
10	a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	4	5	6	5	5
10	Testigo	7	6	3	5	4
11	a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	4	4	3	3	4
11	a ₁ b ₀ c ₀ R ₂	4	2	3	3	3
11	a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	4	6	7	7	6
11	a ₁ b ₂ c ₁ R ₂	5	5	6	6	6
12	a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	6	5	5	6	6
12	a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	6	4	5	6	5
12	a ₁ b ₂ c ₁ R ₂	6	7	7	7	6
12	Testigo	7	6	3	4	4
13	a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	5	5	5	4	5
13	a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	5	6	4	5	5
13	a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	7	6	7	7	7
13	Testigo	6	5	3	4	4

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Testigo: Vino comercial

Tabla A19. Valores considerados para la determinación del rendimiento en la elaboración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Mosto (kg)	Vino (kg)	Rendimiento (%)
a ₀ b ₀ c ₀ R ₁	4,16	1,85	44,47
a ₀ b ₀ c ₀ R ₂	4,05	2,02	49,88
Promedio	4,11	1,94	47,17
a ₀ b ₀ c ₁ R ₁	4,19	2,10	50,12
a ₀ b ₀ c ₁ R ₂	4,14	2,20	53,14
Promedio	4,17	2,15	51,63
a ₀ b ₁ c ₀ R ₁	4,20	2,11	50,24
a ₀ b ₁ c ₀ R ₂	4,16	2,20	52,88
Promedio	4,18	2,16	51,56
a ₀ b ₁ c ₁ R ₁	4,10	2,12	51,71
a ₀ b ₁ c ₁ R ₂	4,31	2,16	50,12
Promedio	4,21	2,14	50,91
a ₀ b ₂ c ₀ R ₁	4,17	2,18	52,28
a ₀ b ₂ c ₀ R ₂	4,15	2,28	54,94
Promedio	4,16	2,23	53,61
a ₀ b ₂ c ₁ R ₁	4,16	2,37	56,97
a ₀ b ₂ c ₁ R ₂	4,26	2,29	53,76
Promedio	4,21	2,33	55,36
a ₁ b ₀ c ₀ R ₁	5,30	3,31	62,45
a ₁ b ₀ c ₀ R ₂	5,34	3,12	58,43
Promedio	5,32	3,22	60,44
a ₁ b ₀ c ₁ R ₁	5,28	3,30	62,50
a ₁ b ₀ c ₁ R ₂	5,30	3,51	66,23
Promedio	5,29	3,41	64,36
a ₁ b ₁ c ₀ R ₁	5,25	3,60	68,57
a ₁ b ₁ c ₀ R ₂	5,33	3,52	66,04
Promedio	5,29	3,56	67,31
a ₁ b ₁ c ₁ R ₁	5,20	3,62	69,62
a ₁ b ₁ c ₁ R ₂	5,34	3,51	65,73
Promedio	5,27	3,57	67,67
a ₁ b ₂ c ₀ R ₁	5,35	3,47	64,86
a ₁ b ₂ c ₀ R ₂	5,30	3,66	69,06
Promedio	5,33	3,57	66,96
a ₁ b ₂ c ₁ R ₁	5,32	3,55	66,73
a ₁ b ₂ c ₁ R ₂	5,27	3,71	70,40
Promedio	5,30	3,63	68,56

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₀: Sin enzimas

b₁: Ultrazym AFPL

b₂: Pectinex Ultra SP-L

c₀: Levadura fresca

c₁: Levadura liofilizada

R₁: Réplica 1

R₂: Réplica 2

Tabla A20. Análisis microbiológico del mejor tratamiento de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Mohos y levaduras (UFC/ml)		Aerobios totales (UFC/ml)	
	R1	R2	R1	R2
a₁b₁c₀R₁	<10	<10	<10	<10
a₁b₁c₀R₂	<10	<10	<10	<10

Elaborado por: José Jácome, 2014.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Tabla A21. Resultado del análisis cromatográfico de los compuestos volátiles mayoritarios (mg/100mL de alcohol anhidro) del mejor tratamiento de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Tratamiento	Metanol	Alcoholes superiores			Ésteres	Aldehídos	
		n-propanol	2-Metilpropanol	2+3-Metilbutanol	Etilacetato	Acetaldehído	Furfural
a₁b₁c₀R₁	124,45	1,58	51,41	205,81	85,85	133,57	<1
a₁b₁c₀R₂	132,54	2,22	49,7	206,27	80,18	136,4	<1
Promedio	128,50	1,90	50,56	206,04	83,02	134,99	<1

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Fuente: Laboratorio de Análisis Ambiental e Inspección LABCESTTA.

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

ANEXO B

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

PROCESO FERMENTATIVO

Tabla B1. Análisis de Varianza para Sólidos Solubles (°Brix) durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Relación fruta:agua	0,166667	1	0,166667	14,29	0,0634
B:Enzimas	0,343333	2	0,171667	14,71	0,0636
C:Levadura	0,24	1	0,24	20,57	0,0453*
D:Réplica	0,00166667	1	0,00166667	0,14	0,7418
INTERACCIONES					
AB	0,0133333	2	0,00666667	0,57	0,6364
AC	0,00166667	1	0,00166667	0,14	0,7418
AD	0,00666667	1	0,00666667	0,57	0,5286
BC	0,04	2	0,02	1,71	0,3684
BD	0,243333	2	0,121667	10,43	0,0875
CD	0,00666667	1	0,00666667	0,57	0,5286
ABC	0,123333	2	0,0616667	5,29	0,1591
ABD	0,0933333	2	0,0466667	4,00	0,2000
ACD	0,00166667	1	0,00166667	0,14	0,7418
BCD	0,0533333	2	0,0266667	2,29	0,3043
RESIDUOS					
TOTAL (CORREGIDO)	1,35833	23			

Nivel de confianza = 95%

*= Indica una diferencia significativa

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B1.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Sólidos Solubles (°Brix) por Levadura

Método: 95,0 porcentaje LSD

Levadura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Fresca	12	7,69167	0,0311805	b
Liofilizada	12	7,89167	0,0311805	a

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B2. Análisis de Varianza para pH durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Relación fruta:agua	0,0888167	1	0,0888167	70,82	0,0138*
B:Enzimas	0,029025	2	0,0145125	11,57	0,0795
C:Levadura	0,00806667	1	0,00806667	6,43	0,1266
D:Réplica	0,0024	1	0,0024	1,91	0,3007
INTERACCIONES					
AB	0,0322583	2	0,0161292	12,86	0,0721
AC	0,000816667	1	0,000816667	0,65	0,5044
AD	0,0000166667	1	0,0000166667	0,01	0,9188
BC	0,0391083	2	0,0195542	15,59	0,0603
BD	0,001825	2	0,0009125	0,73	0,5788
CD	0,0000666667	1	0,0000666667	0,05	0,8391
ABC	0,00510833	2	0,00255417	2,04	0,3293
ABD	0,000758333	2	0,000379167	0,30	0,7679
ACD	0,00201667	1	0,00201667	1,61	0,3324
BCD	0,00000833333	2	0,00000416667	0,00	0,9967
RESIDUOS	0,00250833	2	0,00125417		
TOTAL (CORREGIDO)	0,2128	23			

Nivel de confianza = 95%

*= Indica una diferencia significativa

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B2.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para pH por Relación fruta:agua

Método: 95,0 porcentaje LSD

Relación fruta:agua	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1:4	12	2,87917	0,0102232	b
1:3	12	3,00083	0,0102232	a

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B3. Análisis de Varianza para Acidez (% ácido cítrico) durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Relación fruta:agua	0,00601667	1	0,00601667	12,89	0,0696
B:Enzimas	0,0036	2	0,0018	3,86	0,2059
C:Levadura	0,00281667	1	0,00281667	6,04	0,1333
D:Réplica	0,00135	1	0,00135	2,89	0,2311
INTERACCIONES					
AB	0,00253333	2	0,00126667	2,71	0,2692
AC	0,0000166667	1	0,0000166667	0,04	0,8675
AD	0,00015	1	0,00015	0,32	0,6279
BC	0,00213333	2	0,00106667	2,29	0,3043
BD	0	2	0	0,00	1,0000
CD	0,00015	1	0,00015	0,32	0,6279
ABC	0,000933333	2	0,000466667	1,00	0,5000
ABD	0,0004	2	0,0002	0,43	0,7000
ACD	0,000816667	1	0,000816667	1,75	0,3169
BCD	0,0004	2	0,0002	0,43	0,7000
RESIDUOS	0,000933333	2	0,000466667		
TOTAL (CORREGIDO)	0,02225	23			

Nivel de confianza = 95%

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B4. Análisis de Varianza para Tiempo de Fermentación (días) durante la etapa de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Relación fruta:agua	4,16667	1	4,16667	3,23	0,2143
B:Enzimas	9,25	2	4,625	3,58	0,2183
C:Levadura	0,166667	1	0,166667	0,13	0,7538
D:Réplica	1,5	1	1,5	1,16	0,3939
INTERACCIONES					
AB	9,08333	2	4,54167	3,52	0,2214
AC	0,666667	1	0,666667	0,52	0,5471
AD	2,66667	1	2,66667	2,06	0,2873
BC	15,0833	2	7,54167	5,84	0,1462
BD	6,25	2	3,125	2,42	0,2925
CD	2,66667	1	2,66667	2,06	0,2873
ABC	18,5833	2	9,29167	7,19	0,1220
ABD	0,0833333	2	0,0416667	0,03	0,9688
ACD	0,166667	1	0,166667	0,13	0,7538
BCD	5,08333	2	2,54167	1,97	0,3370
RESIDUOS	2,58333	2	1,29167		
TOTAL (CORREGIDO)	78,0	23			

Nivel de confianza = 95%

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

DURANTE LOS TRASIEGOS

Tabla B5. Análisis de Varianza para Sólidos Solubles (°Brix) durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Relación fruta:agua	0,220417	1	0,220417	176,33	0,0056*
B:Enzimas	0,335833	2	0,167917	134,33	0,0074*
C:Levadura	0,220417	1	0,220417	176,33	0,0056*
D:Réplica	0,000416667	1	0,000416667	0,33	0,6220
INTERACCIONES					
AB	0,0158333	2	0,00791667	6,33	0,1364
AC	0,000416667	1	0,000416667	0,33	0,6220
AD	0,0104167	1	0,0104167	8,33	0,1020
BC	0,0308333	2	0,0154167	12,33	0,0750
BD	0,180833	2	0,0904167	72,33	0,0136*
CD	0,0104167	1	0,0104167	8,33	0,1020
ABC	0,150833	2	0,0754167	60,33	0,0163*
ABD	0,0908333	2	0,0454167	36,33	0,0268*
ACD	0,00375	1	0,00375	3,00	0,2254
BCD	0,0258333	2	0,0129167	10,33	0,0882
RESIDUOS	0,0025	2	0,00125		
TOTAL (CORREGIDO)	1,29958	23			

Nivel de confianza = 95%

*= Indica una diferencia significativa

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B5.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Sólidos Solubles por Relación fruta:agua

Método: 95,0 porcentaje LSD

Relación fruta:agua	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1:3	12	7,65833	0,0102062	b
1:4	12	7,85	0,0102062	a

