



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS



CARRERA INGENIERÍA EN ALIMENTOS

**EFFECTO DE LA UTILIZACIÓN DE ENZIMAS PECTOLÍTICAS
(LALLZYME C-MAX) EN UN MOSTO ELABORADO CON
LEVADURA VINICA (LALVIN EC 1118) Y DE PANIFICACIÓN
PARA LA PRODUCCIÓN DE VINO DE MANZANA VARIEDAD
EMILIA (*Reineta amarilla de Blenheim*)**

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

** Este Trabajo de Investigación es parte del Proyecto "Potenciación y mejora de la producción de vinos de frutas de la Asociación de Mujeres Campesinas "ALBORADA" de la comunidad Santa Rosa (Cantón Ambato, Provincia de Tungurahua, Ecuador ", auspiciado por AECID.*

Autor: María José Andrade Albán.

Tutor: Ing. Gladys Navas Miño

Ambato - Ecuador

2009

APROBACIÓN DEL TUTOR DE TESIS

Ing. Gladys Navas M.

Siendo el Tutor del Trabajo de Investigación realizado bajo el tema: “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*)”, por la egresada María José Andrade Albán; tengo a bien afirmar que el estudio es idóneo y reúne los requisitos de una tesis de grado de Ingeniería en Alimentos; y el graduando posee los méritos suficientes para ser sometido a la evaluación del Jurado Examinador que sea designado por el H. Consejo Directivo de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

Ambato, Septiembre de 2010

.....
Ing. Gladys Navas M.

TUTOR

AUTORÍA DE LA TESIS

Los criterios emitidos en el trabajo de investigación denominado: “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*)”, así como también los contenidos, ideas, análisis, conclusiones y recomendaciones, corresponden exclusivamente a María José Andrade Albán; e, Ing. Gladys Navas Mg.; Tutor del Proyecto de Investigación.

María José Andrade Albán

AUTOR

Ing. Gladys Navas M.

TUTOR TEMA

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, Septiembre de 2010

Para constancia firman:

PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

MIEMBRO DEL TRIBUNAL

AGRADECIMIENTO

Mi agradecimiento va dirigido a la Universidad Técnica de Ambato, y por medio de ella a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, que me concedió la oportunidad de crecer como profesional y como persona a través de su personal docente y administrativo.

A la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID) a través del PCI – Iberoamérica (Programa de Cooperación Interuniversitaria e Investigación Científica); y, a la Unidad Operativa de Investigación en Tecnología en Alimentos (UOITA), por el financiamiento de este trabajo de investigación a través del proyecto “Potenciación y mejora de Vinos de Frutas de la Asociación de Mujeres Campesinas Alborada de la comunidad Santa Rosa (Cantón Ambato, Provincia de Tungurahua, Ecuador)”.

A la Ing. Jacqueline Ortiz M. Sc., Directora del Proyecto, mi sincero agradecimiento por la confianza depositada en mi persona, al brindarme la oportunidad de formar parte de su grupo de becarios en esta experiencia.

Al Dr. Iñigo Arozarena Martiricorena Ph. D., del Grupo de Investigación, por compartir con mi persona su experiencia y conocimientos respecto al tema que se desarrollo en el presente trabajo de investigación.

A la Ing. Gladys Navas M., directora de tesis, un agradecimiento especial por la confianza depositada en mi, por su paciencia, su cariño y su apoyo incondicional, que se ve plasmado en este trabajo de investigación.

Finalmente un gracias de todo corazón a todos mis grandes amigos y amigas de la carrera, Galo, Inés, Lily, Vini y Angy quienes de una u otra manera contribuyeron a este logro alcanzado.

DEDICATORIA

El presente trabajo va dedicado a Dios y a la Virgen María por poner luz siempre en mi camino, por llenar mi vida de bendiciones y de personas que se convirtieron en ángeles que supieron guiar mi fe y llenarme de fuerza, paciencia y constancia para alcanzar una de mis metas en la vida.

A mis padres José Polonio y Mónica Elizabeth; que fueron mi mayor inspiración. Modelo de superación, constancia, fortaleza y amor, que durante toda mi vida me concedieron la libertad de decidir; apoyándome y guiándome en el sendero del éxito.

A mis hermanos José Luis y Carmita por su amistad, su amor y su apoyo incondicional en mis alegrías y fracasos.

A mi sobrina Rafaela, que con su inocencia y ternura le dio un toque de magia y alegría a mis días más tristes; devolviéndome la esperanza de que Dios es amor y todo lo puede.

María José Andrade.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

	PÁGINA
1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN	1
1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	
1.2.1 CONTEXTUALIZACIÓN MACRO, MESO Y MICRO.	1
1.2.1.1 MACRO	1
1.2.1.2 MESO	3
1.2.1.3 MICRO	4
1.2.2 ANÁLISIS CRÍTICO	5
1.2.2.1 ÁRBOL DE PROBLEMAS	6
1.2.3 PROGNOSIS	7
1.2.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.	7
1.2.5 INTERROGANTES	8
1.2.6 DELIMITACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.	8
1.3 JUSTIFICACIÓN	
1.3.1 INTERÉS POR INVESTIGAR	9
1.3.2 IMPORTANCIA TEÓRICO PRÁCTICA	10
1.3.3 NOVEDAD EN ALGÚN ASPECTO	10
1.3.4 UTILIDAD (BENEFICIARIOS)	11
1.3.5 IMPACTOS	
1.3.5.1 SOCIO ECONÓMICO	11
1.3.5.2 AMBIENTAL	12
1.3.6 FACTIBILIDAD	12
1.4 OBJETIVOS	

1.4.1 OBJETIVO GENERAL	13
1.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	14
2.2 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA	17
2.3 FUNDAMENTACIÓN LEGAL	17
2.3.1 MÉTODOS DE ANÁLISIS	18
2.3.1.1 ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS	18
2.3.1.2 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS	19
2.3.1.3 ANÁLISIS SENSORIAL	19
2.4 CATEGORÍAS FUNDAMENTALES	19
2.4.1 MARCO CONCEPTUAL DE LA VARIABLE INDEPENDIENTE	19
2.4.1.1 LA MANZANA	20
2.4.1.1.1 COMPOSICIÓN FÍSICA Y QUÍMICA	23
2.4.1.2 GENERALIDADES DE LOS VINOS	24
2.4.1.3 PREPARACIÓN DEL MOSTO	24
2.4.1.4 CORRECCIÓN DE AZÚCAR O CHAPTALIZACIÓN	24
2.4.1.5 CORRECCIÓN DE LA ACIDEZ	25
2.4.1.6 ROL DEL SO ₂ EN EL VINO	27
2.4.1.7 USO DE ANTISÉPTICOS	28
2.4.1.8 FERMENTACIÓN	28
2.4.1.8.1 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	29
2.4.1.8.2 TRANSFORMACIÓN DEL ALMIDÓN	30
2.4.1.8.3 BIOQUÍMICA DE α y β AMILASA	31
2.4.1.9 FERMENTACIÓN MALOLÁCTICA	31

2.4.1.10 INFLUENCIA DE AGENTES EN LA FERMENTACIÓN	32
2.4.1.10.1 TEMPERATURA	33
2.4.1.10.2 AIREACIÓN	34
2.4.1.10.3 pH	34
2.4.1.10.4 NUTRIENTES Y ACTIVADORES	34
2.4.1.10.5 INHIBIDORES	37
2.4.1.11 LEVADURAS	37
2.4.1.12 LEVADURA VINICA	39
2.4.1.12.1 LEVADURA LALVIN EC 1118	39
2.4.1.13 LAS ENZIMAS	41
2.4.1.13.1 ENZIMAS DE USO TECNOLÓGICO	41
2.4.1.13.2 PECTINASAS	43
2.4.1.13.3 ENZIMA: LALLZYME C-MAX	45
2.4.2 MARCO CONCEPTUAL DE VARIABLES DEPENDIENTES	46
2.4.2.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL VINO DE UVA	46
2.4.2.1.1 AGUA	47
2.4.2.1.2 AZÚCARES	47
2.4.2.1.3 ALCOHOL ETÍLICO	48
2.4.2.1.4 OTROS ALCOHOLES	49
2.4.2.1.5 ÁCIDOS	49
2.4.2.1.6 ALDEHIDOS Y ÉSTERES	50
2.4.2.1.7 MATERIAS NITROGENADAS	51
2.4.2.1.8 COMPUESTOS FENÓLICOS	51
2.4.2.1.9 MATERIAS MINERALES	52
2.4.2.2 CARACTERÍSTICA ORGANOLÉPTICAS	52
2.4.2.2.1 COLOR	53
2.4.2.2.2 SABOR Y AROMA	53
2.4.2.3 CALIDAD DEL VINO	54
2.4.2.3.1 DEFECTOS Y ALTERACIONES	55
2.4.2.4 ANÁLISIS SENSORIAL	59

2.4.3 PROCESO TECNOLÓGICO	59
2.4.3.1 DIAGRAMA DE FLUJO PARA ELABORACIÓN	63
2.5 HIPÓTESIS	64
2.5.1 HIPÓTESIS NULA	64
2.5.2 HIPÓTESIS ALTERNATIVA	64
2.6 SENALAMIENTO DE VARIABLES	64

CAPÍTULO III: MARCO METODOLÓGICO

3.1 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN	66
3.2 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN	66
3.3 POBLACION Y MUESTRA	67
3.3.1 POBLACIÓN	67
3.3.2 MUESTRA	67
3.3.3 DISEÑO EXPERIMENTAL	67
3.3.4 RESPUESTAS EXPERIMENTALES	68
3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	69
3.5 PLAN RECOLECCIÓN DE LA INFORMACIÓN	73
3.5.1 FUENTE PRIMARIA	73
3.5.2 FUENTE SECUNDARIA	73
3.6 PLAN DE PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN	74
3.6.1 PROCEDIMIENTO	74

CAPITULO IV: ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS	75
4.2 INTERPRETACIÓN DE DATOS	76
4.2.1 MATERIA PRIMA	76
4.2.2 RESPUESTAS EXPERIMENTALES	76
4.2.2.1 PROCESO DE FERMENTACIÓN	76
4.2.2.1.1 SÓLIDOS SOLUBLES	76
4.2.2.1.2 pH	78

4.2.2.1.3 ACIDEZ (% ÁC. MÁLICO)	79
4.2.2.1.4 ABSORBANCIA	80
4.2.2.1.5 TIEMPO DE FERMENTACIÓN	81
4.2.2.2 PROCESO DE MADURACIÓN	82
4.2.2.2.1 ABSORBANCIA	82
4.2.2.2.2 EXTRACTO SECO	83
4.2.2.2.3 ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS	84
4.2.2.2.4 ANÁLISIS LA RIQUEZA EN COMPUESTOS FENÓLICOS	
86	
4.2.2.2.4.1 ÍNDICE DE POLIFENOLES TOTALES	86
4.2.2.2.4.2 POLIFENOLES TOTALES	87
4.2.2.2.5 MEDICIÓN DE LA TURBIDEZ	88
4.2.2.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS MEJORES TRATAMIENTOS	90
4.2.2.4 ANÁLISIS SENSORIAL	91
4.2.2.4.1 EXAMEN VISUAL	92
4.2.2.4.2 EXAMEN OLFATIVO	92
4.2.2.4.3 EXAMEN GUSTATIVO	92
4.2.3 TIEMPO DE ESTABILIDAD DEL VINO DE MANZANA	94
4.2.4 RENDIMIENTO DE VINO DE MANZANA	96
4.2.5 ESTIMACIÓN ECONÓMICA	97
4.3 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS	98

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES	100
5.2 RECOMENDACIONES	102

CAPÍTULO VI: PROPUESTA

6.1 DATOS INFORMATIVOS	104
6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA	104
6.3 JUSTIFICACIÓN	106
6.4 OBJETIVOS	
6.4.1 OBJETIVO GENERAL	107
6.4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	108
6.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD	108
6.6 FUNDAMENTACIÓN	109
6.7 METODOLOGÍA	116
6.8 ADMINISTRACIÓN	117
6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN	118
7. BIBLIOGRAFIA	119

ÍNDICE DE CUADROS Y GRÁFICOS

INDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1. Especificaciones de los vinos de frutas (Norma INEN 374).	18
Tabla 2. Morfología y biología de la manzana	20
Tabla 3. Caracterización de la manzana Emilia (<i>Malus communis</i> – <i>Reineta Amarilla de Blenheim</i>)	22
Tabla 4. Composición química de la manzana Emilia (<i>Malus communis</i> – <i>Reineta Amarilla de Blenheim</i>) fresca / 100 g.	23
Tabla 5. Enzimas que intervienen en la Fermentación Alcohólica	36
Tabla 6. Algunas de las características deseables y no deseables en la selección de levaduras para la producción de vinos de calidad	38
Tabla 7. Costos de elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (<i>Reineta Amarilla de Blenheim</i>).	109

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Operacionalización de Variables Independientes	70
Cuadro 2. Operacionalización de Variable Dependiente	72
Cuadro 3. Modelo Operativo (Plan de acción)	116
Cuadro 4. Administración de la Propuesta	117
Cuadro 5. Previsión de la Evaluación	118

ANEXO A. RESPUESTAS EXPERIMENTALES

Tabla A-1. Cambios en el pH registrado durante la fermentación de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-2. Cambios en los Sólidos Solubles registrados durante la fermentación de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-3. Cambios en la acidez registrados durante la fermentación de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-4. Cambios en absorbancia registrados durante la fermentación de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-5. Tiempo que duro la fermentación en cada uno de los tratamientos con dos distintos tipos de levaduras y con variaciones en el momento de adición de enzimas.

Tabla A-6. Cambios en el pH registrado durante la maduración de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-7. Cambios en los Sólidos Solubles registrados durante la maduración de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-8. Cambios en la acidez expresada en registros durante la maduración de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-9. Cambios en la Absorbancia registrados durante la maduración de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-10. Cambios en valores de extracto seco registrados durante la maduración de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-11. Datos del Análisis mediante cromatografía de gases de compuestos volátiles mayoritarios presentes en los vinos de Manzana Variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*) (mg/l)

Tabla A-12. Medida de la Turbidez (NTU) de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-13. Medida del Índice de Polifenoles Totales (Absorbancia a 280 nm) en el vino de manzana Variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-14. Medida del contenido en polifenoles totales (método de Folin-Ciocalteu) en el vino de manzana Variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-15. Valores considerados para la determinación del Rendimiento Obtenido en el Producto final en la elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*).

Tabla A-16. Resultados de pruebas sensoriales de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tabla A-17. Análisis Bromatológico de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) para el mejor tratamiento a₁b₃ (levadura de Pan-Sin tratamiento enzimático)

Tabla A-18. Análisis Bromatológico de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) para el mejor tratamiento a₂b₃ (levadura Vinica Lalvin EC 1118-Sin tratamiento enzimático)

Tabla A-19. Análisis Microbiológico (Recuento Total (ufc/ml)) de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) para el mejor tratamiento a₁b₃ (levadura de Pan -Sin tratamiento enzimático).

Tabla A-20. Análisis Microbiológico (Recuento Total (ufc/ml)) de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) para el mejor tratamiento a₂b₃ (levadura Vinica Lalvin EC 1118-Sin tratamiento enzimático).

Tabla A-21. Análisis Microbiológico (Mohos y Levaduras (ufc/ml)) de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) para el mejor tratamiento a₁b₃ (levadura de Pan-Sin tratamiento enzimático).

Tabla A-22. Análisis Microbiológico (Mohos y Levaduras (ufc/ml)) de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) para el mejor tratamiento a₂b₃ (levadura Vinica Lalvin EC 1118-Sin tratamiento enzimático).

ANEXO B. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Tabla B-1. Análisis de Varianza para pH

Tabla B-2. Diferencia Mínima Significativa para pH en el Factor A: Tipo de Levadura

Tabla B-3. Análisis de Varianza para °Brix

Tabla B-4. Diferencia Mínima Significativa para °Brix en el factor A: Tipo de Levadura

Tabla B-5. Análisis de Varianza para Acidez Titulable

Tabla B-6. Análisis de Varianza para Absorbancia 420 nm

Tabla B-7. Análisis de Varianza para el Tiempo de Fermentación

Tabla B-8. Diferencia Mínima Significativa para Tiempo de Fermentación en el Factor A: Tipo de Levadura.

Tabla B-9. Análisis de Varianza para pH

Tabla B-10. Diferencia Mínima Significativa para pH en el Factor A: Tipo de Levadura.