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B5.2. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Sólidos Solubles por Enzimas

Método: 95,0 porcentaje LSD

Enzimas	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Sin Enzima	8	7,5875	0,0125	b
Pectinex Ultra SPL	8	7,825	0,0125	a
Ultrazym AFPL	8	7,85	0,0125	a

a₀: (Fruta:agua) 1:3 b₀: Sin enzimas c₀: Levadura fresca R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4 b₁: Ultrazym AFPL c₁: Levadura liofilizada R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B5.3. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Sólidos Solubles por Levadura

Método: 95,0 porcentaje LSD

Levadura	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Fresca	12	7,65833	0,0102062	b
Liofilizada	12	7,85	0,0102062	a

a₀: (Fruta:agua) 1:3 b₀: Sin enzimas c₀: Levadura fresca R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4 b₁: Ultrazym AFPL c₁: Levadura liofilizada R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B6. Análisis de Varianza para pH durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Relación fruta:agua	0,0560667	1	0,0560667	108,52	0,0091*
B:Enzimas	0,0279	2	0,01395	27,00	0,0357*
C:Levadura	0,0000666667	1	0,0000666667	0,13	0,7538
D:Réplica	0,0006	1	0,0006	1,16	0,3939
INTERACCIONES					
AB	0,0204333	2	0,0102167	19,77	0,0481*
AC	0,0024	1	0,0024	4,65	0,1639
AD	0,000266667	1	0,000266667	0,52	0,5471
BC	0,00663333	2	0,00331667	6,42	0,1348
BD	0,0013	2	0,00065	1,26	0,4429
CD	0,000266667	1	0,000266667	0,52	0,5471
ABC	0,0019	2	0,00095	1,84	0,3523
ABD	0,000633333	2	0,000316667	0,61	0,6200
ACD	0,0000666667	1	0,0000666667	0,13	0,7538
BCD	0,000233333	2	0,000116667	0,23	0,8158
RESIDUOS					
TOTAL (CORREGIDO)	0,1198	23			

Nivel de confianza = 95%

*= Indica una diferencia significativa

a₀: (Fruta:agua) 1:3 b₀: Sin enzimas c₀: Levadura fresca R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4 b₁: Ultrazym AFPL c₁: Levadura liofilizada R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

CONTENIDO DE ANTOCIANINAS

Tabla B8. Análisis de Varianza para contenido de los antocianos monoméricos totales (AMT) (mg/lit) al iniciar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Relación fruta:agua	11,6176	1	11,6176	33,33	0,0287*
B:Enzimas	113,638	2	56,8192	162,99	0,0061*
C:Levadura	2,90371	1	2,90371	8,33	0,1020
D:Réplica	0,116204	1	0,116204	0,33	0,6220
INTERACCIONES					
AB	29,5103	2	14,7551	42,33	0,0231*
AC	4,18168	1	4,18168	12,00	0,0742
AD	0,464817	1	0,464817	1,33	0,3675
BC	45,5442	2	22,7721	65,32	0,0151*
BD	0,929633	2	0,464817	1,33	0,4286
CD	2,9051	1	2,9051	8,33	0,1020
ABC	13,2431	2	6,62155	18,99	0,0500
ABD	0,232408	2	0,116204	0,33	0,7500
ACD	0	1	0	0,00	1,0000
BCD	7,20466	2	3,60233	10,33	0,0882
RESIDUOS	0,697225	2	0,348613		
TOTAL (CORREGIDO)	233,189	23			

Nivel de confianza = 95%

*= Indica una diferencia significativa

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B8.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Antocianos monoméricos totales por Relación fruta:agua

Método: 95,0 porcentaje LSD

Relación fruta:agua	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
1:4	12	17,4644	0,170444	b
1:3	12	18,8559	0,170444	a

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B8.2. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Antocianos monoméricos totales por Enzimas

Método: 95,0 porcentaje LSD

Enzimas	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Sin enzima	8	15,2377	0,20875	c
Ultrazym AFPL	8	18,7865	0,20875	b
Pectinex Ultra SPL	8	20,4562	0,20875	a

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B9. Análisis de Varianza para pérdida de antocianos monoméricos totales (%) al finalizar la etapa de maduración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Relación fruta:agua	586,487	1	586,487	40,09	0,0240*
B:Enzimas	407,38	2	203,69	13,92	0,0670
C:Levadura	34,0459	1	34,0459	2,33	0,2666
D:Réplica	36,0959	1	36,0959	2,47	0,2568
INTERACCIONES					
AB	28,7649	2	14,3824	0,98	0,5042
AC	5,06277	1	5,06277	0,35	0,6159
AD	10,8367	1	10,8367	0,74	0,4801
BC	100,675	2	50,3375	3,44	0,2252
BD	8,72439	2	4,36219	0,30	0,7703
CD	6,85336	1	6,85336	0,47	0,5644
ABC	15,0039	2	7,50196	0,51	0,6610
ABD	37,5418	2	18,7709	1,28	0,4380
ACD	0,348727	1	0,348727	0,02	0,8915
BCD	97,7447	2	48,8724	3,34	0,2304
RESIDUOS	29,2572	2	14,6286		
TOTAL (CORREGIDO)	1404,82	23			

Nivel de confianza = 95%

*= Indica una diferencia significativa

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B9.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Pérdida de antocianos monoméricos totales (%) por Relación fruta:agua

Método: 95,0 porcentaje LSD

<i>Relación fruta:agua</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1:3	12	45,7015	1,10411	b
1:4	12	55,5883	1,10411	a

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

ANÁLISIS SENSORIAL

Tabla B10. Análisis de Varianza para el atributo Color de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamientos	58,1154	12	4,84295	8,71	0,0000*
B:BLOQUES	51,4904	12	4,29087	7,72	0,0000*
C:Réplicas	0,514423	3	0,171474	0,31	0,8192
RESIDUOS	100,058	180	0,555876		
TOTAL (CORREGIDO)	225,918	207			

Nivel de confianza = 95%

*= Indica una diferencia significativa

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B10.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Color por Tratamientos

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tratamientos	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
8	16	4,24519	0,205288	e
2	16	4,39904	0,205288	e
4	16	4,55288	0,205288	ed
11	16	4,6875	0,205288	ed
10	16	4,74519	0,205288	ed
7	16	4,82212	0,205288	ed
12	16	5,03365	0,205288	dc
3	16	5,07212	0,205288	dc
1	16	5,11058	0,205288	dc
9	16	5,4375	0,205288	cb
6	16	5,51442	0,205288	cba
5	16	5,99519	0,205288	ba
13	16	6,32212	0,205288	a

T1: a₀b₀c₀

T7: a₁b₀c₀

T13: Vino comercial (testigo)

T2: a₀b₀c₁

T8: a₁b₀c₁

T3: a₀b₁c₀

T9: a₁b₁c₀

T4: a₀b₁c₁

T10: a₁b₁c₁

T5: a₀b₂c₀

T11: a₁b₂c₀

T6: a₀b₂c₁

T12: a₁b₂c₁

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B11. Análisis de Varianza para el atributo Aroma de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamientos	40,7788	12	3,39824	5,44	0,0000*
B:BLOQUES	52,7788	12	4,39824	7,04	0,0000*
C:Réplicas	4,09135	3	1,36378	2,18	0,0916
RESIDUOS	112,442	180	0,624679		
TOTAL (CORREGIDO)	212,264	207			

Nivel de confianza = 95%

*= Indica una diferencia significativa

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B11.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Aroma por Tratamientos

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tratamientos	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
8	16	3,75481	0,217622	e
2	16	4,25481	0,217622	ed
7	16	4,27404	0,217622	ed
1	16	4,38942	0,217622	d
6	16	4,40865	0,217622	d
13	16	4,44712	0,217622	d
5	16	4,73558	0,217622	dc
3	16	4,77404	0,217622	dcb
11	16	5,08173	0,217622	cba
10	16	5,15865	0,217622	cba
12	16	5,25481	0,217622	cba
4	16	5,37019	0,217622	ba
9	16	5,40865	0,217622	a

T1: a₀b₀c₀

T7: a₁b₀c₀

T13: Vino comercial (testigo)

T2: a₀b₀c₁

T8: a₁b₀c₁

T3: a₀b₁c₀

T9: a₁b₁c₀

T4: a₀b₁c₁

T10: a₁b₁c₁

T5: a₀b₂c₀

T11: a₁b₂c₀

T6: a₀b₂c₁

T12: a₁b₂c₁

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B12. Análisis de Varianza para el atributo Acidez de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamientos	142,827	12	11,9022	16,94	0,0000*
B:BLOQUES	40,9519	12	3,41266	4,86	0,0000*
C:Réplicas	0,961538	3	0,320513	0,46	0,7132
RESIDUOS	126,462	180	0,702564		
TOTAL (CORREGIDO)	314,692	207			

Nivel de confianza = 95%

*= Indica una diferencia significativa

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B12.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Acidez por Tratamientos

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tratamientos	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
13	16	2,84615	0,23079	h
7	16	3,71154	0,23079	g
6	16	3,92308	0,23079	gf
2	16	4,23077	0,23079	gfe
3	16	4,30769	0,23079	gfed
1	16	4,55769	0,23079	fedc
5	16	4,63462	0,23079	edc
8	16	4,94231	0,23079	dc
10	16	4,96154	0,23079	c
4	16	5,13462	0,23079	cb
12	16	5,65385	0,23079	ba
11	16	6,11538	0,23079	a
9	16	6,23077	0,23079	a

T1: a₀b₀c₀

T7: a₁b₀c₀

T13: Vino commercial (testigo)

T2: a₀b₀c₁

T8: a₁b₀c₁

T3: a₀b₁c₀

T9: a₁b₁c₀

T4: a₀b₁c₁

T10: a₁b₁c₁

T5: a₀b₂c₀

T11: a₁b₂c₀

T6: a₀b₂c₁

T12: a₁b₂c₁

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B13. Análisis de Varianza para el atributo Astringencia de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamientos	112,26	12	9,35497	11,22	0,0000*
B:BLOQUES	44,2596	12	3,6883	4,42	0,0000*
C:Réplicas	3,28846	3	1,09615	1,31	0,2711
RESIDUOS	150,077	180	0,833761		
TOTAL (CORREGIDO)	316,75	207			

Nivel de confianza = 95%

*= Indica una diferencia significativa

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B13.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Astringencia por Tratamientos

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tratamientos	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
7	16	3,49038	0,251417	g
13	16	3,85577	0,251417	gf
2	16	4,125	0,251417	gfe
6	16	4,375	0,251417	fed
3	16	4,43269	0,251417	fed
1	16	4,50962	0,251417	fed
8	16	4,74038	0,251417	ed
5	16	4,875	0,251417	dc
4	16	5,49038	0,251417	cb
10	16	5,66346	0,251417	ba
12	16	5,75962	0,251417	ba
11	16	5,83654	0,251417	ba
9	16	6,22115	0,251417	a

T1: a₀b₀c₀

T7: a₁b₀c₀

T13: Vino comercial (testigo)