Tabla B-11. Análisis de Varianza para °Brix

Tabla B-12. Diferencia Mínima Significativa para °Brix en el Factor A: Tipo de levadura

Tabla B-13. Análisis de Varianza para Acidez Titulable

Tabla B-14. Análisis de Varianza para Absorbancia 420 nm

Tabla B-15. Análisis de Varianza para Extracto Seco

Tabla B-16. Análisis de Varianza para Acetato de Etilo

Tabla B-17. Análisis de Varianza para Acetato de Metilo

Tabla B-18. Diferencia Mínima Significativa para Acetato de Metilo sobre el factor A: Tipo de Levadura

Tabla B-19. Análisis de Varianza para 1-Propanol

Tabla B-20. Diferencia Mínima Significativa para 1-propanol sobre el factor A: Tipo de Levadura

Tabla B-21. Análisis de Varianza para Isoamílicos

Tabla B-22. Diferencia Mínima Significativa para A. Isoamilicos sobre el factor A: Tipo de Levadura

Tabla B-23. Análisis de Varianza para Acetato de Metilo

Tabla B-24. Diferencia Mínima Significativa para Acetato de Metilo sobre el factor A: Tipo de Levadura

Tabla B-25. Análisis de Varianza para Metanol

Tabla B-26. Análisis de Varianza para Turbidez

Tabla B-27. Análisis de Varianza para IPT(Índice de Polifenoles Totales)

Tabla B-28. Análisis de Varianza para PT(Polifenoles Totales)

Tabla B-29. Análisis de Varianza para Acidez

Tabla B-30. Análisis de Varianza para Aroma

Tabla B-31. Análisis de Varianza para Astringencia

Tabla B-32. Diferencia Mínima Significativa para la Astringencia en el Factor A: Tipo de Levadura

Tabla B-33. Análisis de Varianza para Color

Tabla B-34. Análisis de Varianza para Dulzor

Tabla B-35. Análisis de Varianza para Impresión Global

ANEXO C. GRÁFICOS

Gráfico C-1. pH vs. Tiempo durante la fermentación de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheím*)

Gráfico C-2. Grados Brix vs. Tiempo durante la fermentación de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheím*)

Gráfico C-3. Acidez vs. Tiempo durante la fermentación de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheím*)

Gráfico C-4. Absorbancia vs. Tiempo durante la fermentación de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheím*)

Gráfico C-5. pH vs. Tiempo durante la maduración de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheím*)

Gráfico C-6. Grados Brix vs. Tiempo durante la maduración de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheím*)

Gráfico C-7. Absorbancia vs. Tiempo durante la maduración de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheím*)

Gráfico C-8. Acidez vs. Tiempo durante la maduración de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheím*)

Gráfico C-9. Extracto seco vs. Tiempo durante la maduración de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheím*)

Gráfico C-10. Medida de turbidez expresadas en unidades Nefelométricas en vino de Manzana Variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*).

Gráfico C-11. Medida de Índice de Polifenoles Totales expresadas de vino de Manzana Variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*).

Gráfico C-12. Medida de Polifenoles Totales expresadas en miligramos por litro de vino de Manzana Variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*).

Gráfico C-13. Cromatograma demostrativo del tratamiento a_1b_1 (Levadura de Pan LEVAPAN (*S. cerevisae*)- tratamiento enzimático pre fermentativo) de vino de manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*)—Replica 1

Gráfico C-14. Cromatograma demostrativo del tratamiento a_1b_1 (Levadura de Pan LEVAPAN (*S. cerevisae*)- tratamiento enzimático pre fermentativo) de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*)—Replica 2

Gráfico C-15. Cromatograma demostrativo del tratamiento a_2b_2 (Levadura Vínica Lalvin EC 1118 (*S. bayanus*)- tratamiento enzimático pos

fermentativo) de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) – Replica 1

Gráfico C-16. Cromatograma demostrativo del tratamiento a_2b_3 (Levadura Vínica Lalvin EC 1118 (*S. bayanus*)- sin adición de enzima) de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) – Replica 2

ANEXO D. DIAGRAMAS DE FLUJO

Gráfico D-1. Balance de materiales de la elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*), tratamiento a_1b_1 levadura de Pan Levapan (*S. cerevisae*)- tratamiento enzimático pre fermentativo

Gráfico D-2. Balance de materiales de la elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*), tratamiento a_1b_2 levadura de Pan Levapan (*S. cerevisae*)- tratamiento enzimático post fermentativo

Gráfico D-3. Balance de materiales de la elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*), tratamiento a_1b_3 levadura de Pan Levapan (*S. cerevisae*)- sin adición de enzima.

Gráfico D-4. Balance de materiales de la elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*), tratamiento a_2b_1 levadura Vínica Lalvin EC 1118 (*S. bayanus*)- tratamiento enzimático pre fermentativo

Gráfico D-5. Balance de materiales de la elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*), tratamiento a_2b_2 levadura Vínica Lalvin EC 1118 (*S. bayanus*)- tratamiento enzimático post fermentativo

Gráfico D-6. Balance de materiales de la elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*), tratamiento a_2b_3 levadura Vínica Lalvin EC 1118 (*S. bayanus*)- sin adición de enzima

ANEXO E. ESTABILIDAD DEL VINO

Tabla E-1. Cambios en la absorbancia a 420nm (UA) registrados a temperatura constante (40° C) en el Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) en el mejor tratamiento para Levadura de pan y Levadura Vínica. (a_1b_3 (Levadura de Pan-Sin tratamiento enzimático); y, a_2b_3 (Lalvin EC 1118-Sin tratamiento Enzimático).

Tabla E-2. Cálculo del tiempo de estabilidad de Vino de *Manzana*, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) en base a los promedios de absorbancia (UA) a una longitud de onda de 420 nm de los dos mejores tratamientos durante 40 días a temperatura constante (40° C).

Gráfico E-1. Estabilidad del Vino de Manzana.

ANEXO F. ESTIMACIÓN ECONÓMICA

Tabla F-1. Estimación económica de la materia prima utilizada para la Elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) utilizando Levadura vínica LALVIN EC 1118. (*S. bayanus*)

Tabla F-2. Estimación económica de los Equipos utilizados para la Elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) utilizando Levadura vínica LALVIN EC 1118. (*S. bayanus*)

Tabla F-3. Estimación económica de los servicios utilizados para la Elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) utilizando Levadura vínica LALVIN EC 1118. (*S. bayanus*)

Tabla F-4. Estimación económica del personal utilizado para La Elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) utilizando Levadura vínica LALVIN EC 1118. (*S. bayanus*)

Tabla F-5. Estimación económica de los valores totales del estudio en dólares utilizados para la Elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) utilizando Levadura vínica LALVIN EC 1118. (*S. bayanus*)

Tabla F-6. Estimación económica de la materia prima utilizada para la Elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) utilizando Levadura de Pan. LEVAPAN (*S. cerevisiae*)

Tabla F-7. Estimación económica de los Equipos utilizados para la Elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) utilizando Levadura de Pan. LEVAPAN (*S. cerevisiae*)

Tabla F-8. Estimación económica de los servicios utilizados para la Elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) utilizando Levadura de Pan. LEVAPAN (*S. cerevisiae*)

Tabla F-9. Estimación económica del personal utilizado para La Elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) utilizando Levadura de Pan. LEVAPAN (*S. cerevisiae*)

Tabla F-10. Estimación económica de los valores totales del estudio en dólares utilizados para la Elaboración de Vino de Manzana, Variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) utilizando Levadura de Pan. LEVAPAN (*S. cerevisiae*)

ANEXO G. MÉTODOS UTILIZADOS PARA LOS ANÁLISIS

ANEXO G – 1. Determinación de Sólidos Solubles

ANEXO G – 2. Determinación de pH

ANEXO G – 3. Determinación de Acidez Total

ANEXO G – 4. Determinación de Absorbancia a 420 nm

ANEXO G – 5. Determinación de Extracto Seco

ANEXO G – 6. Determinación de Grado Alcohólico

ANEXO G – 7. Análisis Microbiológicos: *anaerobios totales, coliformes totales, mohos y levaduras.*

ANEXO G-8. Análisis Sensorial

ANEXO H. FICHA TÉCNICA DE ANÁLISIS SENSORIAL

ANEXO I. FOTOGRAFÍAS

Fotografía I-1. Materia prima: manzana, variedad Emilia

(Reineta Amarilla de Blenheim)

Fotografía I-2. Lavado de la materia prima

Fotografía I-3. Troceado de la manzana

Fotografía I-4. Pesado de la materia prima

Fotografía I-5. Preparación del mosto

Fotografía I-6. Corrección del mosto

Fotografía I-7. Adición de nutrientes

Fotografía I-8. Activación de las levaduras vínicas y de panificación

Fotografía I-9. Fermentación de los mostos

Fotografías I-10 a I-13. Análisis de grados brix, pH, acidez total (% Ac. Málico) y absorbancia a una longitud de 420 nm en los mostos durante la fermentación

Fotografía I-14. Vino de manzana, variedad Emilia *(Reineta Amarilla de Blenheim)*

Fotografías I-15 y I-16. Evaluación sensorial del Vino de manzana, variedad Emilia *(Reineta Amarilla de Blenheim)*

RESUMEN EJECUTIVO

La manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) es una de las frutas más versátiles de todas las frutas caducas. Poseen una combinación única de textura crujiente y sabor agradable, que las hacen muy adecuadas para diversos usos, tanto en forma fresca como procesada. Sin embargo su empleo en el proceso de elaboración de vino, ha sido tradicional en nuestro país por lo que se pensó en el uso de levaduras vínicas como un aporte categórico para la su calidad sensorial, así como la adición de enzimas pectinolíticas para optimizar el proceso de clarificación y de maduración del producto elaborado y asegurar la conservación prolongada de los componentes de la fruta.

Se prepararon mostos limpios ajustados a 21 grados brix, inoculados con dos tipos de levaduras vínicas (LALVIN EC1118 (*S. cerevisiae bayanus*) y la levadura de panificación (LEVAPAN (*S. cerevisiae*)), en cada uno de los tratamientos planteados en este estudio; en cantidades de 0,3 g/litro de mosto, a los cuales se les adicionó enzima pectolítica denominada LLALZYME C – MAX, en distintos momentos del proceso de elaboración del vino de manzana: Pre fermentativo (0.03 gr/kg de fruta), post fermentativo (0.01 gr/lit de vino) y sin la utilización de enzima.

Durante el período de fermentación en las muestras de vino se analizaron las variaciones de sólidos solubles (grados brix), pH, acidez total (% ácido málico) y absorbancia a una longitud de 420 nm, como parámetros de control. Una vez concluida la fase de fermentación se inició la fase de maduración en botellas, por el lapso de 3 meses, tiempo en el cual se evaluó la variación de extracto seco, turbidez, índice de polifenoles totales (IPT), polifenoles totales (PT) conjuntamente con los parámetros mencionados anteriormente en el periodo de fermentación.

Las características físico – químicas finales de los vinos de manzana, variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) fueron los siguientes: sólidos

solubles 6,4 – 7,1; pH 3,25 – 3,33; acidez total expresada en % de ácido málico 0,040 %; absorbancia 0,0101 – 0,441 UA; extracto seco 9,8 g; turbidez entre 13 y 30 NTU; IPT 13,04 – 17,07 UA; y PT 537,7 – 556,22 mg/l.

Al final de la fase de maduración se realizaron evaluaciones sensoriales con un panel de 36 catadores semi-entrenados para determinar la influencia de las levaduras empleadas en las propiedades organolépticas del vino y de esta manera selección el mejor tratamiento.

Una vez que se proceso estadísticamente los valores obtenidos de la evaluación sensorial los vinos que presentaron las mejores atributos tanto físico – químicos como sensoriales fueron los vinos que contenían la levadura vínica LALVIN EC- 1118 (*S. cerevisiae bayanus*) y la levadura de panificación (*S. cerevisiae*) sin adición de enzimas.

En los mejores tratamientos se realizaron análisis físico – químicos (grado alcohólico, acidez total); microbiológicos (recuento de mohos y levaduras, recuento total de aerobios y coliformes); cromatográficos para compuestos volátiles (metanol), alcoholes superiores (1-propanol, alcohol isobutílico, alcohol isoamílico) y ésteres (acetato de etilo y acetato de metilo); tiempos de estabilidad del producto final y una estimación económica para su proceso de elaboración.

En la estimación económica realizada se obtiene una rentabilidad aceptable, ya que su costo aproximado es de \$ 3,59 la botella de 750 ml de vino empleando la levadura vínica LALVIN EC- 1118 (*S. cerevisiae bayanus*), mientras que con el empleo de la levadura de panificación LEVAPAN (*S. cerevisiae*), se obtiene un costo de \$ 3,58 por cada la botella de 750 ml de vino; lo cual no significa diferencia alguna pero a nivel sensorial el empleo de levaduras vínicas se destaca en su bouquet, aroma y sutileza luego de un tiempo de maduración adecuado , además que mejora el rendimiento del vino.

Es importante mencionar que desde un punto de vista económico la utilización de levadura vínica en el proceso de fermentación y la adición de enzimas pectinolíticas para optimizar el proceso de clarificación, permite que el capital invertido no permanezca amortizado por largos períodos de tiempo y que el desarrollo de su bouquet, aroma y sutileza sea mucho más evidente durante el proceso de maduración.

CAPÍTULO I

PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 TEMA DE INVESTIGACIÓN

“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 Blenheím*)”.

1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.2.1 Contextualización

1.2.1.1 Macro

La información publicada de manera general acerca del consumo agroalimentario y de manera particular de la manzana, confirma un incremento durante la última década y con una proyección a extenderse en el futuro, lo que asegura un excelente mercado. (FAO, 2000) [14].

El Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, 2003), menciona que la producción mundial de manzanas (*Malus domestica* L.) fue de 43,6 millones de toneladas durante el año 2003, de las cuales un 90% fueron producidas por los países del hemisferio norte (HN) y un 10% por los países del hemisferio sur (HS). A nivel mundial, los mayores productores del HN son China, la Unión Europea (UE), EE.UU., Turquía, Polonia y Rusia. En el HS los principales productores son Chile, Argentina, Brasil, Sudáfrica, Nueva Zelanda y Australia. Alrededor de un 77% del consumo mundial de manzanas se realiza en estado fresco, y el porcentaje restante se destina a la producción de productos procesados, principalmente jugo de manzanas.

A nivel mundial la tecnología para la elaboración de vinos frutales avanza de una forma acelerada, sin embargo nuestro país únicamente se ha convertido en una de las mejores fuentes de materia prima y a su vez de un mercado de consumo de producto terminado proveniente de otros países.

Comercialmente existe un sin número de levaduras vínicas y de enzimas que se utilizan para la elaboración de vinos con características sensoriales, físicas y químicas que satisfagan las exigencias de los consumidores, sin embargo en el Ecuador se utiliza muy poco este tipo de recursos y es común la utilización de la levadura de panificación en la elaboración del vinos frutales.

Los países mediterráneos lograron un gran adelanto en economía, en base a la comercialización del vino. En Francia e Italia es un aperitivo importante y de consumo diario. Los vinos frutales vienen siendo desde hace años un importante producto que se obtiene a partir del procesamiento de frutas. La producción de vino de frutas ha alcanzado un puesto sobresaliente en muchos países particularmente caracterizados por un clima riguroso, en los cuales el cultivo de la uva es muy difícil (Villacres, 1985).

Por su parte, los vinos frutales se hacen con frutas diferentes a las uvas viníferas y pueden ser clasificados en 4 grupos principales:

- Vinos de frutas de hueso (manzanas y peras)
- Vinos de frutas de pepa (cerezas y ciruelas)
- Vinos de frutas tipo baya (moras y zarzamoras)
- Vinos de uvas no viníferas tipo Labrusca (Concord y Niágara)

En la producción de vinos de frutas, siempre se empleará azúcar a causa del bajo contenido de ésta en las bayas u otras frutas. En algunos países,

se permite el mejoramiento de los vinos con azúcar y/o agua antes, durante y después de la fermentación (Yang, 1953).

1.2.1.2 Meso

Nuestra especial distribución geográfica y topográfica hace que el Ecuador y especialmente nuestra zona Andina posean una botánica rica en especies de alto valor nutritivo y de excelentes características sensoriales. Entre ellas se encuentra la manzana variedad Emilia (Blenheim, Reineta amarilla de Blenheim), que constituye una fruta típica de la provincia de Tungurahua y cuya época de cosecha va desde mediados de marzo a mediados de mayo. Se conoce que la mayor parte de la producción de esta variedad de manzana, se comercializa y se consume en estado fresco.

En teoría un vino se puede elaborar a partir de cualquier material alimenticio que contenga suficiente agua, azúcar fermentable y nutrientes para las levaduras; es decir se puede fabricar vino de frutas como: manzana (sidra), claudia, pera (perry), mandarinas, bayas (moras, frambuesas, grosellas, etc.), cerezas entre otras. La sidra de manzana fabricada a escala industrial en América, como en los Estados Unidos, Uruguay, Brasil y Argentina se prepara a partir del jugo extraído de las manzanas con un elevado contenido de azúcares y tanino. En su manufactura se utiliza la sulfitación, la adición de azúcar y nutrientes para las levaduras y la inoculación de un fermento probado (Bayas, 1989).

En la actualidad el sector industrial no se beneficia de la producción de manzanas, así como tampoco se preocupa de la creación de ambientes adecuados para su conservación, en consecuencia las pérdidas post-cosecha y las fuertes fluctuaciones en el precio conducen a grandes

pérdidas económicas para el fruticultor, lo que nos inclina a probar alternativas tecnológicas existentes (Bayas, 1989).

1.2.1.3 Micro

En la provincia de Tungurahua la agricultura constituye la actividad de mayor relevancia en la economía de la misma, pues concentra a un 40% de la población económicamente activa y además, cerca del 50% de las tierras se destinan a la actividad agropecuaria. La variedad de suelos permite que Tungurahua cuente con una producción agrícola diversificada y abundante especialmente de tubérculos, raíces, hortalizas y frutas. La producción frutícola casi en su totalidad proviene de unidades agrícolas pequeñas y diversificadas.

En la actualidad se observa un incremento significativo de la producción en la provincia, sin embargo este sector enfrenta las secuelas de la emanación de ceniza por parte del volcán Tungurahua de la que ha sido víctima desde hace algunos años atrás por motivo de su proceso de erupción, consecuentemente la producción agrícola es de calidad media, lo que provoca pérdidas económicas poscosecha, al no poder ser comercializada en estado fresco.

El área de producción de vinos en nuestro país no ha sido atendida en su totalidad de modo que han sido empresas extranjeras las que han atendido las demandas y ofertas de los consumidores; con base en esta necesidad se plantea como alternativa de procesamiento de las manzanas de rechazo, la elaboración de vino o sidra, la misma que puede ser aplicada por el industrial y el pequeño agricultor teniendo como base los fundamentos teóricos que para vino de frutas en general ha sido descrito por Hashizume (1977), Jarczyk y Wzorek (1979) y Amerine (1979).