T2: a₀b₀c₁

T8: a₁b₀c₁

T3: a₀b₁c₀

T9: a₁b₁c₀

T4: a₀b₁c₁

T10: a₁b₁c₁

T5: a₀b₂c₀

T11: a₁b₂c₀

T6: a₀b₂c₁

T12: a₁b₂c₁

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B14. Análisis de Varianza para el atributo Apreciación Global de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tratamientos	59,0865	12	4,92388	7,55	0,0000*
B:BLOQUES	47,9615	12	3,99679	6,13	0,0000*
C:Réplicas	4,86058	3	1,62019	2,48	0,0622
RESIDUOS	117,365	180	0,65203		
TOTAL (CORREGIDO)	232,995	207			

Nivel de confianza = 95%

*= Indica una diferencia significativa

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B14.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Apreciación Global por Tratamientos

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tratamientos	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
13	16	3,87981	0,222335	g
6	16	4,07212	0,222335	gf
7	16	4,53365	0,222335	fe
5	16	4,78365	0,222335	ed
8	16	4,82212	0,222335	edc
3	16	4,87981	0,222335	edc
2	16	4,9375	0,222335	edcb
1	16	5,09135	0,222335	edcb
10	16	5,30288	0,222335	dcb
12	16	5,4375	0,222335	cb
11	16	5,53365	0,222335	ba
4	16	5,55288	0,222335	ba
9	16	6,11058	0,222335	a

T1: a₀b₀c₀

T7: a₁b₀c₀

T13: Vino commercial (testigo)

T2: a₀b₀c₁

T8: a₁b₀c₁

T3: a₀b₁c₀

T9: a₁b₁c₀

T4: a₀b₁c₁

T10: a₁b₁c₁

T5: a₀b₂c₀

T11: a₁b₂c₀

T6: a₀b₂c₁

T12: a₁b₂c₁

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

RENDIMIENTO

Tabla B15. Análisis de Varianza para Rendimiento (%) de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Relación fruta:agua	1205,73	1	1205,73	705,84	0,0014*
B:Enzimas	112,951	2	56,4757	33,06	0,0294*
C:Levadura	21,9077	1	21,9077	12,82	0,0699
D:Réplica	4,242	1	4,242	2,48	0,2558
INTERACCIONES					
AB	13,0133	2	6,50663	3,81	0,2079
AC	0,0187042	1	0,0187042	0,01	0,9262
AD	2,51554	1	2,51554	1,47	0,3488
BC	18,8871	2	9,44355	5,53	0,1532
BD	14,3429	2	7,17143	4,20	0,1924
CD	1,83154	1	1,83154	1,07	0,4092
ABC	0,648108	2	0,324054	0,19	0,8405
ABD	22,8264	2	11,4132	6,68	0,1302
ACD	14,0301	1	14,0301	8,21	0,1032
BCD	10,7857	2	5,39284	3,16	0,2406
RESIDUOS	3,41641	2	1,7082		
TOTAL (CORREGIDO)	1447,14	23			

Nivel de confianza = 95%

*= Indica una diferencia significativa

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B15.1. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Rendimiento por Relación fruta:agua

Método: 95,0 porcentaje LSD

<i>Relación fruta:agua</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
1:3	12	51,7092	0,377293	b
1:4	12	65,885	0,377293	a

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Tabla B15.2. Pruebas de diferencia mínima significativa (LSD) para Rendimiento por Enzimas

Método: 95,0 porcentaje LSD

<i>Enzimas</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Sin enzima	8	55,9025	0,462088	b
Ultrazym AFPL	8	59,3638	0,462088	a
Pectinex Ultra SPL	8	61,125	0,462088	a

a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

R₁: Réplica 1

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

R₂: Réplica 2

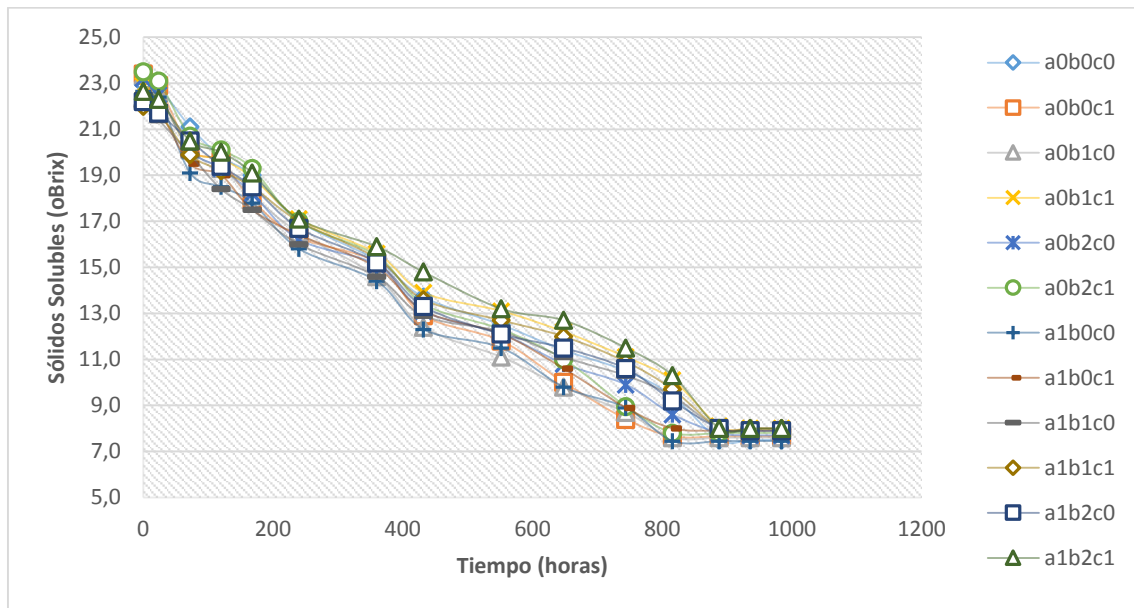
b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

ANEXO C

GRÁFICOS

Gráfico C1. Sólidos Solubles (°Brix) durante el proceso de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)



a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

a₁: (Fruta:agua) 1:4

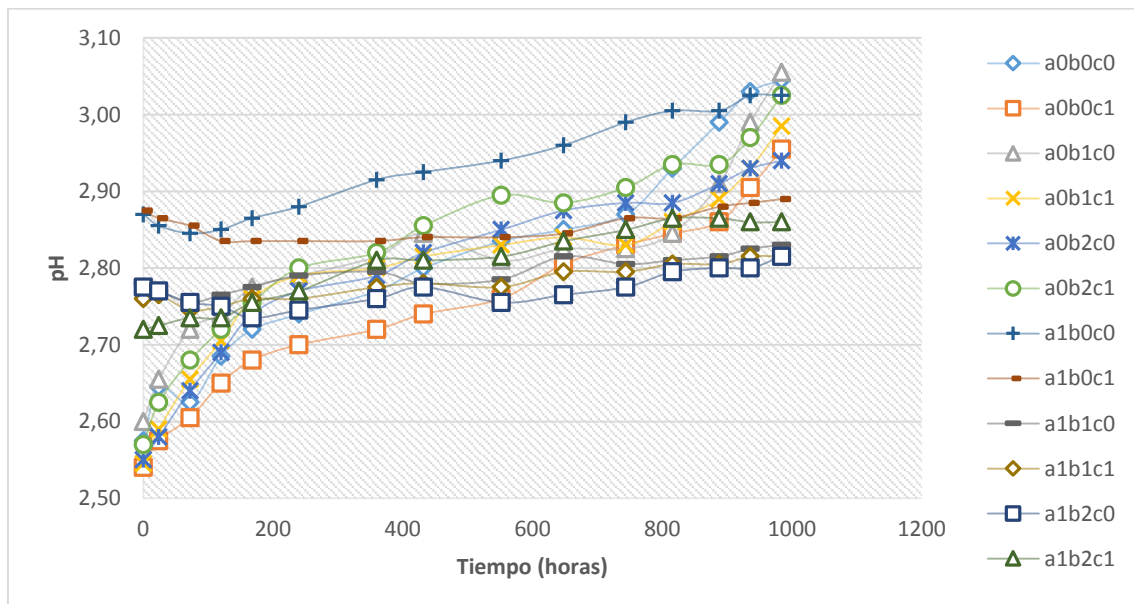
b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Gráfico C2. pH durante el proceso de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)



a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

a₁: (Fruta:agua) 1:4

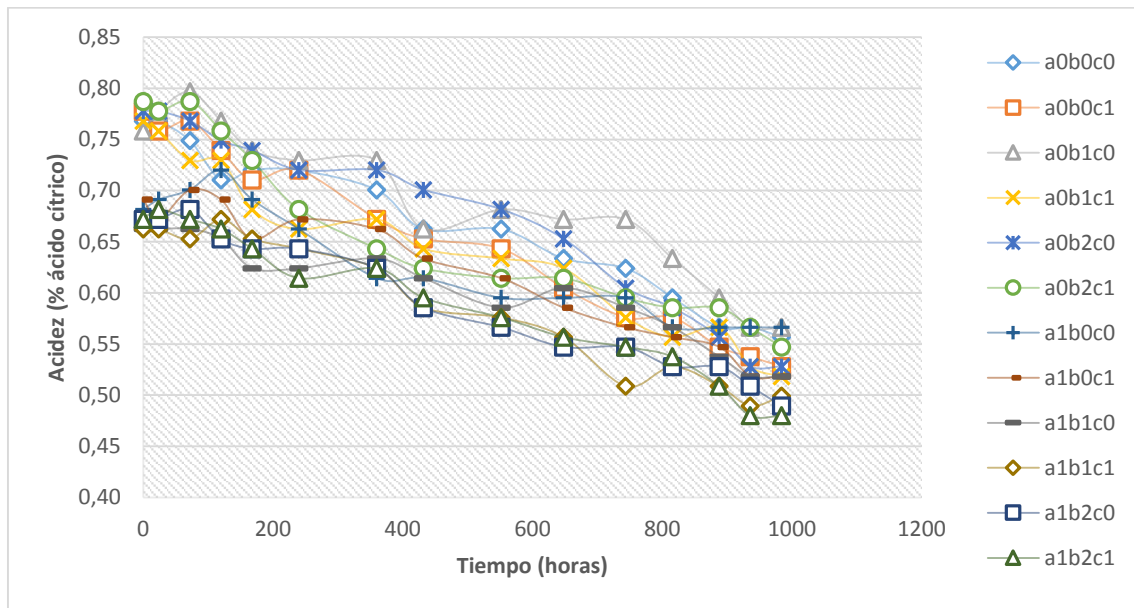
b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Gráfico C3. Acidez (% ácido cítrico) durante el proceso de fermentación de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)



a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

a₁: (Fruta:agua) 1:4

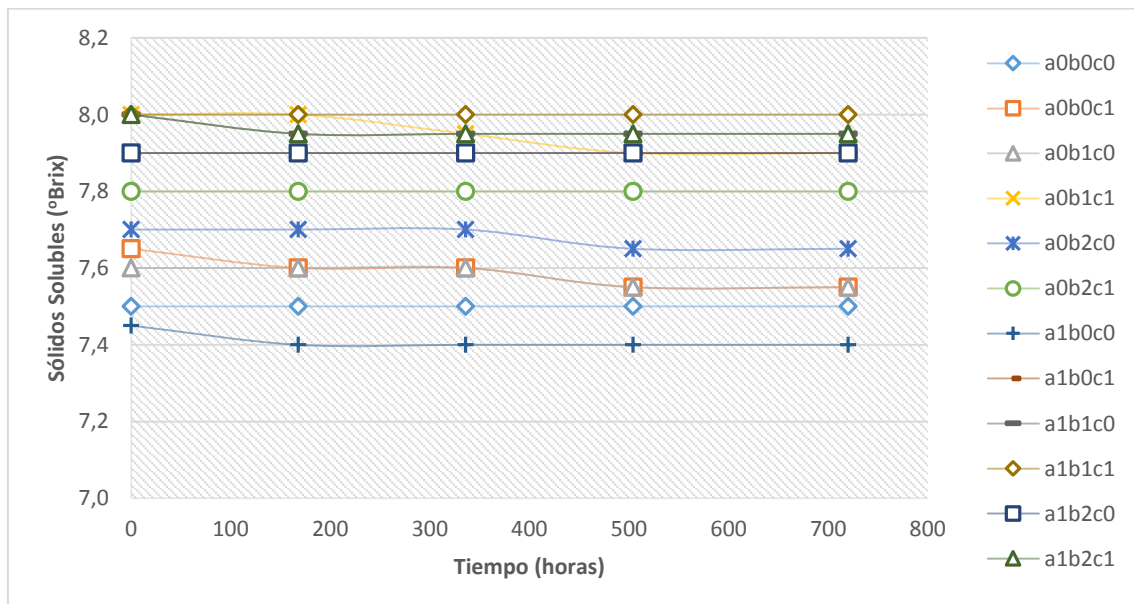
b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Gráfico C4. Sólidos Solubles (°Brix) durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)



a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

a₁: (Fruta:agua) 1:4

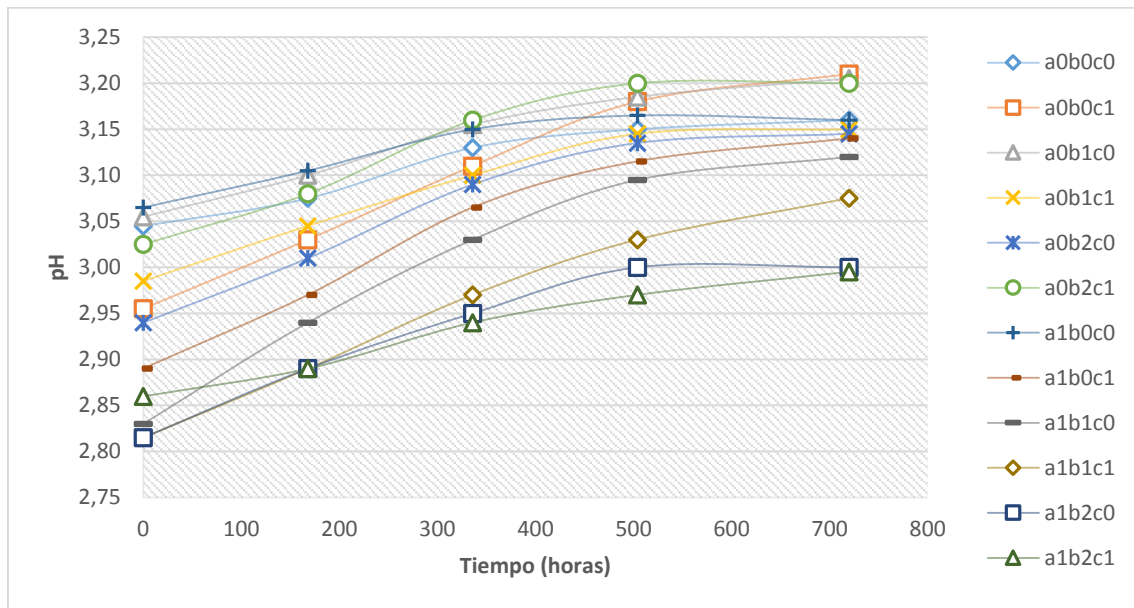
b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Gráfico C5. pH durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)



a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

a₁: (Fruta:agua) 1:4

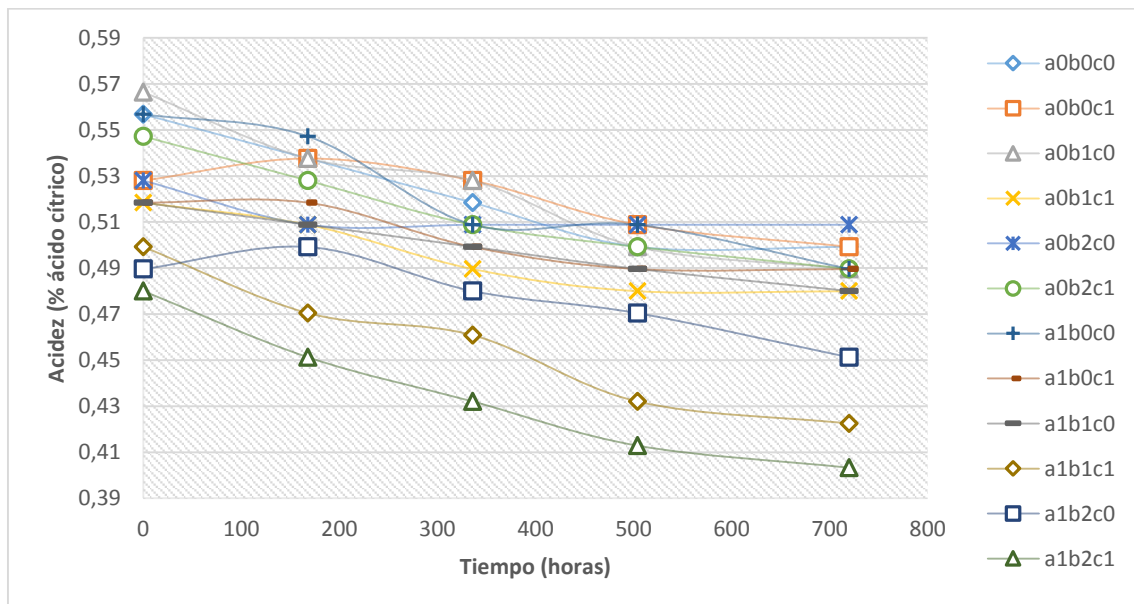
b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Gráfico C6. Acidez (% ácido cítrico) durante los trasiegos de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)



a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

a₁: (Fruta:agua) 1:4

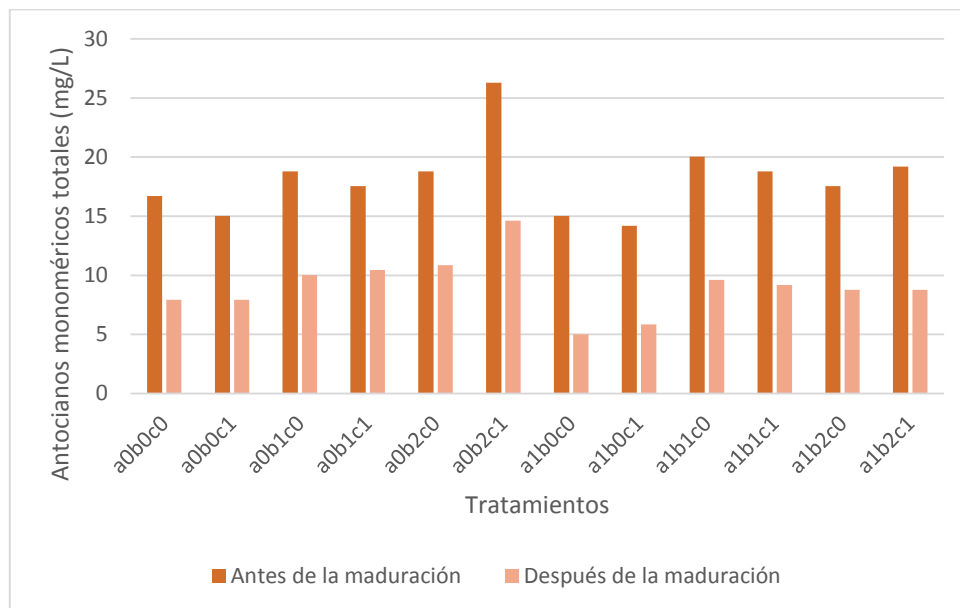
b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Gráfico C7. Comparación de los antocianos monoméricos totales (AMT) (mg/l) de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) al inicio y al final de la maduración.



a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

a₁: (Fruta:agua) 1:4

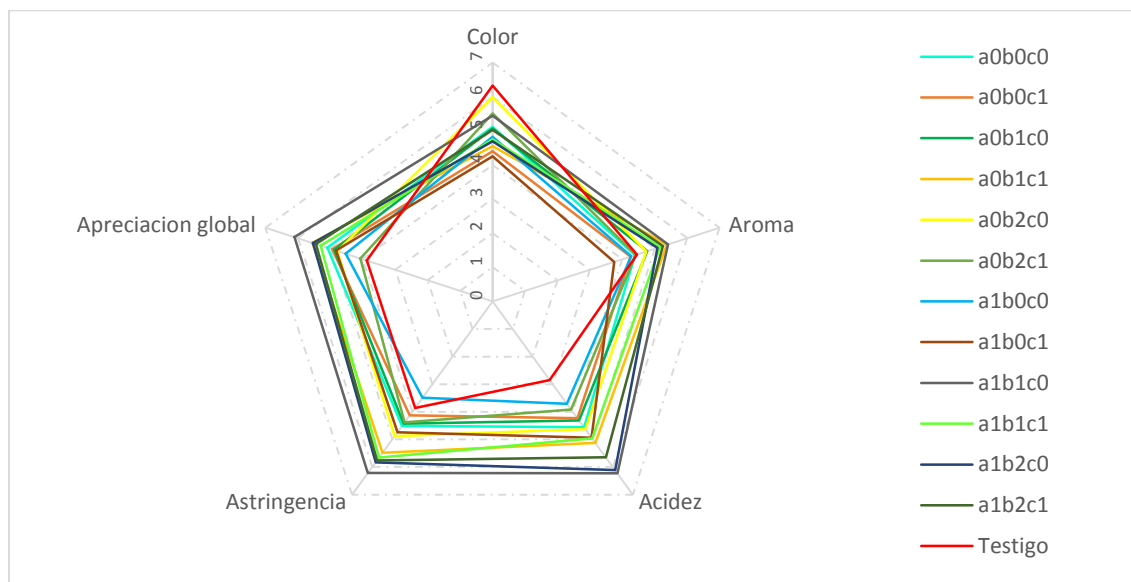
b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

b₂: Pectinex Ultra SP-L

Elaborado por: José Jácome, 2014.