Desde una perspectiva más profunda este proyecto se llevará a cabo en la ciudad de Ambato provincia de Tungurahua; de manera exacta se lo efectuará en el laboratorio de la UOITA (Unidad de Investigación en Tecnología de Alimentos) dentro de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Bioquímica; en un convenio con la Universidad Pública de Navarra (UPNA), España; como parte del proyecto de investigación “Potenciación y mejora de vinos de frutas de la Asociación de Mujeres Campesinas Alborada de la comunidad Santa Rosa (Cantón Ambato, provincia de Tungurahua, Ecuador).

1.2.2 Análisis crítico

Frutas como la manzana, materia prima de este proyecto de investigación cuando son sometidas a cortes u otras agresiones, sufren cambios debido a que sus membranas de los compartimentos celulares se destruyen. Ello permite que las polifenoloxidasas contacten con los fenoles y con el oxígeno atmosférico. La conjunción de estos tres elementos conduce a la formación de las quinonas y a la posterior aparición de los mencionados pigmentos. El resultado es lo que se denomina “pardeamiento enzimático”. [6]

Como consecuencia, se requiere un tiempo excesivo para la etapa de clarificación del mosto a partir del cual se va a elaborar vino de manzana utilizando levaduras de panificación y levaduras de carácter vínico; además la aplicación de una tecnología tradicional bajo el desconocimiento de la utilización de enzimas que faciliten la disminución de la viscosidad y que mejoren la sedimentación del mosto del cual se parte inciden directamente en los parámetros que determinaran un producto final de buena calidad, en la dificultad durante la operación de clarificación, en su rendimiento y conservación de características sensoriales propias de la fruta e igualmente en posibles pérdidas económicas.

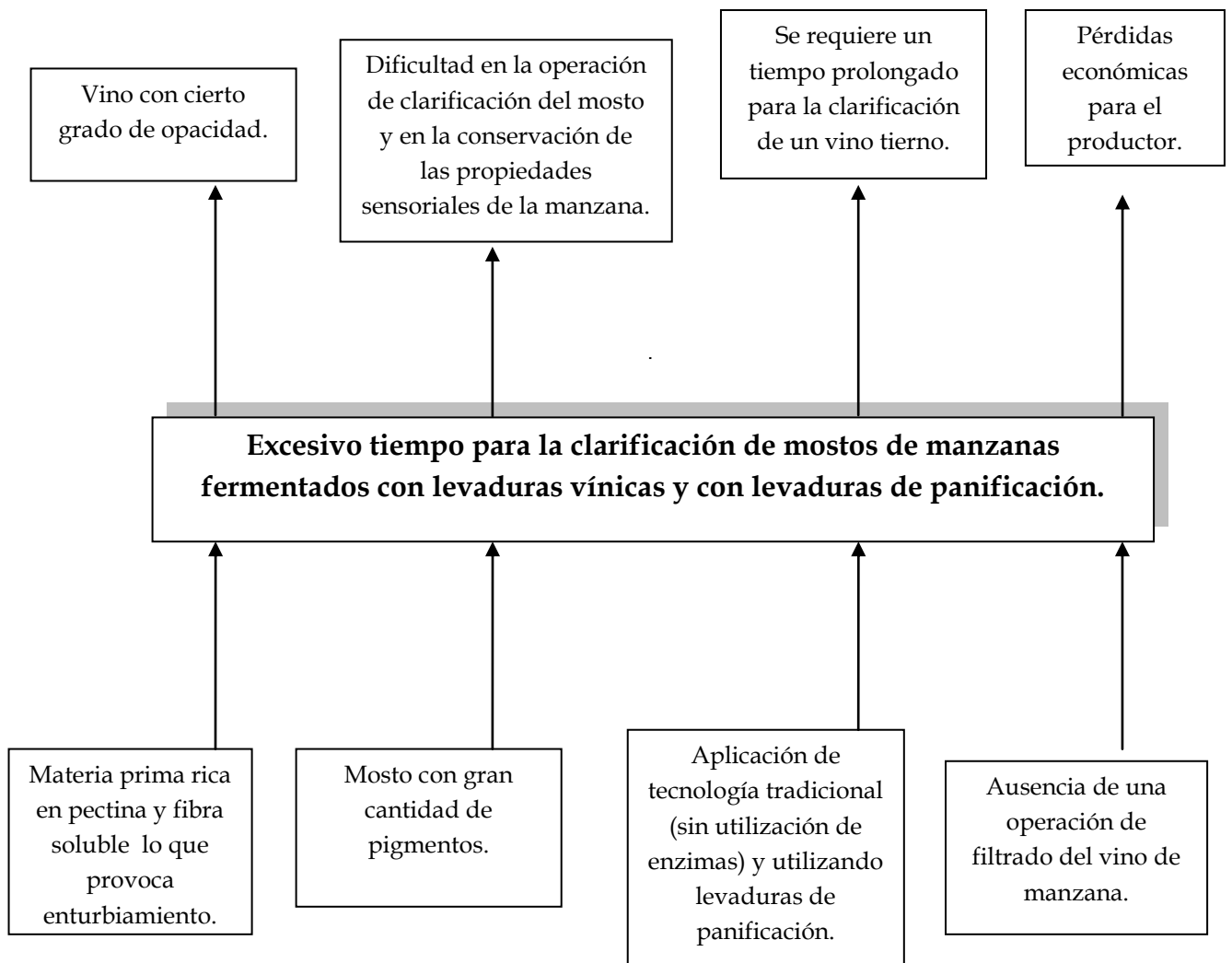


Gráfico1. Árbol de problemas

Elaboración: María José Andrade Albán.

Efectos: Excesivo tiempo para la clarificación de mostos de manzanas fermentados.

Causas: Aplicación de tecnología tradicional (sin utilización de enzimas) e inoculando con levaduras de panificación. Vino de escasa calidad sensorial.

1.2.3 Prognosis

De acuerdo al análisis crítico que se plantea, en el caso de no desarrollar el presente trabajo de investigación se limitará el campo de estudio de la utilización de la enzima pectolítica Lallzyme C-max y de la levadura vínica EC- 1118 para la producción de vino de manzana.

Además no se permitirá impulsar y potenciar la producción de vinos de frutas en la Asociación de Mujeres Trabajadoras Alborada (ASOMA) lo que impedirá fructificar las instalaciones y la infraestructura idónea de la cual es propietaria dicha Asociación.

Posteriormente, no se produciría un avance en la formación académica, referente al diseño y desarrollo de tecnologías de vinificación en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, de la Universidad Técnica de Ambato.

1.2.4 Formulación del problema

La manzana es una fruta que al ser sometida a corte presenta un fenómeno denominado pardeamiento enzimático, debido a la destrucción de los compartimentos celulares que permiten que las polifenoloxidasas contacten con los fenoles y con el oxígeno atmosférico, por lo que la operación de clarificación presenta cierto grado de dificultad y requiere un excesivo tiempo. Por otro lado la levadura de panificación utilizada tradicionalmente para la elaboración de vinos presenta limita ciertas características sensoriales de los vinos y consecuentemente la aceptabilidad del producto por parte de los consumidores.

De modo que se evalúa la posibilidad de acelerar el proceso fermentativo y de clarificación de vinos de manzana, a través del empleo de enzimas de clarificación y del uso de una levadura vínica seleccionada.

1.2.5 Interrogantes

¿Cómo influye en el proceso de clarificación la utilización de enzimas pectolíticas antes y después de la fermentación del vino de manzana?

¿En que medida afecta la utilización una levadura vínica frente a la levadura de panificación que comúnmente se utiliza en la producción de vino de manzana?

¿Cuál de los tratamientos se considera el mejor en base a los atributos considerados en la evaluación sensorial?

¿Qué otros beneficios sensoriales y químicos se obtiene con la utilización de enzimas para la elaboración de un vino de manzana?

¿La investigación y tecnología a desarrollar será destinada para la aplicación industrial?

¿Será accesible por parte de la Asociación de Mujeres Campesinas Alborada (ASOMA) la tecnología más adecuada resultante de la investigación realizada para la producción de vino de manzana?

1.2.6 Delimitación del objeto de investigación

Categoría: Bebidas

Subcategoría: Bebida alcohólica

Área: Vinos Frutales

Subárea: Fermentación

Problema: Excesivo tiempo para la etapa de clarificación de mostos de manzanas fermentados con levaduras vínicas y con levaduras de panificación.

Delimitación Espacial y geográfica: La parte inicial del estudio se realizaría en la Unidad Operativa de Investigación de Tecnología de Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Bioquímica de la Universidad Técnica de Ambato ubicada en el cantón Ambato de la provincia de Tungurahua en el 2009. La parte analítica del proyecto se desarrollaría en la Universidad Pública de Navarra y la posterior aplicación industrial se llevaría a cabo por parte de la Asociación de Mujeres Trabajadoras Alborada en la parroquia Santa Rosa del cantón Ambato en la provincia de Tungurahua.

Delimitación Temporal: El proyecto tiene una duración total de 12 meses y es auspiciado por: AECID, Centros españoles participantes y Centros Iberoamericanos participantes.

1.3 JUSTIFICACIÓN

1.3.1 Interés por investigar

En los últimos años se puede constatar la ausencia de la industria ecuatoriana con respecto a la producción de bebidas alcohólicas fermentadas (vino de manzana) de buena calidad, un escaso uso de preparados enzimáticos y de levaduras de carácter vínico que garanticen y se conviertan en competencia para los productos extranjeros que comúnmente se comercializan en el mercado nacional, de forma adicional se puede palpar una producción poco planificada de frutas y otros productos agrícolas. Siendo así que en la búsqueda de nuevas alternativas que aporten a la economía agrícola e industrial de la zona central del país se toma en cuenta una de las principales frutas representativas cultivadas en la provincia de Tungurahua como es la manzana de variedad Emilia, que presenta cualidades muy apetecidas por los consumidores como la jugosidad, dulzor y sabor y que en esta época se encuentra en el mercado con un alto porcentaje de producción.

1.3.2 Importancia teórico-práctica

El uso de levaduras vínicas constituye un aporte categórico para la evaluación sensorial del vino así como la adición de enzimas pectinolíticas para facilitar el proceso de clarificación de los mostos y una conservación más prolongada de los componentes de la fruta; de modo que en forma conjunta lo anteriormente mencionado arrojaría como resultado un vino con mejor aroma al fermentar mostos poco turbios, y acortar su duración total.

El perfeccionamiento del proceso de clarificación se obtiene a partir de la acción de las pectinasas. La liberación de sustancias aromáticas está relacionada con la liberación de ciertos compuestos como beta-glucosidasa, mientras que la solubilización de la levadura se debe a la actividad beta-glucanasa del producto (Catalogo, LALLZYME; 2009).

Adicionalmente el presente estudio constituirá un aporte científico a la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos puesto que en otras ocasiones únicamente se ha estudiado la producción de vinos de manzana desde un punto de vista tecnológico más no se han desarrollado análisis espectrofotométricos como en esta ocasión se lo realizará con la finalidad de corroborar el efecto de las enzimas de clarificación.

El desarrollo de este trabajo de investigación busca potenciar el uso de materias primas originarias de la provincia lo cual favorece al sector agrícola e industrial de la zona y en especial a la Asociación de mujeres ASOMA; tal es el caso que a partir del aporte tecnológico de nuestros resultados se reactivará y optimizará la producción de vinos de frutas.

1.3.3 Novedad en algún aspecto

Este estudio busca mejorar la calidad y aceptabilidad del vino de manzana, utilizando enzimas pectolíticas.

Se plantea la elaboración de Vino de Manzana con la aplicación de enzimas pectolíticas (Lallzyme C-Max) antes o después del proceso de fermentación y la utilización de dos levaduras (Levadura de panificación y Levadura Vínica LALVIN EC-1118), con la finalidad de cumplir las exigencias organolépticas de los consumidores a nivel nacional.

1.3.4 Utilidad

Desde otra perspectiva es importante mencionar que el presente trabajo de investigación forma parte del proyecto: Potenciación y Mejora de la producción de vinos de frutas de la Asociación de Mujeres Campesinas “Alborada” de la comunidad Santa Rosa (Cantón Ambato, Provincia de Tungurahua-Ecuador), de modo que uno de los principales objetivos que persigue la investigación es impulsar y potenciar la producción de vinos de frutas por parte de esta Asociación de Mujeres a través de la adelanto de conocimientos para corregir las características de vinos de frutas de la región. Consecuentemente los beneficiarios directos de este producto serán los consumidores locales y nacionales de toda clase económica y social, ya que la utilización de este tipo de enzima y de levaduras se reduce costos y se incrementa calidad.

1.3.5 Impacto

1.3.5.1 Socio económico

Es de conocimiento de todos que de acuerdo a la política que preside hoy por hoy al Ecuador los precios de los productos que provienen de la importación (bebidas alcohólicas como vinos de manzana) exhiben un incremento significativo, por lo que la fabricación de un producto similar o superior en calidad sensorial a un costo inferior se orienta a impulsar el consumo de la producción nacional.

1.3.5.2 Ambiental

En la actualidad el Ecuador y el mundo enfrentan las consecuencias de la contaminación y destrucción del ecosistema. Es el caso de los vertederos orgánicos de las actividades agroalimentarias, que a pesar de ser naturales y de no representar en general una toxicidad, dan lugar a la destrucción de la fauna y flora del medio ambiente; puesto que se vierte gran cantidad en un río o estanque la materia orgánica de las aguas residuales genera una multiplicación muy intensa de microorganismos que agotan el oxígeno disuelto del agua.

1.3.6 Factibilidad

No existe ningún factor externo o interno que perturbe la factibilidad tecnológica del estudio, por lo contrario existe una información amplia y adecuada de la correcta aplicación de las enzimas pectolíticas en la etapa de fermentación, la misma que esta proporcionada por las fichas técnicas descritas en el sección 2.4.1.13.3 del presente trabajo de investigación.

Además la asequibilidad comercial de este proyecto de investigación es evidente puesto que, la adquisición de las materias primas se la realizaría en el mercado local, sin embargo es importante mencionar que el paquete enzimático y la levadura de carácter vínico serían adquiridas desde la casa comercial LALLEMAND a través del convenio que sostiene la Universidad Técnica de Ambato con la Universidad Pública de Navarra, para la ejecución de la investigación.

1.4 OBJETIVOS

1.4.1 Objetivo general

Determinar el efecto que tiene el empleo de enzimas pectolíticas (Lallzyme C-max), en la fase de clarificación durante el proceso de elaboración de de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*).

1.4.2 Objetivos específicos

Comparar el comportamiento fermentativo de la levadura vínica (Lalvin EC 1118) frente a la levadura de panificación y el efecto sobre las características físico-químicas en mostos de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*).

Inferir el mejor tratamiento en base a los atributos evaluados durante el análisis sensorial del vino obtenido dentro de cada tratamiento.

Realizar un estudio de costos de producción del mejor tratamiento con levadura vínica y con levadura de panificación.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Luego de una revisión bibliográfica acerca de las investigaciones realizadas en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato, se ha encontrado como referencias los siguientes trabajos de grado:

PROCEL (1985), establece una alta asociación entre el °Brix en el mosto con el °Brix en el extracto y el rendimiento de producción de etanol, por lo cual el control de la fermentación alcohólica se llevó a cabo con las respectivas medidas de °Brix. Se observó que el método de prensado no afectaba en el rendimiento obtenido.

Durante el periodo de fermentación se observó que la presencia de nutrientes (principalmente la combinación de fosfato ácido de amonio con extracto de levadura) aceleró dicho proceso. Se pudo apreciar que en ciertos vinos se produjo una autoclarificación y en otros fue útil la presencia de una solución de gelatina.

VILLACRÉS (1985), concluye que en la fermentación alcohólica de mostos de mora, la levadura de vino, mostró un mejor comportamiento en cuanto al rendimiento de etanol y velocidad específica de formación de etanol. Además la incidencia de esta levadura fue notable sobre la transparencia del vino.

Se revela la gran influencia de la acidez total sobre la aceptabilidad del vino de mora obtenido.

BAYAS (1989), manifiesta que los principales objetivos de este trabajo hacen referencia al estudio de los efectos del tipo de levadura, nutrientes y tipo de preparación de mosto y fermentación en la elaboración de vinos. Siendo así que se concluye que el tipo de levadura ensayada no afecta directamente al trabajo final; con respecto al tipo de nutriente se pudo comprobar que si influye significativamente sobre el tiempo de fermentación mas no sobre el porcentaje de etanol producido.

CABRERA y col. (1989), hacen una observación desde el punto de vista de la clarificación natural puesto que esta equivale a realizar trasiegos cada 10-20 días lo cual provoca mayores pérdidas del vino y una exposición constante con el aire lo que afecta directamente las características organolépticas.

Se hace una recomendación en cuanto a la utilización de los porcentajes de transmitancia para determinar el grado de clarificación la misma que implica una centrifugación previa de la muestra de vino.

ALULEMA y col. (1993), mencionan que el método más adecuado para la obtención de vino a partir de la miel de abeja abarca la selección de miel tipo A que pertenece a miel proveniente del cantón Cevallos, combinado en un 50 % con azúcar a una temperatura de 28 ° C con nutrientes y levadura de pan.

Respecto al efecto de la temperatura en el proceso de fermentación se puede determinar que existe diferencia significativa en el pH y en el contenido de etanol.

En cuanto al tipo de levadura que se utilizó se selecciona la levadura de panificación puesto que con este tipo de levadura se obtiene un rendimiento de etanol mayor que se trabajamos con levadura de vino,

adicionalmente se acota que la levadura vínica acelera el proceso fermentativo.

FERNÁNDEZ y col. (1994), reportan que 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, °Brix, % de etanol tanto en el vino seco como en el vino dulce.

LÓPEZ (1994), sugiere tener mucho cuidado durante el ajuste del mosto puesto que se debe cuidar el valor de los grados Brix del hidrolizado a utilizar puesto que un valor demasiado alto provoca la pérdida de las características de sabor primado en este caso el sabor de este hidrolizado (papa), además que provoca una elevación de costes por el empleo de mayor cantidad de papa. Se puede acotar que la utilización de este tipo de hidrolizado en combinación con el fosfato ácido de amonio favorecen el proceso de fermentación así como también la auto clarificación del vino.