Gráfico C8. Perfil sensorial de los tratamientos de la bebida tipo vino de mortiño para los atributos evaluados en el análisis sensorial



a₀: (Fruta:agua) 1:3

b₀: Sin enzimas

c₀: Levadura fresca

a₁: (Fruta:agua) 1:4

b₁: Ultrazym AFPL

c₁: Levadura liofilizada

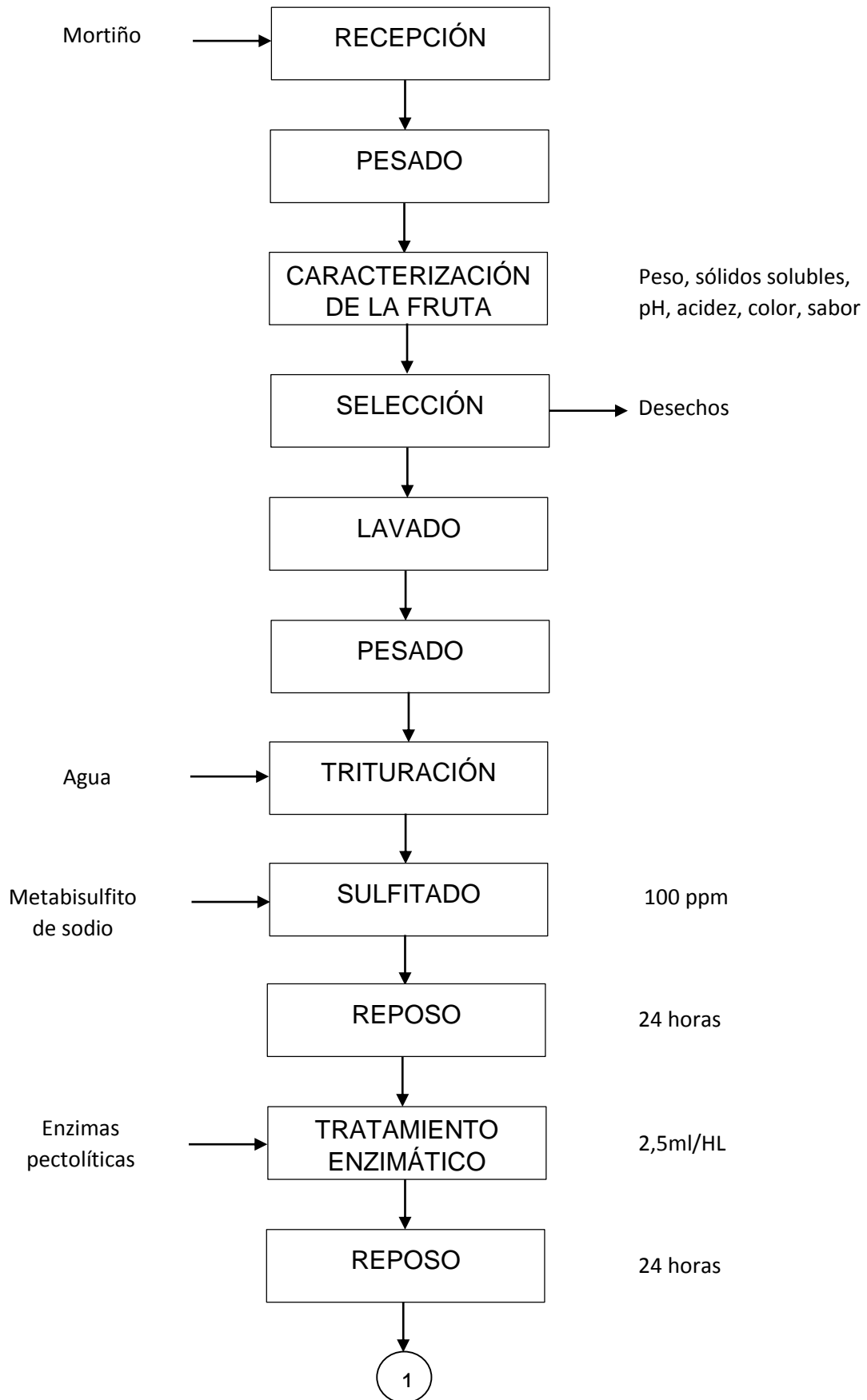
b₂: Pectinex Ultra SP-L

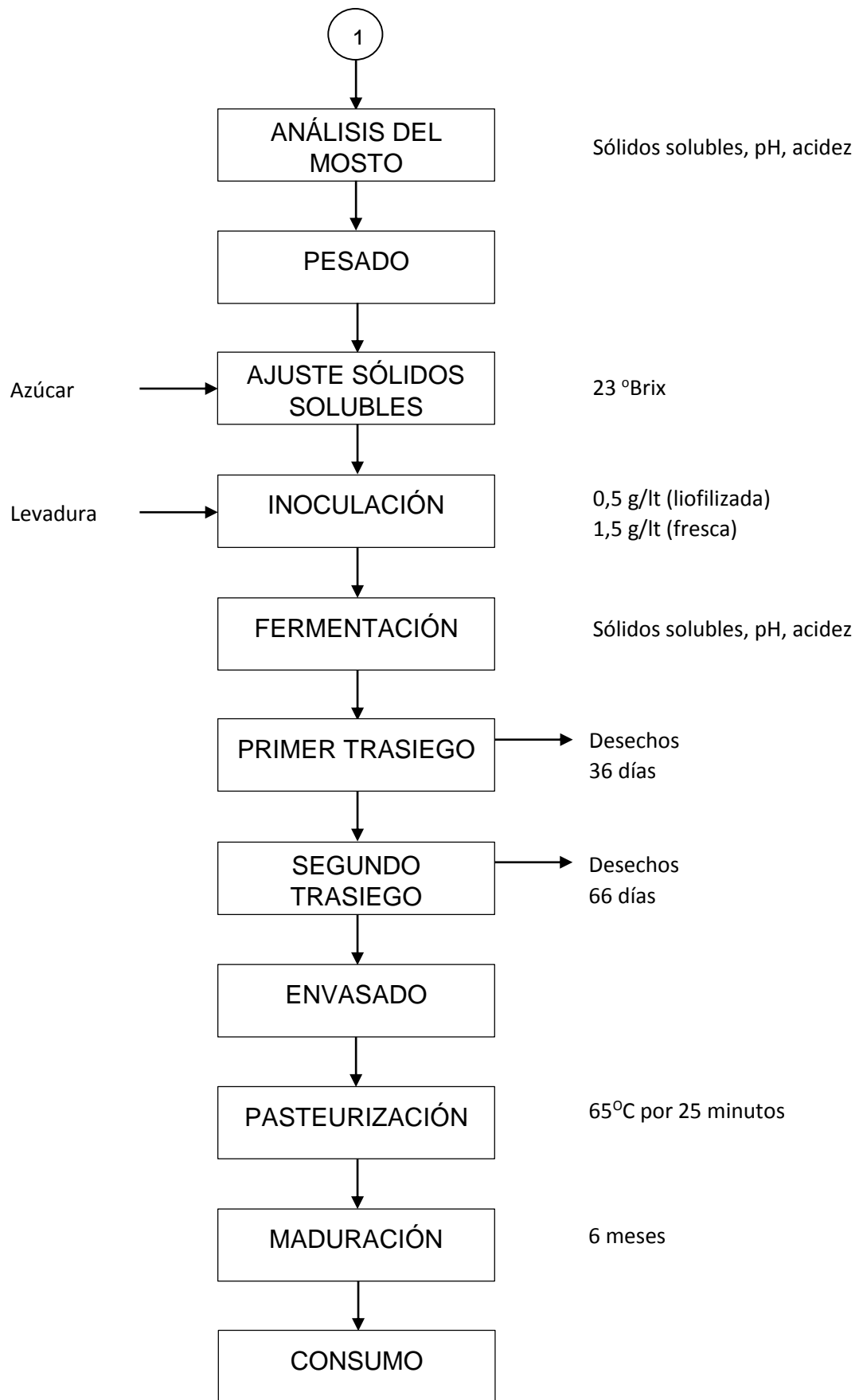
Elaborado por: José Jácome, 2014.