SANTANA y col. (2000), en cuanto al tiempo de decantación, la aplicación de carbón activado en la dosis comercial determino la reducción del periodo de clarificación hasta 250 horas. La adición de gelatina como clarificante determinó el mayor tiempo para la estabilización de la turbiedad, con un promedio de 400 horas.

La utilización de carbón activado fue contraproducente en la coloración del vino de banano y en cambio la aplicación de bentonita y gelatina permitieron que el color característico del vino de banano se mantenga en una buena proporción.

GAMBOA (2003), dice que la intervención de preparados enzimáticos en la producción de vino de mora de Castilla (*Rubís glaucus Benth*) mejora

el rendimiento del vino y ayuda también en la clarificación facilitando la liberación del zumo con la degradación de la pectina, lo cual se refleja en los valores de absorbancia. Además se observó que el vino en el cual se aplico el preparado enzimático presenta las mejores características en lo que respecta a su aroma.

2.2 FUNDAMENTACIÓN FILOSÓFICA

En la presente investigación se persigue un paradigma positivista, puesto que tiene como espacio de investigación el laboratorio por medio de un diseño preestructurado y esquematizado; su lógica de análisis está orientada a la confirmación, reducción, verificación inferencial e hipotética deductiva a través del análisis respectivo de resultados. Además la realidad es única y fragmentable en partes que se pueden manipular independientemente, y la relación sujeto – objeto es independiente. Este enfoque posee una realidad algo exterior, ajena, objetiva y puede y debe ser estudiada y por consiguiente conocida. (Reichart y Cook, 1986).

2.3 FUNDAMENTACION LEGAL

La base fundamental de este proyecto es el cumplimiento de las Normas INEN, perteneciente a Bebidas Alcohólicas – Vino de Frutas – Requisitos.

En la siguiente tabla se mencionan las especificaciones que se debe cumplir de acuerdo a la Norma Ecuatoriana (INEN 374) para vino de frutas.

Tabla N° 1. Especificaciones de los vinos de frutas (Norma INEN 374).

Requisitos	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Grado alcohólico, a 20°C	°GL	8	18	INEN 360
Acidez volátil, como ácido acético	g/l	-	2.0	INEN 341
Acidez total, como ácido acético	g/l	-	13.0	INEN 341
Extracto Seco	g/l	-	19	INEN 346
Metanol	% (v/v)	-	0.02	INEN 347
Cenizas	g/l	-	5.0	INEN 348
Cloruros, como cloruro de sodio	g/l	-	1.0	INEN 353
Sulfatos, como sulfato de potasio	g/l	-	2.0	INEN 354
Glicerina	g/l	1	10	INEN 355
Anhídrido sulfuroso total	mg/l	-	300	INEN 356
Anhídrido sulfuroso libre	mg/l	-	40	INEN 357

Fuente: Norma INEN AL 04.01-403

2.3.1 MÉTODOS DE ANÁLISIS

La aplicación de los métodos que se describen a continuación permitió llevar un control del comportamiento físico-químico y microbiológico durante el proceso de fermentación y maduración del vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*), así como también una evaluación sensorial del producto terminado.

2.3.1.1 Análisis físico-químicos

Los métodos utilizados para realizar los análisis físico-químicos se detallan en el Anexo G.

Sólidos solubles	Anexo G-1
pH	Anexo G-2
Acidez Total	Anexo G-3
Medidas de color y de composición fenólica	Anexo G-4
Extracto Seco	Anexo G-5
Grado Alcohólico	Anexo G-6

2.3.1.2 Análisis microbiológico

El método utilizado para el análisis microbiológico en las categorías de: anaerobios totales, coliformes totales y mohos y levaduras se detalla en el Anexo G, G-7.

2.3.1.3 Análisis sensorial

La técnica aplicada para evaluar sensorialmente los distintos tratamientos obtenidos como resultado del estudio de investigación realizados se describen en el Anexo G, G-8.

2.4 CATEGORIAS FUNDAMENTALES

2.4.1 Marco conceptual de la variable independiente

Momento de adición de la enzima pectolítica Lallzyme C-max: el desarrollo de los conocimientos después del descubrimiento de las pectinasas y sus primeras aplicaciones ha conducido al descubrimiento de estructuras poliosídicas y glucídicas más complicadas, que necesitan el empleo de enzimas más específicas. Los objetivos principales de la investigación en este campo están dirigidos a aumentar los conocimientos sobre las moléculas glucídicas y sobre el conjunto de fenómenos en que intervienen: extracción, estabilidad, filtración, clarificación, aroma. La definición más concreta

de los fenómenos macromoleculares permitirá definir las enzimas que se deben utilizar para cada tipo de resultado deseado.

El trabajo de los enzimólogos y de los industriales será por tanto buscar y producir enzimas totalmente nuevas que permitan desarrollar nuevos métodos de trabajo. La obtención de cepas (hongos filamentosos o levaduras de fermentación) híper productoras de enzimas. No obstante, el empleo de cepas recombinadas de levadura debe tener en cuenta los actuales inconvenientes relacionados con el uso de organismos modificados genéticamente (OGM) en la industria agroalimentaria. (Flanzy. C)

2.4.1.1 La manzana

Las manzanas son las más versátiles de todas las frutas caducas. Poseen una combinación única de textura crujiente y sabor agradable, que las hacen muy adecuadas para diversos usos, tanto en forma fresca como procesada. (Bayas, 1989).

Tabla N° 2. Morfología y biología de la manzana

División	<i>Esperma tophyta</i>
Subdivisión	<i>Angiosperma</i>
Clase	<i>Dicotiledonea</i>
Orden	<i>Rosales</i>
Familia	<i>Rosaceas</i>
Subfamilia	<i>Pomoideas</i>
Género	<i>Pyrus o Malus</i>
Especie	<i>Pyrus malus L</i>
Nombre científico	<i>Malus communis o Pyrus malus</i>
Nombre vulgar	Manzano

Fuente: Bayas Telmo, 1989.

Las condiciones ecológicas más favorables para el cultivo de la manzana en nuestro país son:

- Temperatura: 12° C – 18° C.
- Temperatura óptima: 14° C.
- Pluviosidad: 500 – 1000 mm
- Altura: 2000 – 2800 m.s.n.m.
- Zonas aptas para el cultivo: bosque seco montañoso bajo, bosque húmedo montañoso bajo.

A las diferentes variedades de manzana, (Bayas, 1989); las agrupa por familias de acuerdo a su origen:

- Familia Delicious
- Familia Winesap
- Jonathan
- Rome Beauty
- Wealthy
- Familia Mc. Intosh

A partir de estas familias, mediante cruzamientos naturales o artificiales, se han originado otras variedades. Existen algunas variedades que se han desarrollado bien en la provincia de Tungurahua y que producen cosechas económicas. De estas variedades conviene seleccionar aquellas que se pueden guardar en frigorífico y también las que se utilizarían en la industria. A continuación, (Bayas, 1989); describe las principales variedades ya aclimatadas a los diferentes lugares manzaneros de la provincia de Tungurahua y del país.

- Deliciosa Dorada (Golden Delicious)
- Deliciosa Roja (Red Delicious)
- Deliciosa Estrella (Starking Delicious)

- Jonathan Roja (Red Jonathan)
- Belleza de Roma (Rome Beauty)
- Banana de Invierno (Winter Banana)
- Flor de Mayo (Belle Flower)
- Emilia (*Blenheim, Reineta amarilla de Blenheim*)
- Reineta del Canadá (Emilia morada, Emilia roja)

La variedad “*Emilia*” se puede describir de la siguiente forma: Árbol vigoroso, ancho, de buenos rendimientos, susceptible al viento, cosecha tardía. Fruto grande a muy grande, redondeado por la forma es irregular, la corteza es de color amarillo – verdosa y la cara expuesta al sol es amarilla – oro con un lado rosado o rojo. El pedúnculo es corto y grueso. La pulpa es de color blanco – amarillento, dulce, jugosa, cuando se cosecha tarde es harinosa. Buena para el transporte y manejo, no se conserva bien en el frigorífico. (Saltos, 1993).

Tabla N°3. Caracterización de la manzana Emilia (*Malus communis* – *Reineta amarilla de Blenheim*)

Diámetro polar	6.30 cm
Diámetro ecuatorial	8.70 cm
Color de la corteza	35 – 13 Munsell
Color de la corteza con expos. al sol	45.00 %
Color de la corteza sin expos. al sol	55.00 %
Firmeza de la pulpa	12.50 lbs/pulg ²
Sólidos solubles	14.00 grados brix
Acidez	0.35 %
pH	3.40
Pulpa	75.90 g
Residuos	24.10 g

Fuente: Bayas Telmo, 1989.

2.4.1.1.1 Composición física y química

La manzana Emilia tiene la siguiente composición por cada 100 gramos de producto fresco. Estos compuestos en mínimas cantidades, son suficientes para provocar o acelerar reacciones de las cuales, solo la manifestación externa es perceptible a nuestros sentidos. (Bayas, 1989).

Tabla N° 4. Composición química de la manzana Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) fresca / 100 g.

Componente	Contenido	Componente	Contenido
Agua	85.0 g	Aluminio	0.88 mg
Carbohidratos	13.0 g	Manganeso	0.84 mg
Fibra	1.1 g	Hierro	0.44 mg
Grasas	0.4 g	Zinc	0.10 mg
Proteínas	0.3 g	Cobre	0.09 mg
Cenizas	0.2 g	Flúor	0.02 mg
Potasio	111.0 mg	Arsénico	0.02 mg
Fósforo	10.0 mg	Yodo	0.008 mg
Calcio	7.00 mg	Vitamina A	90.00 U.I.
Azufre	6.40 mg	Vitamina C	5.00 mg
Sodio	5.30 mg	Niacina	0.20 mg
Magnesio	5.00 mg	Tiamina	0.04 mg
Cloruro	2.50 mg	Riboflavina	0.03 mg

Fuente: INCAP, Edwin T. Mertz, 1982.

2.4.1.2 Generalidades de los vinos

Ribèreau – Gayon, define el vino como el producto natural de la fermentación del zumo de la uva. Durante el proceso de fermentación, los azúcares contenidos en el zumo de la uva (fructosa y sacarosa) se transforman en alcohol etílico. El resultado de ese proceso es el vino, una bebida compleja, viva, compuesta por alcohol, azúcar, carbohidratos, glicerol, pequeñas proporciones de vitaminas del grupo C, vitamina B, minerales (potasio, sodio, calcio, magnesio, fósforo, hierro, cobre, zinc, etc.), enzimas, proteínas, materiales colorantes, sustancias odorantes y ácidos orgánicos; hay seis ácidos principales: tres provienen de la uva (ácido málico, tartárico y cítrico) y tres de la fermentación (láctico, succínico y acético).

2.4.1.3 Preparación del mosto

Cualquier fruta que contenga niveles razonables de azúcar puede producir un vino con sabores característicos de cada fruta. Según la legislación de Brasil se establece que la graduación alcohólica de los vinos de frutas deben estar entre 10 a 14° GL, la adición de azúcar podrá ser un máximo de dos veces a la original de la fruta. (Corazza *et al.*, 2001).

2.4.1.4 Corrección de azúcar o chaptalización

La composición química media de las levaduras dotadas de poderes alcohógenos la hemos concretado a un 75% de H₂O y a un 25% de materia seca. Cuando los fermentos quedan inmersos en un medio acuoso inferior al 75% las células pierden agua por ósmosis mermándose su actividad común. Si el mosto en fermentación contiene de un 25-30% de azúcares, el porcentaje de agua es inadecuado por defecto para las levaduras, siendo su cometido escaso aunque no nulo. (Carbonell, 1970).

La fermentación alcohólica no se realiza en medios cuyas concentraciones en azúcares son superiores al 65% y están al abrigo del aire. De no cumplirse la segunda de las premisas es factible una absorción de la humedad ambiental y puede provocarse una fermentación periférica. (Carbonell, 1970).

La adición de azúcar al mosto se llama chaptalización. Fue, Chaptal quien concibió en 1802 esta idea en su libro "ARTE DE HACER LOS VINOS." Chaptal buscaba aumentar la "fuerza" del vino y asegurar su conservación. El exceso de azúcar produce una fermentación difícil y hay peligro de procesos patogénicos. (Ariansen, 2009).

Cuando la ley así lo permite se debe agregar 17 g/L los cuales aumentan el contenido alcohólico en un grado. La edulcoración debe hacerse, al inicio de la fermentación cuando el mosto empiece a calentarse. (Ariansen, 2009).

Un mosto con 10° Brix contiene aproximadamente 10% de azúcar, considerando que dos grados Brix produce aproximadamente 1°GL, se deben hacer las correcciones necesarias para lograr alcanzar la cantidad deseada de alcohol en el vino, (Corazza *et al.*, 2001).

2.4.1.5 Corrección de la acidez

La medición del pH en el vino tiene un marcado interés. Este dato es importante por su efecto sobre, microorganismos, matiz del color, sabor, potencial redox, relación entre el dióxido de azufre libre y combinado, los vinos de mesa deben tener un pH inferior a 3.6. (Barceló, 1990).

Un pH entre 3,5 y 3 facilita el desarrollo de las levaduras alcohógenas e impide la proliferación de elementos patógenos. El ácido acético se opone a la fermentación alcohólica. A dosis superiores a 1 gr/l de mosto es la causa

de la producción de vinos agrdulces de muy difícil re fermentación. (Tratado de vinicultura, 1970).

El pH excesivo en el vino resulta en problemas de diferentes tipos, pero si pudiéramos destacar uno de ellos, sería el de los riesgos microbianos. Un pH alto, es decir, una acidez baja hace que el riesgo de alteraciones debido a microorganismos se eleve notablemente en los vinos. A parte de problemas microbianos existen otros inconvenientes que también inducen los pH altos, como puede ser una mayor oxidación de los mostos o de los vinos y problemas de clarificación. El pH reportado para una buena iniciación de los vinos es de 3.4 a 3.5 como máximo y en acidez total un mínimo de 6.1g/L, expresados en ácido tartárico. (Bodegas, 2005). [38]

Es preciso corregir la falta de acidez total de los mostos. De no hacerse, a más de dificultar el cometido transformativo de los fermentos se lograrán vinos turbios, insípidos, cuya conservación queda en entredicho. Para dotar de potabilidad a los mismos habrá que aumentarles la acidez total, con ácidos tartárico o cítrico, siempre acompañados de cantidades convenientes de SO_2 . *Es preferible la corrección del mosto a la del vino después. La acidez total adecuada en los mostos repercute en un mayor rendimiento alcohólico de la fermentación y en una mejor calidad del vino resultante.* (Carbonell, 1970).

Para aumentar la acidez de los vinos, se usan principalmente el ácido tartárico y el cítrico. En condiciones iguales, el ácido cítrico tiene un poder ácido superior al tartárico y su poder disociante es mayor. La disminución de la acidez se efectuará adicionando carbonato de calcio el cual disminuirá la acidez en 1° al adicionar 1.0 g/L $CaCO_3$. Una importante vía de acidificación biológica es la selección y utilización de levaduras productoras de ácidos orgánicos en el curso de la fermentación alcohólica. La hipótesis más difundida postula dicha formación por fijación de CO_2 sobre el piruvato,

producto final de la glucólisis, para dar oxaloacetato que es reducido a continuación a ácido málico. (Yeramian, *et al.*, 2001);(Sepúlveda, 1999).

2.4.1.6 Rol del SO₂ en el vino

Fuertes cantidades de sulfuroso sumadas a un mosto en fermentación con exceso de temperatura (de 20 a 40 gramos por hectolitro) disminuyen la actividad fermentativa, con el consiguiente descenso termométrico. Dosis altas de sulfuro pueden dificultar los finales de la fermentación, así como dotar al vino resultante de excesos de SO₂ combinado. (Carbonell, 1970).

El pardeamiento oxidativo de los vinos durante la producción y el almacenaje fue considerado por mucho tiempo un gran problema en la industria vinícola. El pardeamiento puede ser debido a reacciones enzimáticas y no enzimáticas, ya que el vino contiene una gran cantidad de compuestos fenólicos que son susceptibles a oxidación. El SO₂ es efectivo para controlar la presencia de microorganismos no deseados y los cambios de color en el vino al reaccionar con el acetaldehído y bloquearlo bajo la forma de combinación sulfítica estable, proporciona un mejor gusto, conservando la frescura y el aroma (Clariss *et. al*, 1991; Bonilla *et al.*, 2001).

La necesidad del uso de SO₂ para mantener la calidad de vinos fue estudiada por Ough (1985). Los problemas causados por la falta de SO₂ aumentaron dramáticamente al aumentar la temperatura de almacenaje. Vinos de frutas, incluidos los sin alcohol, no deben contener mas de 200 mg/L SO₂ (Aztí- Difusión Tecnológica, 2001). Sin embargo, un exceso en la adición de este aditivo conllevaría problemas de diversa índole. Una alta concentración de dióxido de azufre puede alterar el aroma y el sabor del vino, puede provocar una excesiva formación de sulfuro de hidrógeno y mercaptanos, e incluso puede ser nociva para la salud del consumidor. Por esta última razón los niveles máximos de anhídrido sulfuroso en el vino están regulados por ley. (Zamora, 2005). [7]

2.4.1.7 Uso de Antisépticos

Dos son los antesépticos más generalizados y parcialmente autorizados por las legislaciones vícolas: el anhídrico sulfuroso y el ácido sórbico. El SO₂ es unánimemente aceptado. Ambos se oponen, a dosis excesivas, a la acción alcoholizante de las levaduras. Las cantidades de SO₂ que admite un mosto en fermentación son proporcionales a la concentración de azúcares, a la acidez total (valor de pH bajo) y a la temperatura. El sulfuroso desarrolla una acción dirigente y selectiva sobre las levaduras. Inactiva con prontitud las *tóru*las y las *Kloeckera apiculatis* en beneficio de la *Sacaromices elipsoideus*, la verdadera artífice del vino (Carbonell, 1970).

2.4.1.8 Fermentación

Pasteur, uno de los mayores genios de la humanidad, con sus experiencia llenas de minuciosos detalles, sentó los principios de las confusas causas de la fermentación estableciendo que eran debidas a la acción directa de seres microscópicos. (Carbonell, 1970).

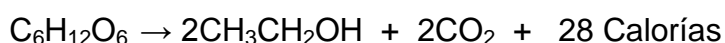
(Carbonell, 1970). El vocablo fermentación tan solo significa (en su origen) un simple burbujeo motivado por el desprendimiento de gases. Gay-Lussac amplió el significado definiéndola como la escisión de un azúcar en un alcohol y dióxido de carbono.

Bioquímicamente, fermentación es el conjunto de transformaciones químicas que se experimentan por la acción de seres microscópicos en un sustrato orgánico. (Carbonell, 1970).

2.4.1.8.1 Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es el desdoblamiento del azúcar en alcohol y dióxido de carbono, como consecuencia de la vida y desarrollo de un organismo particular, el fermento alcohólico o levadura. (Kretzschmar, 1961).

Gay—Lussac desarrolló el siguiente esquema del proceso fermentativo:



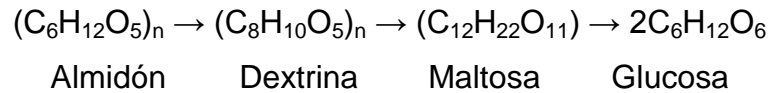
Gay – Lussac obtuvo de 45 partes de glucosa, 22 de dióxido de carbono y 23 de alcohol, resultados corroborados posteriormente por Pasteur, quién obtuvo de 100 partes de azúcar los rendimientos siguientes:

Alcohol Etílico	48.60%
CO ₂	46.60%
Glicerina	3.60%
Acido Succínico	0.70%
Células de Levadura	1.10%

Como se ve, se forman también glicerina y ácido succínico. Estos productos secundarios se creía que se derivaban de la fermentación del azúcar, pero actualmente parece que la glicerina se deriva de las grasas acumuladas en las levadura y el ácido succínico de los aminoácidos producidos por la desintegración de las proteínas, ya sea del medio de cultivo o del protoplasma de las mismas levaduras. (Rankine, 2000).

Estas reacciones se efectúan en presencia de catalizadores bioquímicos, llamados enzimas, diastasas o asas, que desempeñan un papel esencial en el metabolismo de los seres vivos, como en la síntesis y en la degradación. La acción enzimática, con frecuencia rápida, se ejerce a temperaturas ordinarias (generalmente de 30° C a 60° C) en un dominio estrecho de acidez; cada enzima tiene un pH óptimo de actividad (Vogt, 1971). [34]

La hidrólisis enzimática de carbohidratos complejos como el almidón se efectúa en varios pasos, como se muestra a continuación:



2.4.1.8.2 Transformación del almidón en azúcar

Los procesos encaminados a la producción de azúcar fermentable están basados en la degradación del almidón. Cheftel (1976), señala que la ruptura del almidón hasta azúcares solubles durante el proceso de elaboración de la cerveza mediante enzimas propias de la malta, es importante para la producción de alcohol mediante los métodos tradicionales.

Cualquiera que sea la materia prima, el almidón sigue siendo el ingrediente básico. El almidón se compone de cadenas largas de moléculas de glucosa, que es necesario degradar en moléculas más pequeñas para que la levadura pueda transformarlas en alcohol. Este proceso pueden realizarlo las enzimas en dos fases: licuefacción y sacarificación. (Del Pozo *et. al*, 2004).

La sacarificación es el proceso de transformación del almidón en glucosa, se efectúa por medio de una diastasa, fermento natural que se desarrolla en las semillas al tiempo de la germinación y que su misión es transformar en azúcar el almidón. (Durán, 1968).

La concentración de azúcares fermentables debería estar correctamente ajustada para ser adecuada a un método particular de fermentación y para asegurar que los azúcares residuales después de la fermentación sean mantenidos al mínimo. . (Durán, 1968).

Cheftel (1976), señala que la elevada especificidad de las reacciones enzimáticas, acopladas con la gran actividad de las preparaciones disponibles, ha permitido el que pueda ser incrementada y además la no formación de derivados indeseables se ha minimizado.

2.4.1.8.3 Bioquímica de la alfa y beta amilasa

La α -amilasa (1-4- α -glucosidasa), se encuentra muy difundida en la naturaleza. Es la enzima que permite la digestión de los almidones por la saliva y en el jugo pancreático de los animales. La α -amilasa ataca, al azar, los enlaces alfa 1,4 de la amilosa y de la amilopectina provocando un descenso rápido de la viscosidad de las soluciones y dando polisacáridos de tamaño pequeño, pero con muy pocos disacáridos o glucosa. (Cheftel, 1976).

La β -amilasa (1-4- β -glucosidasa) se halla presente en la malta (cebada germinada), ataca la amilosa y la amilopectina a partir de los extremos no reductores de la cadena liberando restos sucesivos de maltosa. La maltosa puede ser hidrolizada a glucosa por la maltasa (α glucosidasa). (Cheftel, 1976).

2.4.1.9 Fermentación Maloláctica y las Bacterias Lácticas

A partir de 1922-1928 en la región de Borgoña, con los trabajos de L. Ferré (1922) y sobre todo a partir de 1936-1938 con los de J. Ribéreau-Gayon en Burdeos, quedo establecida la existencia normal y general del fenómeno. Sobre todo se demostró la importancia de este fenómeno secundario que representaba una etapa esencial de la vinificación de los grandes vinos tintos. No obstante, las nociones correspondientes, en apariencia simples, fueron difíciles de admitir. Durante mucho tiempo la fermentación maloláctica fue descrita, en las obras de enología, en el capítulo de enfermedades de los vinos. Simultáneamente algunas escuelas de enología oficial discutían la

existencia misma, y sobre todo el interés, de esta fermentación secundaria. (DONÈCHE B. DUBOURDIEU D. LONVAUD A. RIBÈREAU-GAYON, 2003).

La importancia y la utilidad de la fermentación maloláctica tardaron en ser establecidas, pues va acompañada de la intervención de bacterias lácticas, agentes de enfermedad; su presencia frecuente en las vinificaciones en tinto se suponía correspondía a un inicio de alteración que era necesario evitar. Pasteur decía que las levaduras hacen el vino y las bacterias lo destruyen. No era simple admitir la idea de que una misma bacteria pueda ser buena cuando degrada el ácido málico y mala cuando ataca a otros constituyentes. (DONÈCHE B. DUBOURDIEU D. LONVAUD A. RIBÈREAU-GAYON, 2003).

Las bacterias lácticas deben intervenir sólo cuando las levaduras hayan fermentado todo el azúcar. Se debe evitar una interferencia entre ambas fermentaciones, ya que compromete la finalización de la fermentación alcohólica y puede provocar un aumento importante de la acidez volátil, por descomposición de los azúcares por las bacterias. Cuando no hay azúcares, el desarrollo de las bacterias se traduce por la degradación del ácido málico, molécula fácilmente biodegradable. Pero ni bien terminada la fermentación maloláctica, las mismas bacterias lácticas pueden tornarse perjudiciales si no se tomaron las precauciones necesarias. En efecto, son susceptibles de descomponer las pentosas, el glicerol, el ácido tartárico etc. con la aparición de enfermedades clásicas (picadura, amargor, tourne) que se traducen por un aumento más o menos importante de la acidez volátil y de la acidez láctica (en consecuencia de la acidez total). (DONÈCHE B. DUBOURDIEU D. LONVAUD A. RIBÈREAU-GAYON, 2003).

2.4.1.10 Influencia de agentes Físicos y Químicos sobre el balance de la fermentación alcohólica.

2.4.1.10.1 Temperatura

A una temperatura inferior a los 10°C la vida celular se paraliza, no existiendo reproducción ni actividad alguna. En forma esporulada las células alcoholizantes resisten temperaturas muy bajas (- 20°C), reactivándose con plena normalidad cuando el medio retorna a condiciones favorables. (Carbonell, 1970).

Las levaduras acusan con intensidad los efectos nocivos de una elevación térmica: (Carbonell, 1970).

Un mosto queda estéril a los 120°C. Sobre los 40°C la reproducción celular por gemación se paraliza. En la fermentación de un mosto nunca deben sobrepasarse los 40°C. La acción de las levaduras es máxima a los 30-35 °C (según zonas). Sobre este punto máximo la actividad decrece en progresión hasta paralizarse a los 40°C.

De los 20 a los 25 °C la reproducción es intensa, culminando en el punto máximo (30-35°C). Sobre los 10°C la actividad vital de las levaduras va en aumento, a medida que la temperatura aumenta. Por debajo de los 10°C toda manifestación de vida celular es anulada.

La temperatura más adecuada para realizar la fermentación alcohólica se sitúa entre los 18 – 23° C y es la que se emplea generalmente en la elaboración de vinos blancos. Por encima de 33 - 35°C el riesgo de la fermentación es muy elevado, al igual que el de alteración bacteriana, ya que a estas elevadas temperaturas las membranas celulares de las levaduras dejan de ser selectivas, emitiendo substratos adecuados para las bacterias. (Ribèreau – Gayon, 2003).

2.4.1.10.2 Aireación

Durante mucho tiempo se pensó que las levaduras eran microorganismos anaerobios estrictos, es decir, debía realizarse la fermentación en ausencia de oxígeno. Sin embargo, es un hecho erróneo ya que requieren una cierta aireación. No obstante una aireación excesiva es totalmente inadecuada debido a que puede afectar la obtención del vino ya que, entre otras consecuencias no obtendríamos alcohol sino vinagre y anhídrido carbónico debido a que las levaduras, cuando viven en condiciones aeróbicas, no utilizan los azúcares por vía fermentativa sino oxidativa, para obtener con ello mucha más energía. (Herbert, 1986).

2.4.1.10.3 pH

El sustrato debería ajustarse a un pH óptimo de 3.5, que es el más adecuado para la vida de las levaduras. Cuanto menor es el pH, las levaduras tendrán dificultad en la fermentación; aunque más protegido se encuentra el alcohol ante posibles ataques bacterianos. Además, la fracción de sulfuroso que se encuentra libre será más elevada. (Del Pozo *et. al*, 2004).

2.4.1.10.4 Nutrientes y activadores

El principal activador para que se realice el proceso fermentativo son las levaduras, pero una vez superado el periodo inicial de adaptación, las poblaciones de levaduras y bacterias se incrementan rápidamente, pero estas últimas pierden la batalla de la supervivencia, permaneciendo durante gran parte del proceso fermentativo en un estado de latencia. La velocidad del proceso fermentativo está totalmente ligada a la densidad de población de levaduras fermentativas: se aprecia una primera etapa de adaptación, seguida de una segunda etapa de crecimiento exponencial (fermentación tumultuosa, es decir muy viva y agresiva, con gran desprendimiento de carbónico) que va siendo cada vez menor hasta llegar a una etapa de

crecimiento poblacional nulo, es decir nacimientos igual defunciones. Tras esta etapa la mortalidad comienza a ser mayor a la multiplicación, lo que corresponde a las últimas fases de la fermentación. (Kretzschmar, 1961).

Las levaduras fermentativas necesitan los azúcares para su catabolismo, es decir para obtener la energía necesaria para sus procesos vitales, pero además necesitan otros substratos para su anabolismo como son nitrógeno, fósforo, carbono, azufre, potasio, magnesio, calcio y vitaminas, especialmente tiamina (vitamina B1). Por ello es de vital importancia que el medio disponga de una base nutricional adecuada para poder llevar a cabo la fermentación alcohólica. Una deficiencia de los nutrientes hará que las levaduras ataquen las gigantescas proteínas, liberándose H₂S (aroma a huevos podridos). La presencia de esteroides y ácidos grasos insaturados es también necesaria obteniéndolos inicialmente del mosto y posteriormente de las células madres. Esteroides y ácidos grasos insaturados de cadena larga son necesarios fundamentalmente para que sus membranas celulares puedan ser funcionales. (Hough, 1990).

Por otro lado, las enzimas son importantes en la fermentación alcohólica, sin embargo, son las levaduras y las bacterias las que empiezan a sobrevivir y multiplicarse en este medio. Inicialmente el mosto supone un medio adecuado, pero poco a poco este medio se va haciendo más inhóspito debido a la formación de alcohol además hay disminución de azúcares necesarios para su catabolismo y reducción de los nutrientes necesarios para su anabolismo. (Ribèreau – Gayon, 2003).

En la Tabla 5 se muestra las principales enzimas que pueden intervenir en la fermentación alcohólica y los grupos a los cuales pertenecen:

Tabla N°5. Enzimas que intervienen en la fermentación alcohólica

Grupo	Nombre	Tipo de Reacción
Deshidrogenasa u Oxidoreductasa	Deshidrogenasa de Fosfato de Triosa Deshidrogenasa Alcohólica Carboxilasa	Reacciones de Oxido – Reducción
Transferasas	Hemocinasa Fosfatoexocinasa Fosfocinasa del Acido Fosfoglicérico Fosfocinasa del Acido Pirúvico	Transferasas de grupos amino, Fosfato de Glucosa
Hidrolasas	Invertasa	Desintegración del sustrato mediante la adición de agua
Liasas	Aldolasa Enolasa	Separación de grupos formando dobles enlaces o adición de grupos a los dobles enlaces
Isomerasas	Fosfoexoisomerasa Isomerasa de Fosfato de Triosa	Formación de Isómeros
Ligasas	Sintetasas	Acoplamiento de dos moléculas de sustrato con degradación de adenosintrifosfato similar

Fuente: DONÈCHE Bernard – DUBOURDIEU Dennis – LONVAUD Aline – RIBÈREAU-GAYON Pascal. 2003. “Tratado de Enología: Tomo 1. Microbiología del Vino - Vinificaciones”.

Las enzimas son sustancias capaces de aumentar o retrasar la transformación de otras sustancias en productos diversos, permaneciendo inalterables hasta el término de la reacción. Las enzimas hidrolizantes se desarrollan sobre sustancias diversas, pero las más útiles en destilería, son las que actúan y transforman los carbohidratos infermentecibles en azúcares fermentecibles. (Ribèreau – Gayon, 2003).

2.4.1.10.5 Inhibidores

Es importante pasteurizar el mosto para evitar la presencia de inhibidores, así como restos de productos fitosanitarios y ácidos grasos saturados de cadena corta. (Kretzschmar, 1961).

2.4.1.11 Levaduras

Las levaduras por medio de un proceso bioquímico denominado fermentación alcohólica transforman los azúcares del mosto en etanol, CO₂ y otros compuestos químicos y con ello el mosto en vino. Se recomienda hacer fermentaciones a escala de laboratorio para intentar simular las condiciones de fermentación que posteriormente se utilizarán en la bodega. Hay ciertas propiedades que muestran las levaduras y que nos llevan a tomar la decisión de emplearlas o no en la elaboración de un vino en particular. (Mas *et. al*, 2002).

En la siguiente tabla, se sintetizan las características deseables y no deseables que se producen con las levaduras empleadas en la industria de los vinos (Degre, 1993; Torija, 2002; Ndip *et al.*, 2001).

Tabla N°6. Algunas de las características deseables y no deseables en la selección de levaduras para la producción de vinos de calidad

Características deseables	Características no deseables
Alta tolerancia al etanol	Producción de SO ₂
Total degradación de los azúcares fermentables	Producción de H ₂ S
Resistencia al SO ₂	Producción de acidez volátil
Capacidad fermentativa a bajas temperaturas	Producción de acetaldehído y piruvato
Máxima reducción de la fase de latencia	Producción de espuma
Degradación del ácido málico	Formación de precursores del carbonato de etilo
Capacidad fermentativa a altas presiones	Producción de polifenol oxidasa

Fuente. Degre, 1993.

Ante la necesidad de asegurar la uniformidad en la calidad del producto y el hecho de que hay un gran número de variables que intervienen en una fermentación espontánea, los enólogos han convertido en su práctica usual el uso de levaduras secas activas (LSA) (Torija, 2002).

La inoculación con LSA favorece un inicio más rápido de la fermentación (generalmente se reduce la fase de latencia) y un consumo total de los azúcares fermentables, reduciendo los posibles problemas de fermentación; además permite un mayor control microbiológico. Se ha demostrado que con esta práctica se obtiene un producto de una calidad más uniforme a lo largo de todo el proceso para la obtención del vino (Ribéreau, 1985; Vivas *et al.*, 2003).

2.4.1.12 Levadura vínica

El presente trabajo de investigación empleo un levadura vínica específica, la misma que es distribuida por LALLEMAND, (Casa comercial Chile). A continuación se cita la ficha técnica de la misma.

2.4.1.12.1 LEVADURA: LALVIN EC – 1118

Selection Champenoise

Vignoble Champagne

Saccharomyces cerevisiae bayanus

SEGURIDAD FERMENTATIVA, RESPETO VARIETAL Y TOMA DE ESPUMA

La seguridad fermentativa es uno de los objetivos esenciales que persigue el enólogo. Sin embargo, es a veces difícil de conseguir con ciertas levaduras teniendo en cuenta la variedad de los procesos de vinificación y la multiplicidad de los terroirs.

Gracias a sus grandes aptitudes fermentativas en una amplia gama de condiciones, Lalvin EC 1118 es la levadura “todo terreno” por excelencia.

Su neutralidad aromática asociada a sus cualidades fermentativas hace que sea igualmente utilizada para la fermentación de vinos base, toma de espuma, como para la reactivación de fermentaciones paradas. También se emplea para la vinificación de variedades nobles, ricas en precursores aromáticos varietales.