ANEXO D

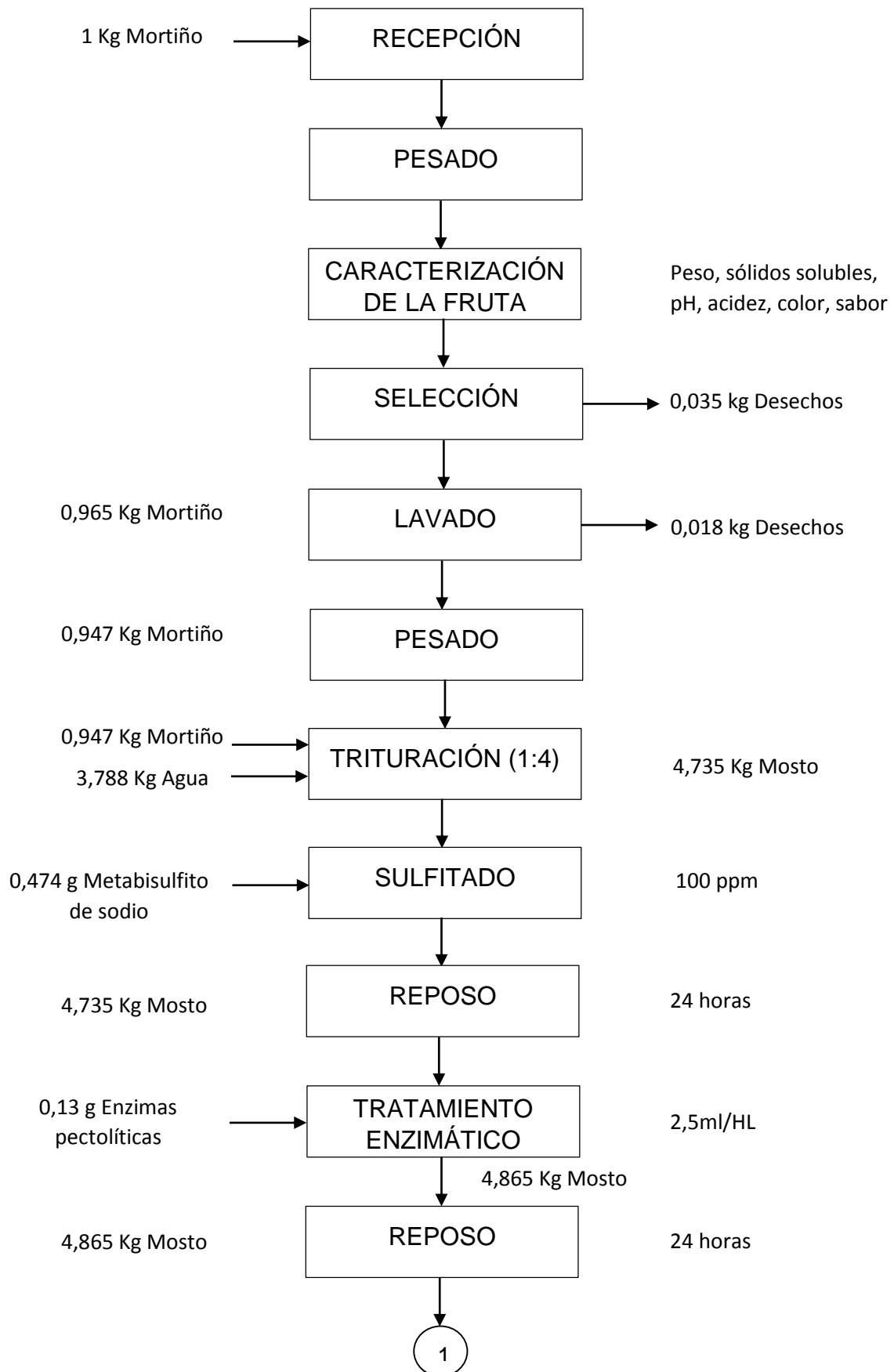
DIAGRAMAS DE FLUJO

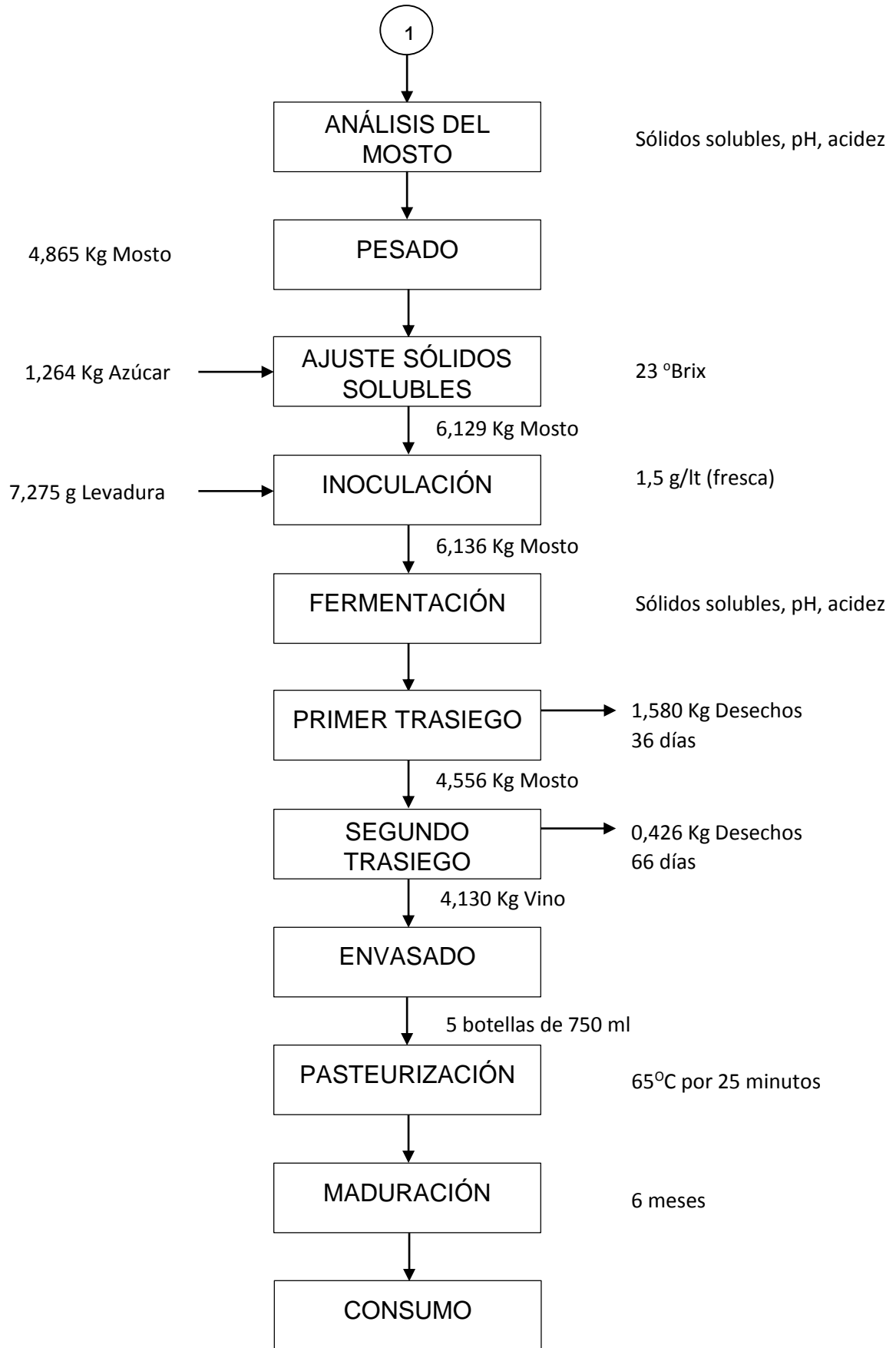
Anexo D1. Diagrama de flujo para la elaboración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth)



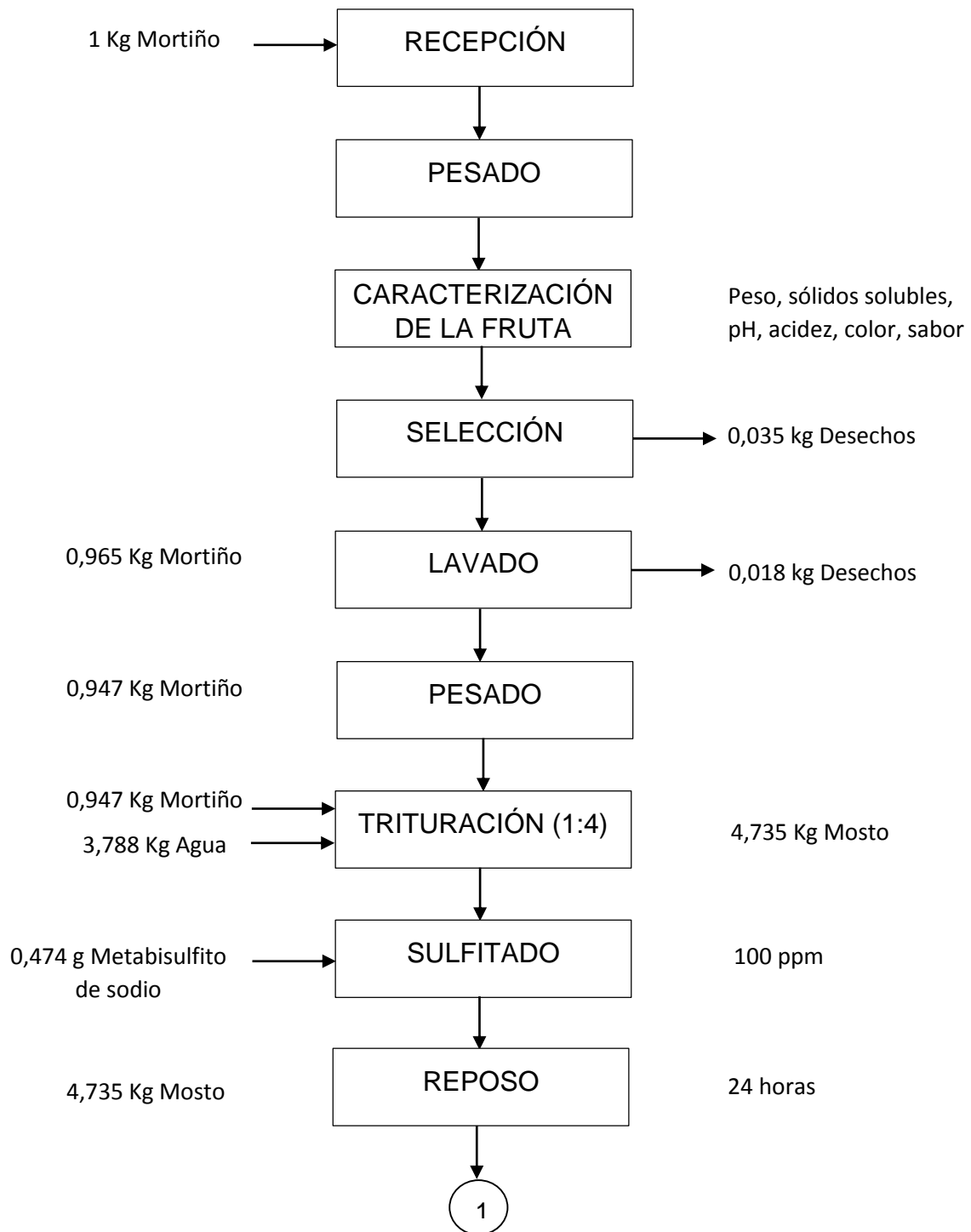


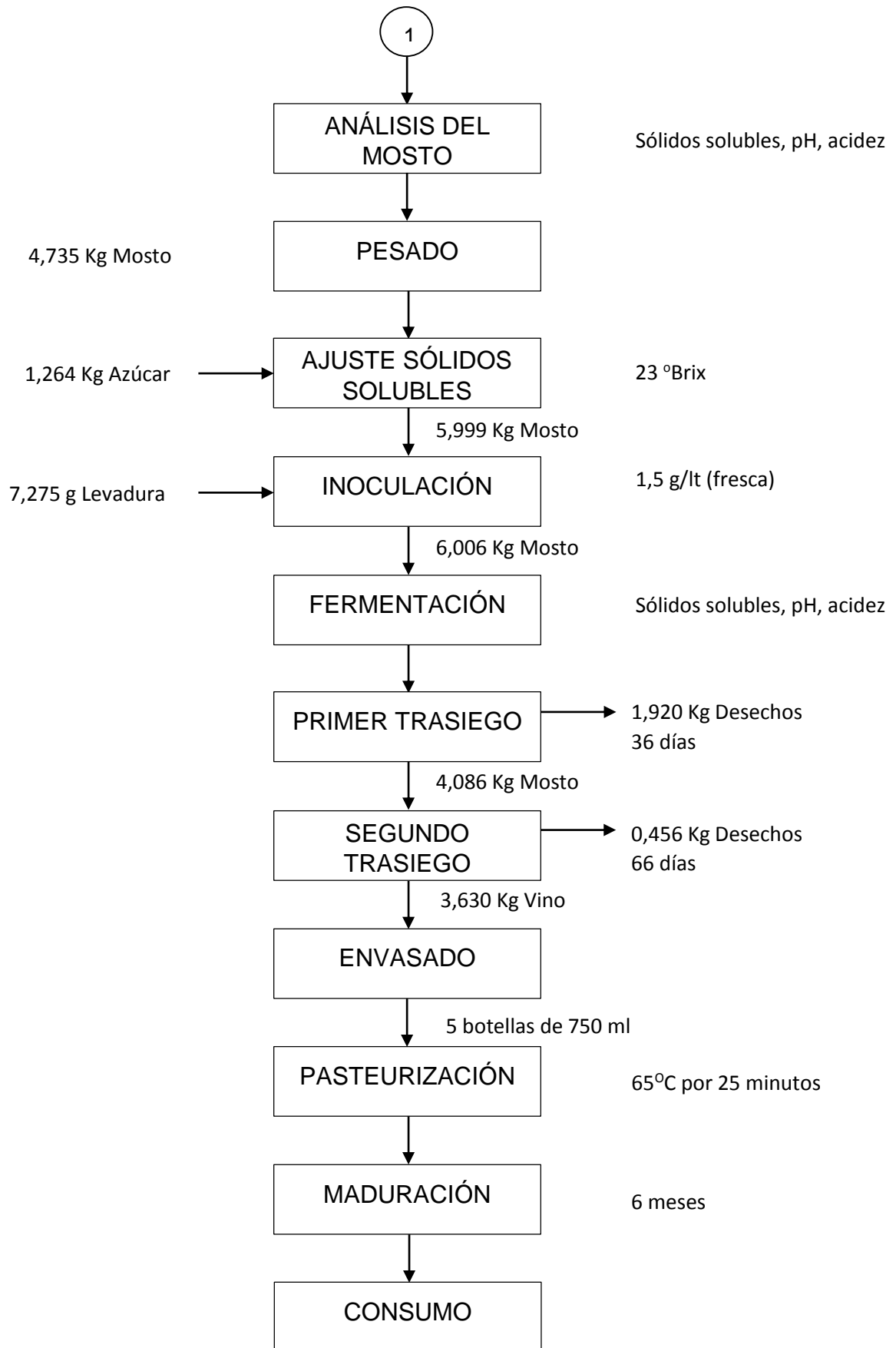
Anexo D2. Balance de materiales en la elaboración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) con relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca





Anexo D3. Balance de materiales en la elaboración de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) con relación 1:4 (fruta:agua), sin enzima y levadura fresca





ANEXO E

ANÁLISIS DE COSTOS

Costos de producción de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) con relación 1:4 (fruta:agua), enzima Ultrazym AFPL y levadura fresca.