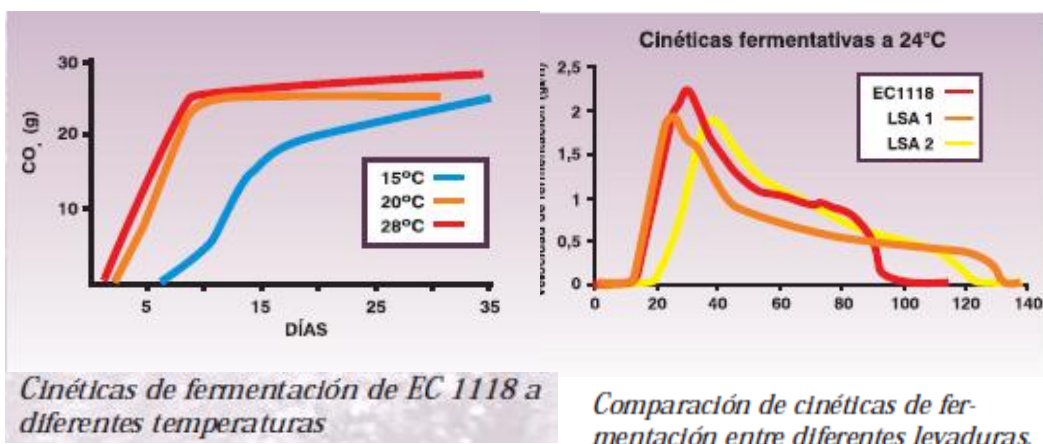
Esta levadura ha sido aislada en Champagne y su utilización fue validada por el Comité Interprofessionnel des Vins de Champagne (CIVC) para la segunda fermentación en botella.

Propiedades microbiológicas y enológicas:

- *Saccharomyces cerevisiae bayanus*
- Posee factor killer
- Tolerancia al alcohol elevada: hasta 18 % alcohol
- Fase de latencia corta
- Rápida cinética fermentativa en un rango amplio de pH
- Amplia gama de temperatura de fermentación, incluyendo las bajas temperaturas (óptima entre 10 a 30 °C)
- Baja necesidad en nitrógeno asimilable
- Baja necesidad en O₂ (sobre todo a baja T°)
- Producción baja de acidez volátil
- Producción media de SO₂
- Producción baja de SH₂
- Escasa producción de espuma

Dosis de utilización:

- Vinificación en blanco, tinto y rosado 20 a 30 g/hl
- Toma de espuma 50 g/hl
- Tratamiento de paradas de fermentación 40 g/hl



Cinéticas de fermentación de EC 1118 a diferentes temperaturas

Comparación de cinéticas de fermentación entre diferentes levaduras.

2.4.1.13 Las enzimas

La transformación que tiene un fruto no madurado hasta el momento de ser apto para el consumo representa un conjunto de procesos biológicos estrechamente relacionados con numerosos sistemas enzimáticos.

Las enzimas que intervienen en enología proceden del mismo grupo, de microorganismos y de mohos patógenos que tienen una acción beneficiosa o desfavorable en la evolución de los productos. También se utilizan preparaciones industriales con actividades enzimáticas principales o secundarias. (FLANZY. C)

2.4.1.13.1 Enzimas de uso tecnológico en alimentos

(Kolb, 2002). Para las frutas con pepitas sólo es imprescindible para las manzanas que se han almacenado demasiado tiempo (en cámara). La fermentación enzimática del macerado también llamada enzimado, mejora la capacidad de prensado de la fruta, es decir favorece un aumento del rendimiento del zumo. En el proceso de las bayas, como grosellas, fresas, etc. Siempre está indicada la fermentación enzimática. El contenido en pectinas de estos frutos es tan alto que producen unos macerados muy viscosos y por lo tanto difíciles de prensar. La descomposición de la pectina favorece su prensado. Aparte de ello con estos frutos la fermentación enzimática aumenta la producción de colorantes (extracción colorantes), porque se rompen los enlaces químicos de los colorantes con la pectina.

Los productos industriales son comercializados con una denominación que recuerda alguna etapa tecnológica específica (enzimas petrolíticas, etc.); en realidad, corresponden a preparados que tienen diversas actividades enzimáticas, si bien generalmente hay una que es la principal. (FLANZY. C)

Existen cuatro clases de enzimas, elegidas por su especial importancia en enología:

1. Oxido-reductasas: las polifenoloxidasas
2. Enzimas relacionadas con la formación de aldehídos y alcoholes en C₆.
3. Glicohidrolasas
4. Peptidasas y proteasas

1. Las polifenoloxidasas: A partir de la ruptura de la estructura celular durante las operaciones prefermentativas realizadas con la uva la disolución de oxígeno da lugar a ciertas oxidaciones que modifican, con distinta intensidad, la composición química inicial del mosto y del vino. Estas oxidaciones son de origen enzimático, interviniendo diversas oxidoreductasas: peroxidasa, lipoxigenasa y fenoloxidasa.
2. Enzimas relacionadas con la formación de aldehídos y alcoholes en C₆: Diferentes estudios han permitido definir los mecanismos relacionados con su formación. Desde 1966 *Drawert et al.*, han demostrado que la formación de aldehídos de seis átomos de carbono aparecía durante el estrujado de las frutas. Se ha demostrado el carácter enzimático de la reacción por existir una inhibición por el metanol y por acción del calor. Además, *Drawert et al.*, (1966) han demostrado que los precursores, substratos de la o de las enzimas implicadas en la reacción eran los ácidos grasos poliinsaturados y el oxígeno.
3. Glicohidrolasas: El término glicohidrolasas agrupa el conjunto de enzimas que catalizan la hidrólisis de enlaces osídicos, bien entre dos grupos glucídicos en cadenas oligo-ó poliosídicas, o bien entre un glúcido y una unión no glucídica como por ejemplo un núcleo fenólico en el caso de los antocianos o una molécula volátil en el caso de los precursores de aromas. Este grupo abarca un gran número de enzimas conocidas, que han sido clasificadas según su especificidad de sustrato y de su modo de actuación.

En efecto, el nombre de cada glicohidrolasa describe la naturaleza de sus substrato glucídico, la anomería del enlace hielcolizado así como su modo de actuación que puede ser de tipo *endo*-(ataque enzimático al azar dentro de la cadenas)*exo*-(ataque de una cadena poliosídica a partir del extremo terminal no reductor) o *glicosidasa* (liberación de un residuo glucídico terminal). (FLANZY. C)

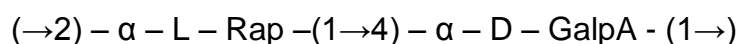
2.4.1.13.2 PECTINASAS

Enzimas que degradan las cadenas homogalacturónicas de las pectinas

Estas enzimas degradan la cadena principal de las pectinas y constituye el grupo de pectinasas más antiguo y mejor conocido (Marteau, 1972; Rexová-Benková y Markovic, 1976; Pilnik, 1982). La endo-poligalacturonasa y la exopoligalacturonasa catalizan la hidrólisis de los enlaces entre ácidos galacturónicos no metilados y unidos en α (1 \rightarrow 4). Su actividad es posible gracias a la acción previa de la pectina-metilesterasa que libera el metanol unido por enlace éster a las funciones carboxílicas de los ácidos de las pectinas naturales de la uva.

Enzimas que degradan los ramnogalacturonanos I

Este grupo de enzimas, descritas en 1990, cataliza la degradación de las cadenas de ramnogalacturonano I que están basadas en la repetición del disacárido:



Rap: ramnopiranososa

GalpA: ácido galactopiranosilurónico

Varias enzimas consideradas como protopectinas, pues permiten la liberación de pectinas naturales a partir de las paredes vegetales,

pertenecende hecho al grupo de las rhamnogalacturonasas (Skamoto y Sakai, 1994).

Enzimas que degradan el ramnogalacturonano II

Ninguna de las enzimas producidas por *Aspergillus niger* permiten la degradación del ramnogalacturonano II, que ha podido ser definida como un polisacárido péctico resistente a las hidrólisis enzimáticas. Puede explicarse esta resistencia por la diversidad de enlaces osídicos raros dentro de la molécula y por el encubrimiento estérico creado por las cadenas laterales. No obstante, se han obtenido enzimas que permiten la degradación del ramnogalacturonano a partir de cepas de *Penicillium* (Pellerin et al., 1995; Vidal et al., 1998). No se ha precisado todavía su modo de actuación.

Enzimas que degradan las cadenas laterales de las pectinas

Las cadenas laterales neutras de galactanas, arabinanas y arabinogalactanas están unidas a los residuos de ramnosa de las cadenas de ramnogalacturonano I.

Las glicosidasas descritas anteriormente tienen un papel importante en la degradación de sustancias pécticas neutras. De este modo, la liberación previa de los residuos de arabinosa es indispensable para la degradación de las cadenas de galactosa de los arabigogalactanos de tipo I o II. Esta degradación implica las endo (1→4)-β-D-galactanoasa y exo(1→3)-β-D-galactanoasa. La degradación de las cadenas lineales de arabinosa después de la acción de una arabinosidasa sobre los arabinanos es segura debido a la endo α-(1→5)-arabinanosa.

2.4.1.13.3ENZIMA: Lallzyme C-MAX

Aplicación: Clarificación de mostos y vinos

Descripción: Pectinasa granulada de alta concentración. Específica para la clarificación en condiciones extremas (alto contenido de pectina, baja temperatura). Origen: *Aspergillus niger*

Actividad y modo de acción: Lallzyme C-MAX contiene un nivel óptimo de las tres principales pectinasas relacionadas con la hidrólisis de las pectinas: poligalacturonasas, pectinesterasas y pectinliasas.

Lallzyme C-MAX es un preparado enzimático con alta especificidad debido a su alto nivel de enzimas con actividad “endo” (pectinliasa y endopoligalacturonasa) otorgando al producto propiedades únicas:

- Rápida disminución de la viscosidad
- Eficiente incluso a bajas temperaturas (min. 5°C)
- Mejora de la sedimentación

Dosis:

Condiciones Normales:

Clarificación estática del mosto	12-20 °C/3-12 hrs	0,5 g/hl
----------------------------------	-------------------	----------

Condiciones Difíciles:

Clarificación estática del mosto	5-12 °C/3-12 hrs	1-2 g/hl
----------------------------------	------------------	----------

Modo de uso:

Disolver la enzima en una cantidad suficiente de agua o mosto (proporción 1 en 100) para asegurar una completa distribución en el volumen total de mosto o vino.

Presentación, almacenamiento y manipulación.

LALLZYME C-MAX está disponible en botes de plástico sellados de 250 g, en cajas de cartón de 2,5 Kg (10 x 250 g).

- Los envases sellados deben ser almacenados en lugar seco a temperatura ambiente. Consultar la parte inferior donde se indica la fecha de caducidad.
- Debe evitarse el contacto directo con la piel. Las enzimas pueden causar sensibilidad por inhalación

2.4.2 Marco Conceptual de las Variables Dependientes

Excesivo tiempo para la clarificación de mostos de manzanas fermentados: Hace relación al efecto que produce la aplicación de un paquete enzimático en la producción de un vino a partir de un mosto clarificado frente al tiempo que requiere un vino que parte de un mosto no clarificado, para llegar a alcanzar el grado de transparencia característico de un vino blanco producido a partir de manzana. Así también se busca establecer la eficiencia de la enzima dentro de la operación de clarificación en: el rendimiento y la facilidad de la conservación de las características organolépticas de la materia prima, lo que se refleja en la aceptabilidad del producto final.

2.4.2.1 Composición Química del vino de Uva

De la fermentación del mosto de la uva resulta un líquido hidro-alcohólico-ácido que es el vino. Sus componentes provienen de los cambios experimentados en la fermentación alcohólica y del propio mosto en principio, luego en el vino van sucediéndose toda una serie prácticamente ininterrumpida de transformaciones que dan lugar a unos nuevos componentes: son los fenómenos redox y de esterificación. (Carbonell, 1970).

La composición química del vino varía en el curso de su existencia (Carbonell, 1970).

2.4.2.1.1 Agua

Cuantitativamente, es el primer componente del vino, actuando como disolvente de los demás. El agua que un vino contiene, procedente de la vendimia, es inversamente proporcional al estado de madurez del fruto y a la cantidad de alcohol producido en la fermentación. (Carbonell, 1970)..

(Carbonell, 1970). Un vino con exceso acuoso ofrece el inconveniente de su difícil conservación, y de tener que destinarle a la quema la de su destilación incluso. Tampoco la vinagrería acepta porcentajes alcohólicos exageradamente bajos.

2.4.2.1.2 Azúcares

Los principales azúcares presentes en el mosto son la glucosa y la fructosa, otros azúcares se encuentran en la uva pero en proporciones insignificantes. La concentración de azúcares es crítica para el desarrollo de las levaduras durante la fermentación, la principal levadura del vino (*Saccharomyces cerevisiae*) se alimenta principalmente de glucosa y fructosa. Los azúcares no consumidos tras la fermentación se suelen denominar azúcares residuales (suelen ser pentosas como la arabinosa, la ramnosa y la xilosa). La concentración de estos azúcares residuales puede aumentar durante la maduración en madera debido a la escisión de moléculas de glucósidos presentes en la madera. (Ribèreau – Gayon, 2003).

El azúcar residual es importante en la tonalidad dulce de un vino, mientras que la presencia de azúcares no residuales afecta sólo a la fermentación. La

presencia de azúcares residuales en los vinos da lugar a una clasificación entre vinos secos y vinos dulces. Por regla general la presencia de una concentración de azúcares de menos de 1.5 g/litro hace que el paladar no detecte el sabor dulce, por encima de un 0.2% del volumen los sentidos empiezan a detectar el sabor dulce del vino. La mayoría de la gente detecta un dulzor si alcanza una concentración de un 1% y la presencia de taninos ácidos así como el etanol. (Ribèreau – Gayon, 2003).

2.4.2.1.3 Alcohol etílico

Es el segundo de los componentes del vino en cuanto a cantidad también, oscilando del 8 al 18 % en vinificaciones normales. En vinos elaborados por adición alcohólica puede alcanzar el 23%. El alcohol etílico contribuye eficientemente a la solubilización de muchos de los componentes restantes del vino, insolubilizando el crémor tártaro que deposita en las paredes y fondos de los recipientes vinarios. Una concentración alcohólica suficiente impide el desarrollo de gérmenes patógenos en el vino (Carbonell, 1970).

La fermentación alcohólica es un proceso metabólico anaeróbico (en ausencia de oxígeno) que permite a las levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*) consumir los azúcares del mosto para liberar dióxido de carbono y alcohol etílico (etanol) que permanece en disolución el vino final. La concentración de alcohol se suele medir en porcentaje de volumen total. El contenido de alcohol etílico varía dependiendo del tipo de uva y de las condiciones, por ejemplo en los vinos de mesa está entre los 7%-14%, en los espumosos 11%-13%. La forma más común para averiguar el contenido de alcohol en un vino es medir el punto de ebullición. Informes del contenido de metanol en vinos de todo el mundo indican concentraciones de 60 mg/litro (en un rango que va desde 40-120 mg/litro) para los vinos blancos y 150 mg/litro (en un rango de 120-250 mg/litro) para los vinos tintos. (Ribèreau – Gayon, 2003).

2.4.2.1.4 Otros alcoholes

La glicerina es un alcohol poco volátil, producto de los fermentos alcohógenos al descomponer los azúcares de manera especial en la fermentación lenta. Su punto de vaporización es de 275°C. (Carbonell, 1970).

En estado puro la glicerina es un líquido siruposo, incoloro y de sabor dulce. Al vino le presta una marcada suavidad, encontrándose en proporciones variadas y oscilantes entre 1 y 12 gramos por litro, en función del contenido de etanol (relación directamente proporcional). La formación del ácido acético (de acción contraria a la fermentación alcohólica) dificulta la producción de glicerina. El empleo del sulfuroso, al permitir la un equilibrado desarrollo fermentativo, favorece la formación de la misma. (Carbonell, 1970).

El alcohol metílico, el primero de la cadena alcohólica, aparece en la casi totalidad de los vinos. En los vinos fermentados con los orujos puede encontrarse hasta 0,5 gramos por litro de metanol. (Carbonell, 1970).

La producción de alcoholes superiores en la fermentación es debida a la desaminación y descaboxilación de determinados aminoácidos. El amílico es el que normalmente aparece de manera más abundante. Otros pueden ser el enántico, el propílico, el butílico, etc. (Carbonell, 1970).

2.4.2.1.5 Ácidos

En el vino existe una mayor proporción de sustancias orgánicas de carantes ácido que en el mosto, sustancias que se forman durante la fermentación alcohólica y en procesos sucesivos. Se hallan en forma de ácidos libres o de sales ácidas. La suma de las sustancias ácidas existentes constituye la acidez total del vino. (Carbonell, 1970).

Una correcta acidez total (valor de pH bajo) en el vino influye: en la estabilización del color, en el sabor (prestándole frescor) y en la conservación (inhibiendo la acción de los agentes patógenos). (Carbonell, 1970).

Durante la fermentación las levaduras generan pequeñas cantidades de ácido acético (un vino suele tener menos de 300 mg/litro) y su concentración refuerza los olores y sabores, proporcionando "complejidad". La presencia de ácido acético hace que se sintetizen ésteres de acetato que proporcionan aromas afrutados. Los ácidos en el vino tienen un efecto antimicrobiano ya que muchas variedades no crecen en ambientes de pH bajo. El ácido succínico está presente en el vino debido a la fermentación, posee un sabor mezcla entre salado/agrio. El ácido láctico está presente en pequeñas cantidades a no ser que se haya forzado la fermentación maloláctica a costa de consumir ácido málico, por ende lo que hace que el pH global aumente. (Ribèreau – Gayon, 2003).

2.4.2.1.6 Aldehídos y ésteres

Son los productos resultantes de los fenómenos de oxidación, reducción y esterificación que experimentan los vinos. (Carbonell, 1970).

Los alcoholes juegan un papel muy importante en la operación de maduración, tras la fermentación, ya que reaccionan con los ácidos naturales de la uva para formar ésteres. De todos los grupos funcionales existentes en el vino, los ésteres son los más abundantes: identificados cerca de 160 diferentes. Los ésteres se suelen categorizar en enología en dos categorías: los que provienen de reacciones enzimáticas (butanoato, exanoato) y aquellos que se forman químicamente por esterificación. Los ésteres son los principales componentes responsables de aportar al vino un bouquet. (Ribèreau – Gayon, 2003).

2.4.2.1.7 Materias nitrogenadas

Las materias nitrogenadas existentes en el vino son indicios; las contenidas en el mosto (de 0,5 a 1 gramo por litro) ha sido consumidas por los agentes de la fermentación en la formación de productos ácidos y alcohólicos y el resto precipitada por la acción del alcohol y taninos. (Carbonell, 1970).

2.4.2.1.8 Compuestos fenólicos

Los compuestos químicos en forma de polifenoles son abundantes en el vino y es quizás uno de los compuestos que proporciona más atributos al vino. Es importante remarcar que tras los carbohidratos y los ácidos son el tercer compuesto más importante. Se tratan en muchos casos de un metabolito secundario de la uva que se concentran en la piel y en las semillas (pepitas). Los polifenoles afectan directamente a los sabores, a los olores y otras capacidades sensitivas del vino, es por esta razón por la que los viticultores cuidan en detalle de su evolución durante las fases de vinificación. (Ribèreau – Gayon, 2003).

Los taninos, son compuestos fenólicos muy reactivos, en solución pueden reaccionar con las proteínas y precipitar. Otro compuesto fenólico son las antocianinas que aportan color a los vinos, estos colorantes naturales pueden blanquearse (perder su color) por la acción de diversos agentes u operaciones químicas tales como la oxidación o la reducción, en muchos casos la acidez mantiene el color (viraje). Los fenoles ocupan un papel muy importante en los procesos de oxidación del vino (oxidación fenólica) y es una de las reacciones más habituales en la maduración de los vinos tintos. (Ribèreau – Gayon, 2003).

2.4.2.1.9 Materias minerales

El número y cantidad de cada una de las sustancias minerales habidas en el vino depende en gran manera de la naturaleza del terreno, ya que de él son absorbidas por las raíces de la cepa. (Carbonell, 1970).

En la analítica vinícola se analiza a veces el contenido de cenizas, que resulta ser los restos inorgánicos existentes en el vino. La mayoría de los compuestos son carbonatos y óxidos. El metal más abundante en las frutas de la *Vitis vinífera* es el potasio. En muchos casos el contenido de potasio se ve afectado por las condiciones climáticas, por ejemplo los climas cálidos poseen mayor contenido en potasio que los fríos. Durante la fermentación se acumula en forma de gas el dióxido de azufre (SO₂) en una proporción que va desde 12 hasta 64 mg/litro y es empleado como fumigante de las cubas. (Ribèreau – Gayon, 2003).

2.4.2.2 Características organolépticas del vino

La fase visual cobra cada vez más importancia en la calidad de los productos alimenticios debido a la actitud de preferencia de los consumidores. El vino no es ajeno a esta situación y su aspecto se hace más importante sobre todo a medida que el consumidor es más exigente y adquiere más conocimientos sobre el producto. Es evidente que factores como la limpidez (brillo, transparencia, etc.) y color, en su sentido más amplio, son las características visuales más importantes de los vinos, y todas ellas están estrechamente ligadas a los compuestos fenólicos, (González, 2009).

La evaluación del vino comienza con el sentido de la vista, podemos tener una opinión general con solo mirarlo, pero hay que cumplir con unos cuantos requisitos referidos a conocimientos específicos, experiencia y medio ambiente. Los vinos nos presentan colores y matices que van desde un

amarillo pálido hasta un rojo rubí intenso pasando por múltiples variantes y combinaciones. Los responsables principales son unas sustancias contenidas en los hollejos de las diferentes uvas y en forma secundaria por las semillas, (a madera de las barricas, la irradiación de la luz solar en las botellas, las técnicas de elaboración, la edad, la conservación, su salud, etc. El color en los vinos blancos varía desde lo casi incoloro, algunos con variados matices desde el verdoso hasta un amarillo intenso. Los vinos pierden color y brillo con la edad. Por ello es posible determinar si se trata de tintos muy jóvenes o añejos. La técnica indica observar la copa el vino desde el centro hacia los bordes. Si mantiene el matiz uniforme es muy posible que sea un vino joven. Si en los bordes es más claro o con tonos marrones es casi seguro que se trata de un vino de cierta edad. (Ariansen, 2009).

2.4.2.2.1 Color

Las antocianinas son las responsables principales del color rojo en el vino. Las antocianinas se encuentran en diversas frutas cumpliendo una misión similar. Este compuesto químico se encuentra en la capa exterior de la piel de la uva y durante el proceso de maceración se extrae antes que los taninos. La mayoría de los mostos (incluso los de uvas negras) son incoloros, así que la maceración es un proceso importante en la coloración de los vinos. El color rojo o rosado depende, por completo, de la forma en que se extrae las antocianinas de la piel de la uva durante el proceso de fermentación. (Ribèreau – Gayon, 2003).

2.4.2.2.2 Sabor y aroma

Los principales componentes de sabor en la uva son los azúcares, los ácidos y los polifenoles. Estos tres compuestos proporcionan al vino tres de los cinco sabores básicos: dulce, ácido y amargo. De todas formas existe una gran cantidad de sustancias en las uvas que acaban proporcionando un sabor, estas sustancias se presentan en cantidades ínfimas. Todas estas

substancias dan a la uva un sabor característico denominado sabor primario. El sabor primario caracteriza a la variedad de la *Vitis vinífera*. La mayoría de los componentes de sabor se encuentran ubicados en la parte interior de la piel de la uva, es por esta razón por la que el prensado ocupa un proceso fundamental a la hora de proporcionar sabores primarios al vino. En enología existe una distinción entre aroma y bouquet. El aroma es un olor específico proveniente de la variedad de uva empleada, mientras que el bouquet es un olor característico de la forma de procesar el vino. De esta forma, por ejemplo, dos vinos de la misma uva poseen el mismo aroma, pero distinto bouquet (si se han madurado de forma distinta). (Rankine, 2000).

2.4.2.3 Calidad del vino

La calidad del vino es el conjunto de sus cualidades, es decir el de las propiedades que lo hacen aceptable o apetecible por el consumidor, quien no tiene en cuenta los datos analíticos sino las particularidades que halagan sus sentidos; por eso es que el problema de la calidad debe ser resuelto por métodos técnicos de elaboración y conservación, que buscan ante todo mantener y, si es posible, desarrollar sus propiedades. La calidad es, por ende, el conjunto de caracteres gustativos agradables, directamente ligados a la composición química. (Ribéreaw, 1989).

Pero se sabe bien, por una parte, todo lo que hay de impreciso y subjetivo en la definición y apreciación de esos caracteres gustativos, y por otra, lo difícil que resulta relacionar cualquiera de estos caracteres y su conjunto con la composición química del vino; a decir verdad, es imposible resolver totalmente el problema también sabemos que la noción de calidad es relativa, que el gusto del consumidor evolucionó profundamente en el curso de la historia, y que difiere de una región a otra. (Ribéreaw, 1989).

2.4.2.3.1 Defectos y Alteraciones del Vino

(Mijares, 2000). Los vinos pueden sufrir tres tipos de trastornos o alteraciones:

1. Accidentales (accidentes)
2. Trastornos biológicos (enfermedades)
3. Trastornos químicos (quiebras)

Accidentes: Se llaman así a ciertas alteraciones por su carácter accidental y porque también de forma accidental se altera el color, aroma, sabor, etc., de los vinos, generalmente provocadas por descuido en la vigilancia y cuidado de los mismos. (Falta de higiene en la bodega, falta de ventilación, exceso de humedad, etc.), errores en el manejo de la maquinaria y muchos otros. (Mijares, 2000).

Enfermedades: Son los trastornos producidos en los vinos por causas biológicas. Son producidos por microorganismos generalmente fermentos o bacterias y se producen unas en presencia del aire (aeróbicas) y otras en ausencia del mismo (anaeróbicas). Estos fermentos atacan ciertos componentes del vino causando todo tipo de alteraciones en el olor, sabor y tacto del vino y a veces en el aspecto (turbidez, color, sonido, etc.).

Son muchos los tipos de enfermedades y algunas difíciles de diagnosticar y mucho más de prevenir.

Aclaremos que no debe confundirse el término enfermedad con el agente causal de enfermedades a los humanos. Son enfermedades para el vino porque lo alteran y hacen desagradable, pero son absolutamente inocuos para la salud humana.

Es importante que conozcamos las enfermedades más frecuentes y sobretodo su manifestación en el vino.

Picadura acética o avinagramiento: Producida por una bacteria acética del género *Acetobacter* muy abundante en las vendimias podridas.

Se detecta porque se forma una película translúcida en la superficie del vino. La bacteria provoca una rápida disminución del alcohol y del azúcar, produce ácido acético (el del vinagre) y acetato de etilo dándole al vino un desagradable sabor a picado. Se puede evitar esta enfermedad manteniendo los vinos al abrigo del aire. El consumidor dice generalmente que el vino está picado o avinagrado.

Flores del vino: Se llama así a un fermento especial que forma una película en la superficie de los vinos jóvenes si están en contacto con el aire.

Se evita manteniendo siempre los recipientes que contienen el vino, llenos hasta arriba, cosa que debe hacerse siempre.

Vuelta: El vino que padece esta enfermedad se vuelve grasoso, con aroma y sabor muy agradable. Se enturbia y pierde su color. La enfermedad se produce por bacterias que atacan al ácido tartárico del vino. Pierde parte de su acidez fija y le aumenta la acidez volátil.

Grasa o Ahilado: El vino se vuelve denso y viscoso (sordo, se altera el sonido) y fluye como si fuera aceite.

Se produce disminución de azúcar y aumento de acidez. La produce una cocobacteria del género *Leuconostoc*.

Amargor: Se produce por fermentación láctica del glicerol por ataque bacteriano, dando lugar a una sustancia muy amarga llamada acroleína. Esta sustancia, al combinarse con los polifenoles del vino, le transfiere el sabor amargo.

Picadura Láctica: Descomposición del azúcar en ácido láctico y ácido acético.

Fermentación manítica: Se da sobre todo en zonas calidas y generalmente durante la fermentación. Aumenta mucho la temperatura del depósito, eso hace que se mueran los fermentos útiles y sean sustituidos por bacterias que afectan el azúcar. El vino resultante es lechoso y tiene un raro sabor agrisado con fondos de cacahuates y moho. (Mijares, 2000).

Quiebras: Se llama así a los trastornos de origen químico que se pueden producir en los vinos.

Son muy visibles para el consumidor, porque enturbian el vino y le producen esas precipitaciones en botella de diversos tipos (posos cristalinos, masas informes, etc.) a los que el consumidor siempre le llama: la química del vino. Sin entrar en un estudio químico profundo, vamos a intentar, por la importancia que tienen, llegar al menos a conocerlas de la forma más clara. El nombre de quiebras es directa traducción del francés (cassè) y se llaman así porque se quiebra el color y/o la limpidez, etc., o al menos se quiebra el equilibrio. (Mijares, 2000).

Precipitaciones Cristalinas: Hay un tipo de quiebras que lo producen y se ve, es una precipitación, generalmente en el fondo de la botella, de tipo pulverulento cristalino, blanca o de color rojo, según el tipo de vino. No tienen mayor importancia y, por supuesto, esos cristallitos son totalmente naturales e inofensivos. (Mijares, 2000).

Quiebra férrica: Los mostos y los vinos tienen una gran capacidad de corrosión, que afecta a los metales que por cualquier causa se ponen en contacto con ellos (máquinas, pasteurizadores, depósitos, etc.). Cuando el contenido en hierro sobrepasa a ciertos límites, al combinarse con determinados constituyentes del vino puede provocar insolubilizaciones y enturbiamientos que alteran el color y la limpidez. El enturbiamiento se produce al contacto con el aire, cuando el oxígeno se disuelve en el vino. El hierro, bajo la acción del oxígeno, da lugar a dos grupos de compuestos poco solubles, que precipitan con cierta facilidad, quebrando la limpidez del vino, ocasionando las quiebras blancas, azules y negras, llamadas así por el color del precipitado. (Mijares, 2000).

La *quiebra blanca* es característica, aunque no exclusiva, de los vinos blancos con poco contenido en polifenoles. Los vinos afectados se presentan

opalescentes, y luego se enturbian con insolubilizaciones blanquecinas que, poco a poco, van decantando con formación de precipitado. (Mijares, 2000).

La *quiebra azul* es producida por la insolubilización del hierro férrico con las sustancias tánicas, lo que da lugar a un precipitado azul. La insolubilización del hierro férrico con las materias colorantes produce depósitos negros, que dan lugar a la *quiebra negra*. (Mijares, 2000).

Quiebra Cuprosa: Se da en vinos blancos embotellados, y se debe a la presencia de exceso de cobre. El vino, conservado en depósitos, se embotella limpio y, al cabo de unos meses, principalmente en verano, empieza a presentar un enturbiamiento lechoso que se deposita lentamente. Este accidente desaparece cuando la botella se abre y el vino se airea. En este enturbiamiento intervienen diversos factores: cierto contenido en cobre y en anhídrido sulfuroso libre, y la ausencia de oxígeno. Se ve favorecido por la luz solar, la agitación y la elevación de la temperatura. (Mijares, 2000).

Quiebra proteica: El vino contiene prótidos que, bajo la acción de distintos factores, se insolubilizan y producen enturbiamientos. La insolubilización de estos prótidos pueden ser consecuencia de un aumento de la temperatura, de la adición de sustancias tánica o bien de la adición de ácidos minerales. (Mijares, 2000).

Quiebra Oxidásica: Los vinos, cuando se ponen en contacto con el aire, sufren un cambio de color que se manifiesta de distinta forma según se produzca en tintos o en blancos. En los vinos blancos, el color toma un tono amarillo-pardo. (Mijares, 2000).

La estabilización se realiza mediante el empleo del anhídrido sulfuroso. En los vinos afectados por esta quiebra, el remedio más eficaz es su calentamiento, seguido de filtración y tratamiento con anhídrido sulfuroso. (Mijares, 2000).

Después de todo lo que hemos explicado, se entenderá: (Mijares, 2000).

- Que hay que seguir la evolución del vino y vigilarla
- Que no basta con conseguir que el vino este límpido, hay que mantener esa limpidez.
- Que el vino, como todo ser vivo, necesita cuidados y remedios aplicados con conocimientos y racionalidad.

2.4.2.4 Análisis Sensorial

Tradicionalmente, la industria del vino ha utilizado y sigue utilizando enólogos como sus expertos. Por definición, el catador experto es la persona que actúa como juez de las características sensoriales del producto en cuestión, sobre la calidad final del producto, y basa sus decisiones en su experiencia, entrenamiento y una serie de datos de tipo analítico como la composición química y las propiedades físicas de los vinos. Aunque estos datos son útiles, únicamente aportan información sobre la naturaleza del estímulo que percibe el consumidor, pero no sobre la sensación que éste experimenta al ingerirlo. La evaluación sensorial puede proporcionar este tipo de información, convirtiéndose en una herramienta muy útil tanto para los enólogos como para otros departamentos como marketing, producción, viticultura, control de calidad, I+D y desarrollo de nuevos productos. (Meilgaard, 1991).

2.4.3 Proceso Tecnológico

Este proceso tecnológico fue sugerido por el Dr. Iñigo Arozarena Martincorena, catedrático español que dirigió el proyecto (2009).

Recepción: El proceso de elaboración de un buen vino inicia con el recibimiento de una fruta madura, uniforme, sana y sin indicios de descomposición. El valor de sólidos solubles (°Brix) de la fruta fue de 11,5.

Lavado: La manzana se lava con agua corriente potable para eliminar la tierra u otros materiales que pueden ser fuente de contaminación.

Pesado: La fruta se coloca sobre la balanza para determinar la cantidad de materia prima, a partir de la cual se va a partir, lo cual nos va a permitir determinar los pesos de los otros insumos a utilizarse.

Cortado: Se lleva a cabo manualmente utilizando cuchillos y cortando las manzanas en cuatro partes.

Trituración: Para liberar el color, sabor y otros componentes se fracciona la fruta en una licuadora industrial por unos pocos segundos. La relación agua fruta es 3 a 1. El mosto, denominación que se le da al producto obtenido del proceso descrito anteriormente puede contener semillas, cáscaras, jugo, etc., dependiendo de la fruta.

Sulfitado: Con el objeto de eliminar impurezas, levaduras y hongos silvestres de la fruta se realiza un sulfitado, adicionando metabisulfito de potasio en una relación de 75 ppm (0.075 gr/lit).

Adición: Al tratamiento correspondiente se le adiciona la enzima de clarificación Lallzyme C-Max en una cantidad de 0.03 g/kg de fruta. Con la finalidad de obtener un mosto claro para el periodo de fermentación.

Reposo: Se cierra el recipiente que contiene el mosto y se deja reposar durante 24 horas.

Adición de nutrientes: Transcurridas 24 horas, se realiza análisis de pH y °Brix en el mosto curado, a partir de esta determinación se conoce la cantidad de azúcar que se requiere para ajustar el mosto a 21 ° Brix. Por otro lado se adiciona fosfato de amonio (100 ppm) como nutriente para las levaduras con las que se va a trabajar.

Hidratación: Este procedimiento se lleva a cabo según lo indicado en la ficha técnica. Se utiliza agua a 37 °C, en donde se incorpora 0.3 gramos de levadura (vínica o de panificación) por cada litro de mosto.