Tabla E1. Materiales directos e indirectos

Materiales	Unidad	Cantidad	Valor Unitario (\$/U)	Valor Total (\$)
Mortiño	Kg	1	3,3	3,30
Metabisulfito de sodio	Kg	4,74E-04	1,8	0,001
Enzima	Kg	1,30E-04	498,42	0,06
Azúcar	Kg	1,264	1,5	1,90
Levadura	Kg	7,28E-03	2,4	0,02
Envases	u	5	0,8	4,00
			Total	9,28

Tabla E2. Equipos y utensilios

Equipo	Costo (\$)	Horas Utilizadas	Vida útil (años)	Costo Anual (\$)	Costo Día (\$)	Costo Hora (\$)	Total (\$)
Balanza electrónica	450	2	10	45	0,19	0,02	0,05
Balanza mecánica	150	1	10	15	0,06	0,01	0,01
Licadora industrial	350	1	10	35	0,15	0,02	0,02
Brixómetro	200	1	5	40	0,17	0,02	0,02
pH-metro	220	1	5	44	0,18	0,02	0,02
Recipientes para fermentación y mangueras	50	1074	5	10	0,04	0,01	5,59
Utensilios varios	40	4	5	8	0,03	0,00	0,02
						Total	5,73

Tabla E3. Suministros

Servicio	Unidad	Consumo	Valor Unitario (\$/U)	Valor Total (\$)
Agua	m ³	4	0,35	1,4
Electricidad	kWh	4	0,09	0,36
Gas	Kg	2	0,11	0,22
			Total	1,98

Tabla E4. Personal

Persona	Sueldo (\$)	Costo Día (\$)	Costo Hora (\$)	Horas Utilizadas	Total (\$)
1	340	17	2,125	8	17

Tabla E5. Costos de producción

Costo Total (\$)	33,99
Costo Unitario (\$)	6,80
Precio de Venta (Botella 750ml) (\$)	8,84
Utilidad por botella (\$)	2,04
Utilidad Total (\$)	10,20

ANEXO F

MÉTODOS EMPLEADOS PARA EL ANÁLISIS

ANEXO F-1

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ANTOCIANOS MONOMÉRICOS TOTALES

Fundamento:

El método Guisti y Wrolstad (2005) se basa en la modificación del color de los antocianos en función del pH. A pH 1 los antocianos libres se encuentran en sus formas coloreadas mientras que a pH 4,5 pasan a sus formas no coloreadas.

Materiales y equipos:

- Espectrofotómetro para medida en espectro visible
- Cubetas de 1 cm de paso
- S1. Solución tampón de cloruro de potasio 0,025 M, a pH 1,0.
 - Preparación: se mezcla 1,86 grans de ClK con 980 ml de agua destilada. Se mide su pH y ajustarlo a 1,0 con HCl concentrado. Se transfiere el líquido a un Erlenmeyer de 1 litro y ajustar el volumen con agua destilada.
- S2. Solución de acetato de sodio 0,4 M, a pH 4,5.
 - Preparación: se mezcla 54,43 gramos de acetato de sodio – 3 hidrato (o 32,82 gramos de acetato de sodio anhidro) con 960 ml de agua destilada. Se mide su pH y ajustarlo a 4,5 con HCl concentrado. Se transfiere el líquido a un Erlenmeyer de 1 litro y ajustar el volumen con agua destilada.

Las soluciones son estables a temperatura ambiente durante varios meses, aunque se debe comprobar y ajustar su pH antes de usarlas.

Procedimiento:

- El factor de dilución empleado para este método es de 1:50
- Se determina el facto de dilución (con la solución S1) apropiado para la muestra de forma que la absorbancia (en cubeta de 1cm) a la longitud de onda de máxima absorbancia (considerar siempre 520 nm) esté dentro del rango lineal del espectrofotómetro.

Nota importante: para no sobrepasar la capacidad tampón de la solución S1, la muestra no debe representar más del 20% del volumen total una vez hecha la dilución.

- Se prepara dos diluciones de la muestra: una con solución S1 (pH 1) y otra con la solución S2 (pH 4,5) empleando en ambos casos el factor de dilución anteriormente determinado. Dejar equilibrar 15 minutos.
- Se mide la absorbancia de cada dilución a la siguiente longitud de onda: 520nm (longitud de onda de máxima absorbancia)

Notas: las medidas deben realizarse entre 15 minutos y 1 hora tras la preparación de las diluciones. Tiempos superiores tienden a incrementar las lecturas. El blanco a cada longitud de onda se realiza con agua destilada.

Cálculos:

Calcular A (diferencia de absorbancias de la muestra diluida)

$$A = (A_{520})_{\text{pH1}} - (A_{520})_{\text{pH4,5}}$$

Calcular la concentración en antocianos monoméricos totales de la muestra con la siguiente fórmula:

$$\text{Antocianos monoméricos totales (mg/l)} = (A \times \text{FD} \times \text{PM} \times 1000) / (\epsilon \times 1)$$

Donde:

FD es el factor de dilución (por ejemplo si tomamos 0,2 ml de muestra y la diluimos hasta 3 ml, FD = 15), y PM y ϵ son respectivamente el peso molecular y el coeficiente de absorbancia molar del antociano de referencia utilizado para expresar los resultados.

En el caso del mortiño, los resultados se deben expresar como miligramo de 3-monoglucósido de cianidina por litro. Los valores a utilizar son entonces: PM = 449,2 y $E=26900$

Referencia:

- Hidalgo, José. 2002. Tratado de enología.
- Giusti, M.; Wrolstad, R. 2001. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy.

ANEXO F-2

DETERMINACIÓN DEL GRADO ALCOHÓLICO *

Fundamento:

Grado alcohólico es el volumen de alcohol etílico, expresado en centímetro cúbicos, contenido en 100 cm³ de vino, a 20°C.

Materiales y equipos:

- Aparato de destilación compuesto por:
 - o Matraz de destilación de 1000 cm³ de capacidad con fondo redondo;
 - o disco de amianto, con un orificio de 8 cm de diámetro para apoyar el balón;
 - o columna de rectificación de 20 cm de longitud que se ajusta a la boca del balón;
 - o refrigerante de Liebig, de longitud igual o mayor a 400 mm;
 - o tubo de vidrio apropiado para conducir el destilado al fondo del matraz volumétrico;
 - o baño de agua con hielo, en el cual debe sumergirse el matraz volumétrico;
 - o tubo de vidrio delgado, de aproximadamente 6 mm de diámetro interno y de dimensiones: 100 mm x 300 mm y 100 mm; y
 - o fuente eléctrica de calentamiento con regulador de temperatura.
- Matraz volumétrico de 200 cm³
- Picnómetro de 50 cm³ de vidrio Pyrex
- Núcleos de ebullición
- Baño de agua, con regulador de temperatura
- Termómetro graduado en décimas de grado Celsius (°C) con escala adecuada para el ensayo (de 10°C a 30°C)
- Balanza analítica, sensible a 0,1mg.

Reactivos:

- Suspensión de hidróxido de calcio, que contenga 130 g de óxido de calcio por litro
- Solución al 1% de fenoftaleína en alcohol de 95%
- Solución al 10% de ácido sulfúrico
- Solución al 1% de silicona
- Agua destilada
- 5.6 Solución sulfocrómica
- 5.7 Etanol
- 5.8 Eter etílico

Preparación de la muestra:

- Si se trata de un producto que contiene anhídrido carbónico, debe eliminarse dicho gas agitando 250 cm³ de muestra en un matraz Erlenmeyer de 500 cm³, previamente siliconado interiormente con tres gotas de solución al 1% de silicona y secado.

Procedimiento:

1. La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra
2. Determinar y anotar la temperatura a la que se encuentra la muestra que debe realizarse.
3. Transferir 200 cm³ de muestra al matraz de destilación y colocar núcleos de ebullición.
4. Agregar la suspensión de hidróxido de calcio para alcalinizar el medio, lo que puede comprobarse mediante el uso de la solución de fenoftaleína.
5. Destilar la muestra, recibiendo el destilado en matraz volumétrico de 200 cm³ al que se ha agregado previamente 10 cm³ de agua destilada, en la que debe estar sumergido el extremo del tubo conductor del destilado; recoger hasta obtener un volumen aproximadamente igual a tres cuartas partes del volumen inicial de muestra.
6. Desechar el líquido remanente del matraz de destilación y lavarlo; transferir a este matraz el destilado obtenido; lavar el matraz volumétrico

- colector con cinco porciones de agua destilada, transfiriendo los líquidos de lavado al matraz de destilación.
7. Añadir 1 cm³ a la solución al 10% de ácido sulfúrico y colocar núcleos de ebullición; armar el aparato.
 8. Destilar nuevamente, recibiendo el destilado en el matraz volumétrico de 200 cm³ al que se ha agregado previamente 10 cm³ de agua destilada, en la que debe estar sumergido el extremo del tubo conductor del destilado.
 9. Agitar y llevar a volumen con agua destilada, a la misma temperatura con la que se midió la muestra inicial, con una tolerancia de $\pm 2^{\circ}\text{C}$; homogenizar.
 10. Lavar el picnómetro con agua corriente y luego, en forma rápida, con mezcla sulfocrómica. Después lavar varias veces con agua destilada y finalmente con etanol y éter etílico.
 11. Dejar escurrir el picnómetro y secarlo perfectamente, tanto por dentro como por fuera; taparlo.
 12. Pesar el picnómetro limpio y seco con aproximación al 0,1 mg.
 13. Colocar cuidadosamente la muestra destilada en el picnómetro hasta la marca, evitando la formación de burbujas de aire, y luego taparlo.
 14. Sumergir el picnómetro en el baño de agua a $20^{\circ} \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ durante 30 minutos, comprobando al final que el nivel del producto alcance exactamente la marca.
 15. Retirar el picnómetro del baño, secar exteriormente con papel filtro y pesar con aproximación al 0,1 mg.
 16. Vaciar el picnómetro y limpiar como se indica anteriormente; secarlo perfectamente y poner en el agua destilada hasta la marca respectiva, evitando la formación de burbujas de aire; tapar el picnómetro.
 17. Proceder como se indica en el literal 14 y 15.
 18. Determinar la densidad relativa de acuerdo a lo indicado en los cálculos.
 19. Establecer el grado alcohólico, basándose en la densidad calculada. (Uso de tablas, reportado en el Anexo A de la Norma INEN 360).

Cálculos:

La densidad relativa se determina mediante la ecuación siguiente:

$$d = (m_2 - m_1) / (m_3 - m_1)$$

Siendo:

d = densidad relativa

m_1 = masa del picnómetro vacío, en gramos.

m_2 = masa del picnómetro con la muestra, en gramos.

m_3 = masa del picnómetro con agua destilada, en gramos.

Referencia:

Norma INEN N° 360, 1978-04.

* El análisis de grado alcohólico de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) fue realizado por el Laboratorio del Centro de Servicios Técnicos y Transferencia Tecnológica Ambiental (LABCESTTA) ubicado en Riobamba – Ecuador.

ANEXO F-3

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE METANOL, ALCOHOLES SUPERIORES, ALDEHÍDOS Y ÉSTERES MEDIANTE CROMATOGRAFÍA *

Fundamento:

Los componentes volátiles se determinaron por cromatografía de gases o GC, mediante la inyección directa de 0,3 µl para el vino de mortiño.

Materiales y equipos:

Se empleó un cromatógrafo de gases con un detector de ionización de llama (FID)

Procedimiento:

Las condiciones cromatográficas fueron:

- Columna semicapilar, 30 metros de longitud por 0,53 mm y 1,0 µm de diámetro.
- Temperatura del horno: 2 rampas de temperatura:
 - o 1º rampa de 40 a 41°C con un incremento de temperatura de 0,1°C/min. Mantenimiento de la temperatura a 41°C durante 1 minuto.
 - o 2º rampa 41 a 85 °C con un incremento de temperatura de 5°C. Mantenimiento de la temperatura a 85°C hasta el tiempo total del análisis de 26 minutos.
- Temperatura inyector: 260°C
- Temperatura del detector: 260°C
- Fluje de He: 7,3 ml/min
- Flujos en el detector: 300 ml/min (aire) y 30 ml/min (H₂)
- Inyección directa de 0,3 µl de vino con patrón interno
- Cuantificación: se empleó 4 metil-2-pentanol como patrón interno.

Referencia:

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).

* El análisis de cromatografía de gases de la bebida tipo vino de mortiño (*Vaccinium floribundum* Kunth) fue realizado por el Laboratorio del Centro de Servicios Técnicos y Transferencia Tecnológica Ambiental (LABCESTTA) ubicado en Riobamba – Ecuador.

ANEXO F4

FICHA DE CATACIÓN DE LA BEBIDA TIPO VINO DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth)

Nombre:..... Fecha:

Sexo: Edad:

Instrucciones:

- Por favor, proceda a evaluar cada una de las muestras tomando en cuenta cada atributo.
- Enjuagarse la boca antes de probar las distintas muestras.
- Designe una calificación según la escala hedónica establecida.

Escala hedónica:

1. Me disgusta mucho
2. Me disgusta
3. Me disgusta ligeramente
4. Ni me gusta ni me disgusta
5. Me gusta ligeramente
6. Me gusta
7. Me gusta mucho

ATRIBUTO	MUESTRAS			

COLOR				
AROMA				
ACIDEZ				
ASTRINGENCIA				
APRECIACIÓN GLOBAL				


Observaciones:

.....
.....

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN

ANEXO G

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO Y DE GRADO ALCOHÓLICO

 <p>LABCESTTA Tecnología & Soluciones SGC</p>	<p align="center">LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCION</p> <p align="center">Panamericana Sur Km. 1 ½ Telefax: (03) 2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR</p>	<p align="center">LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL OAE</p> <p align="center">ACREDITACIÓN Nº OAE LE 2C 06-008</p>
---	---	--


INFORME DE ENSAYO No: 1353
ST: 14 – 046 ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Nombre Peticionario: NA
Atn. José Jácome
Dirección: Urb. Potrereros Altos, Calle Principal y 2da. Transversal, Machachi

FECHA: 15 de Agosto del 2014
NUMERO DE MUESTRAS: 1
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB: 2014 / 08/ 06 – 15:20
FECHA DE MUESTREO: 2013 / 07/ 07 – 16:00
FECHA DE ANÁLISIS: 2014/ 08/ 06 – 2014 /08/ 15
TIPO DE MUESTRA: Bebida Alcohólica
CÓDIGO LABCESTTA: LAB-Alm 121-14
CÓDIGO DE LA EMPRESA: MT001
PUNTO DE MUESTREO: Ambato facultad de Ciencia e Ingeniería en alimentos UTA.
ANÁLISIS SOLICITADO: Físico-Químico
PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: José Jácome
CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS: T máx.:25.0 °C. T min.: 15.0 °C

RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETROS	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LÍMITE PERMISIBLE	INCERTIDUMBRE (k=2)
*Grado Alcohólico a 20°C	PEE/LABCESTTA/141 INEN 340	%	8,75	18	-
Metanol	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	124,45	-	±14%
n-propanol	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	1,58	-	±29%
2-Metnilpropanol	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	51,41	-	±14%
2+3-Metilbutanol	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	205,81	-	±16%
*Acetaldehído	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	133,57	-	-
*Etilacetato	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	85,85	-	-

 <p>LABCESTTA Tecnología & Soluciones</p> <p>SGC</p>	<p>LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCION</p> <p>Panamericana Sur Km. 1 ½ Telefax: (03) 2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR</p>	<p>LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL OAE</p> <p>ACREDITACIÓN Nº OAE LE 2C 06-008</p>
--	---	--

*Furfural	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	< 1	-	-
-----------	---	---------------------------------	-----	---	---

OBSERVACIONES:

- Muestra receptada en el laboratorio.
- Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de acreditación del SAE.
- Los parámetros fueron comparados con NTE INEN 0374:87.
- La columna marcada con (■) no está incluida en la acreditación del SAE.

RESPONSABLE:

Ing. Verónica Bravo
RESPONSABLE TÉCNICO

COPIA

 <p>LABCESTTA Tecnología & Soluciones SGC</p>	<p align="center">LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCION</p> <p align="center">Panamericana Sur Km. 1 ½ Telefax: (03) 2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR</p>	<p align="center">LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL OAE</p> <p align="center">ACREDITACIÓN Nº OAE LE 2C 06-008</p>
---	---	--

INFORME DE ENSAYO No: 1353
ST: 14 – 046 ANÁLISIS DE ALIMENTOS

Nombre Peticionario: NA
Atn. José Jácome
Dirección: Urb. Potreros Altos, Calle Principal y 2da. Transversal, Machachi

FECHA: 15 de Agosto del 2014
NUMERO DE MUESTRAS: 1
FECHA Y HORA DE RECEPCIÓN EN LAB: 2014 / 08/ 06 – 15:20
FECHA DE MUESTREO: 2013 / 07/ 07 – 16:00
FECHA DE ANÁLISIS: 2014/ 08/ 06 – 2014 /08/ 15
TIPO DE MUESTRA: Bebida Alcohólica
CÓDIGO LABCESTTA: LAB-Alm 122-14
CÓDIGO DE LA EMPRESA: MT002
PUNTO DE MUESTREO: Ambato facultad de Ciencia e Ingeniería en alimentos UTA.
ANÁLISIS SOLICITADO: Físico-Químico
PERSONA QUE TOMA LA MUESTRA: José Jácome
CONDICIONES AMBIENTALES DE ANÁLISIS: T máx.:25.0 °C. T min.: 15.0 °C

RESULTADOS ANALÍTICOS:

PARÁMETROS	MÉTODO /NORMA	UNIDAD	RESULTADO	VALOR LÍMITE PERMISIBLE	INCERTIDUMBRE (k=2)
*Grado Alcohólico a 20°C	PEE/LABCESTTA/141 INEN 340	%	8,69	18	-
Metanol	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	132,54	-	±14%
n-propanol	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	2,22	-	±29%
2-Metnilpropanol	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	49,70	-	±14%
2+3-Metilbutanol	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	206,27	-	±16%
*Acetaldehído	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	136,40	-	-
*Etilacetato	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	80,18	-	-

 <p>LABCESTTA Tecnología & Soluciones</p> <p>SGC</p>	<p align="center">LABORATORIO DE ANÁLISIS AMBIENTAL E INSPECCION</p> <p align="center">Panamericana Sur Km. 1 ½ Telefax: (03) 2998232 ESPOCH FACULTAD DE CIENCIAS RIOBAMBA - ECUADOR</p>	<p align="center">LABORATORIO DE ENSAYO ACREDITADO POR EL OAE</p> <p align="center">ACREDITACIÓN Nº OAE LE 2C 06-008</p>
--	---	--

*Furfural	PEE/LABCESTTA/142 AOAC 968.09/INEN 2014	mg/100mL de alcohol absoluto	< 1	-	-
-----------	---	---------------------------------	-----	---	---

OBSERVACIONES:

- Muestra receptada en el laboratorio.
- Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de acreditación del SAE.
- Los parámetros fueron comparados con NTE INEN 0374:87.
- La columna marcada con (■) no está incluida en la acreditación del SAE.

RESPONSABLE:

Ing. Verónica Bravo
RESPONSABLE TÉCNICO

COPIA

ANEXO H

FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍAS DEL PROCESO DE ELABORACIÓN DE LA BEBIDA TIPO VINO DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth)

RECEPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA



PESADO



CARACTERIZACIÓN DE LA FRUTA



SELECCIÓN - LAVADO



TRITURACIÓN



SULFITADO



TRATAMIENTO ENZIMÁTICO



AJUSTE DE SÓLIDOS SOLUBLES



INOCULACIÓN



FERMENTACIÓN



TRASIEGO I



TRASIEGO II



ENVASADO



PASTEURIZACIÓN



MADURACIÓN



CONSUMO



FOTOGRAFÍAS DE LOS ANÁLISIS REALIZADOS AL MOSTO Y A LA BEBIDA TIPO VINO DE MORTIÑO (*Vaccinium floribundum* Kunth)

TOMA DE MUESTRAS



SÓLIDOS SOLUBLES



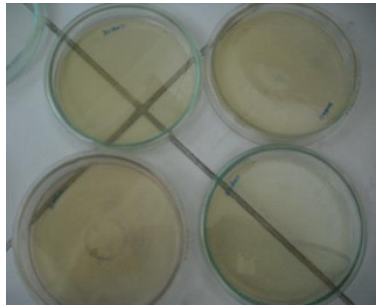
pH



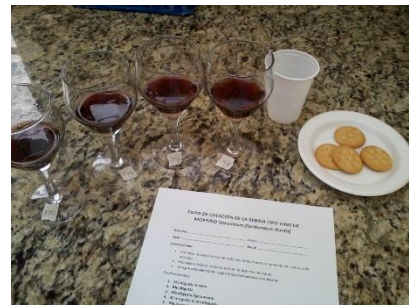
ACIDEZ



ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO



CATACIÓN



MEDIDAS ESPECTOFOTOMÉTRICAS