Inoculación: El proceso de fermentación inicia con la adición de la levadura de panificación o vínica previamente activada en el mosto. Este proceso permite transformar el azúcar contenida en alcohol.

Fermentación: Para iniciar el proceso fermentativo se tapa el recipiente que contiene el mosto inoculado y se crea un pequeño agujero (15 mm) en la tapa para permitir muy ligeramente el ingreso de oxígeno, de esta manera se controla la presión originada por los gases producto de las reacciones de fermentación. El tiempo de fermentación dependerá del consumo de azúcares que se reporte por parte de las levaduras.

Durante este proceso se realizarían análisis de °Brix, pH, acidez total, Absorbancia a 420 nm los tres primeros días y posteriormente pasando un día hasta alcanzar una estabilidad en el valor de °Brix.

Primer trasiego: Esta operación se realiza para separar el vino de los sedimentos de fruta y los desechos de la fermentación (conchos), para ello se utiliza una manguera.

Termino de la fermentación: Luego de alcanzar los parámetros establecidos de acidez, pH y °Brix para el vino a obtener se procede a interrumpir el proceso de fermentación adicionando 100 ppm de metabisulfito de sodio.

Clarificación: Al tratamiento correspondiente se le adiciona la enzima de clarificación Lallzyme C-Max en una cantidad de 0.01 gramos por cada litro de vino, se deja reposar entre 3 a 12 horas.

Segundo trasiego: Esta operación se realiza para separar el vino de los desechos posfermentativos, para ello se utiliza una manguera.

Maduración: El vino clarificado se deja en reposo, para que se desarrollen aromas y sabores especiales. El tiempo de maduración recomendable es de 3 a 4 meses. Durante este proceso se llevara a cabo análisis de °Brix, pH, Acidez Total y extracto seco cada 15 días durante el periodo que dure esta etapa de maduración.

Tercer trasiego: Esta operación se realiza para separar el vino de los desechos post-fermentativos, para ello se utiliza una manguera. Esta

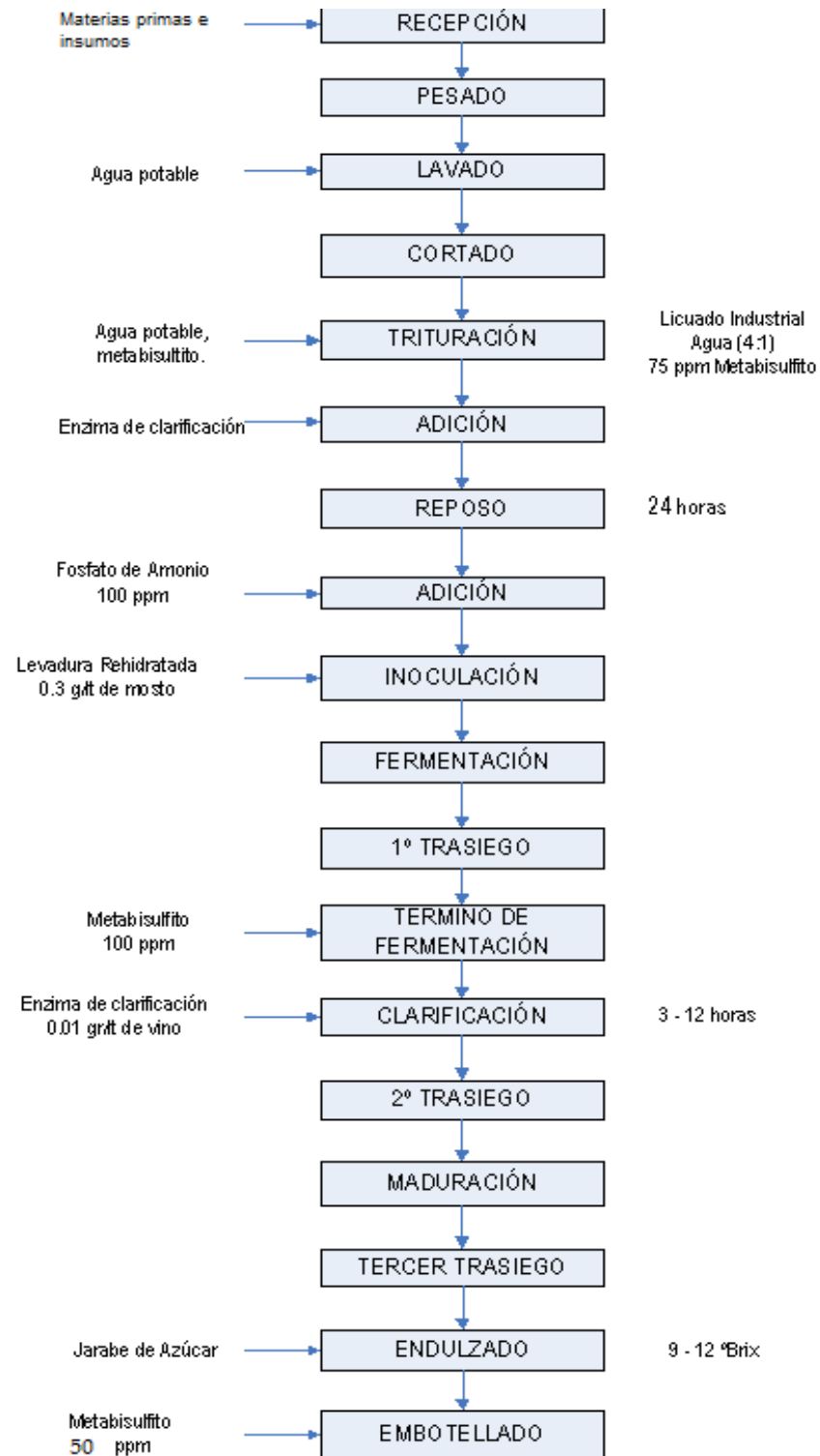
operación fue necesaria únicamente en los vinos que no tuvieron tratamiento enzimático.

Endulzado: El mercado nacional prefiere el vino dulce por lo cual luego de un tercer trasiego se separa una pequeña cantidad de vino a la cual se agrega azúcar blanca para alcanzar un valor de 11 °Brix y se pasteuriza la mezcla a 70 °C por 5 minutos, luego se filtra en un lienzo y una vez frío se agrega al resto del vino mezclando perfectamente.

Sulfitado: Esta operación se realizó con la finalidad de impedir contaminaciones posteriores en los vinos obtenidos, se utilizó una dosis de metabisulfito de potasio de 50 ppm.

Embotellado: Transcurrido el tiempo de maduración recomendado, se procede a envasar el vino y a etiquetar las botellas indicando la fecha de elaboración. Las botellas deben llenarse dejando un pequeño espacio vacío, ya que demasiada cantidad de oxígeno en el envase puede afectar el producto.

Diagrama de Flujo para la elaboración de Vino de manzana, variedad Emilia (Reineta Amarilla de Blenheim)



Elaboración: María José Andrade Albán

2.5 HIPÓTESIS

2.5.1 Hipótesis nula

H₀: La utilización de enzimas antes o después de la fermentación no influye en la eficiencia de la operación de clarificación para la obtención de vino de manzana como producto final.

2.5.2 Hipótesis alternativa

H₁: La utilización de enzimas antes o después de la fermentación influye en la eficiencia de la operación de clarificación para la obtención de vino de manzana como producto final

2.6 SEÑALAMIENTO DE VARIABLES

Variables Independientes: tipo de levadura y momento de adición de la enzima pectolítica.

Tipo de Levadura

- Levadura de panificación (*Saccharomyces cerevisae*)
- Levadura Vínica EC 1118 (*Saccharomyces cerevisae bayanus*)

Momento de adición de la enzima pectolítica Lallzyme C-max:

- Antes de la fermentación
- Después de la fermentación
- Sin tratamiento enzimático

Variable dependiente

Entre las variables dependientes se encuentra la eficiencia de la enzima en la operación de clarificación en: el rendimiento y la facilidad de extracción de los elementos organolépticos de la materia prima, lo que se refleja en los resultados positivos del análisis sensorial, es decir en la aceptabilidad del producto final.

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 MODALIDAD BÁSICA DE LA INVESTIGACIÓN

El tipo de investigación que se va a desarrollar implica dos modalidades: la primera documental o bibliográfica, puesto que se requiere una revisión previa en tesis, trabajos de investigación, planes, sitios en Internet, experiencias en proyectos similares, entre otros; que permite conocer 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.

En una segunda etapa se debe considerar una modalidad de investigación experimental, de modo que de esta manera se alcancen los objetivos de predicción y de control en relación con la hipótesis puesta a prueba en el estudio; es 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.

3.2 NIVEL O TIPO DE INVESTIGACIÓN

El nivel o tipo de investigación que alcanza este trabajo de investigación es de asociación de variables, puesto que su objetivo global es valorar el comportamiento de una de las variables en función de las otras y su grado de relación entre sí; básicamente este tipo de investigación permite: (Saltos. 1989)

- La Medición cuantitativa de resultados.
- El Análisis de correlación de variables.

3.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

3.3.1 Población

El presente proyecto de investigación considera como población enzimas pectolíticas, levaduras de panificación y levaduras vínicas.

3.3.2 Muestra

Las enzimas pectolíticas constituyen una población muy amplia, de la cual se ha seleccionado:

- Enzima de clarificación Lallzyme C-max, pectinasa granulada obtenida de *Aspergillus niger*.

De toda la población de levaduras vínicas y de panificación se ha seleccionado:

- Levadura vínica: Lalvin EC 1118, *Saccharomyces cerevisiae bayanus*
- Levadura de panificación: *Saccharomyces cerevisiae*

3.3.3 Diseño Experimental

De acuerdo al problema de Investigación “Excesivo tiempo para la clarificación de mostos de manzanas fermentados con levaduras vínicas y con levaduras de panificación”, en función de establecer la relación entre los factores de estudio: tipo de levadura y tratamiento enzimático, se considera apropiado aplicar un Diseño Factorial A*B.

A continuación se detallan los factores de estudio con los respectivos niveles:

Factor A: Tipo de Levadura

a₁: Levadura de panificación (*Saccharomyces cerevisiae*)

a₂: Levadura vínica (EC 1118) (*Saccharomyces cerevisiae bayanus*)

Factor B: Tratamiento Enzimático (enzima de clarificación Lallzyme C-max)

b₁: Antes de la fermentación

b₂: Después de la fermentación

b₃: Sin tratamiento enzimático

Del Diseño Factorial A*B se trabajaría un total de doce tratamientos, que se obtienen del original y la replica.

3.3.4 Respuestas experimentales:

Físico – Químicas:

Durante el proceso de fermentación:

En el proceso de fermentación se llevo un control periódico cada 2 días de los siguientes parámetros físico-químicos: Contenido de sólidos solubles (°Brix), pH y acidez total.

Durante el proceso de maduración:

En el proceso de maduración de determino el valor de °Brix, pH, acidez total y extracto seco, se realiza en intervalos de 15 días.

Medidas Espectrofotométricas:

Durante el proceso de fermentación y maduración:

- Absorbancia: 420nm se realizará cada 2 días y 15 días respectivamente; datos que nos permiten evaluar el efecto de clarificación al adicionar la enzima pectolítica Lallzyme C-max dentro del proceso de elaboración de vino de manzana.

Análisis sensorial:

Se efectuó mediante un panel de catadores semi-entrenados con la finalidad de identificar el mejor tratamiento respecto a sus características organolépticas y grado de aceptabilidad; información que será obtenida a partir de la hoja de evaluación sensorial de acuerdo a una escala hedónica establecida.

En el mejor tratamiento se realizarán los siguientes análisis:

- **Microbiológicos:** Análisis microbiológicos de control (recuento de mohos y levaduras, recuento total de aerobios y recuento total de coliformes).
- **Grado Alcohólico:** Determinación del grado alcohólico.
- **Análisis cromatográfico:** contenido de metanol y etanol.
- **Determinación del tiempo de estabilidad del vino:** Determinación que se realiza en condiciones aceleradas (40 °C)

3.4 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Cuadro N° 1

Variables Independientes:

- Tipo de levadura (levadura vínica Lalvin EC118 y levadura de panificación)
- Momento de adición de la enzima pectolítica (antes de la fermentación, después de la fermentación y sin adición de enzimas.)

CATEGORÍA	SUBCATEGORÍA	Indicadores	Ítems	Técnicas e instrumentos
<p>Levaduras</p> <p>Conceptualizadas como: Hongos microscópicos unicelulares cuya importancia radica en que son capaces de fermentar hidratos de carbono, para la producción de distintas sustancias.</p>	<p>Levadura vínicas</p>	<p>Mayor grado de aceptabilidad del vino de manzana por parte de los consumidores, utilizando levaduras vnicas</p> <p>Reducción del tiempo de</p>	<p>¿Por qué?</p>	<p>Prueba de escala hedónica de 7 puntos (Norma ISO 4121:1987)</p>

<p>Momento de adición de la Enzima pectolítica:</p> <p>Se conceptúa como:</p> <p>El momento de adición de la enzimas pectolíticas ya sea para clarificación de mosto o de vino puede variar significativamente en la tonalidad y consistencia del producto final..</p>	Levadura de panificación	fermentación para la obtención de vino de manzana.	¿Debido a que?	La ficha técnica descrita en el Catálogo LALLEMAND, (España) menciona un consumo más rápido de azúcares. (Control del descenso de °Brix).
	Antes de la fermentación	Rápida disminución de la viscosidad	¿A qué se debe?	Tiempo total del proceso de elaboración y obtención de vino de manzana.
	Después de la fermentación	Mejora la sedimentación	¿Por qué?	Una clarificación corta significa también un período de contacto entre el mosto y los sólidos más reducido, limitando el riesgo de gustos indeseables
	Sin adición de enzima.	Mayor tiempo para obtener un vino claro.	¿Por qué?	Color del vino: Somers y Evans (1974, 1977).

Elaborado por: María José Andrade Albán.

Cuadro N° 2

Variable Dependiente: Características físico-químicas y sensoriales del vino de manzana variedad Emilia.

CATEGORÍA	SUBCATEGORÍA	INDICADOR	ITEM	TÉCNICA
<p>Características Físico Químicas y Sensoriales</p> <p>Se conceptualizan como:</p> <p>Las propiedades de naturaleza física y química que diferencian a un producto de otro, y que contribuyen con las características organolépticas del mismo.</p>	Características Físico-Químicas	Incremento del proceso fermentativo en mosto de manzana	¿Por qué?	<p>Azúcares °Brix (Brixómetro)</p> <p>pH (PHmetro)</p> <p>Acidez total (Norma INEN 341)</p> <p>Extracto seco del vino (Balanza y estufa)</p>
		Incremento en la estabilidad de las características sensoriales de la materia prima.	¿A que se debe?	<p>Grado alcohólico (Norma INEN 360)</p> <p>Medidas espectrofotométricas (espectrofotómetro VIS) directas</p>
	Un producto final de mayor aceptabilidad para los consumidores	¿Por qué?	<p>Análisis sensorial mediante prueba de escala hedónica de 7 puntos (Norma ISO 4121:1987)</p>	

Elaborado por: María José Andrade Albán.

3.5 PLAN DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

El plan de recolección de información que se empleo en este trabajo de investigación es de dos tipos:

3.5.1 Fuente primaria

La información se recolectó de manera continua durante la etapa experimental a través de un seguimiento en las propiedades físico-químicas que varían durante el proceso de elaboración de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*), es decir en la etapa de fermentación así como también en la etapa de maduración.

Los parámetros de control que se consideró en el plan de recolección de información son:

- Análisis físico-químicos: pH, sólidos solubles, acidez total, grado alcohólico, extracto seco.
- Análisis espectrofotométricos: Absorbancia a 420 nm.
- Análisis cromatográficos: contenido de etanol y metanol.
- Análisis sensorial: se realizó a partir de cataciones ejecutadas por parte de un grupo de catadores semi-entrenados, con la propósito de identificar el mejor tratamiento.

3.5.2 Fuente secundaria

Las fuentes secundarias hacen referencia a la información que se recolecto de fuentes bibliográficas como libros, revistas científicas, proyectos similares, trabajos publicados en internet, etc.

3.6 PLAN PROCESAMIENTO DE LA INFORMACIÓN

3.6.1 Procedimiento

- Estudio crítico de la información recolectada, en otras palabras se realiza una limpieza de la información defectuosa (contradictoria, incompleta, no pertinente, etc.).
- Duplicación de la recolección, en ciertos casos individuales, para evaluar la confiabilidad de los análisis.
- Tabulación o cuadros según variables de cada hipótesis: manejo de información mediante el empleo del programa EXCEL, análisis estadístico de datos para interpretación de resultados a través del programa STATGRAPHICS®Plus.
- Representaciones gráficas.

CAPITULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1 ANALISIS DE LOS RESULTADOS

En el Anexo A se presentan las tablas que contienen los resultados experimentales de grados brix, pH, acidez total (% Ac. málico) y absorbancia a 420 nm que se llevaron a cabo durante el proceso de fermentación como parámetros de control; así también se puede apreciar los valores obtenidos para contenido de extracto seco, turbidez, índice de polifenoles totales (IPT), polifenoles totales (PT) y cromatografía que conjuntamente con los mencionados anteriormente, se aplicaron en el proceso de maduración.

Allí también se encontraran los análisis efectuados en los mejores tratamientos tanto para levadura de panificación como para levadura vínica, en donde se determino el contenido de grado alcohólico, la calidad microbiológica (recuento de mohos y levaduras, recuento total de aerobios y coliformes).

Las determinaciones físico-químicas, de medida de color , composición fenólica, cromatográficas, sensoriales y de contenido alcohólico se realizaron en: la Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA), de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, de la Universidad Técnica de Ambato (UTA); Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL) de la ciudad de Ambato, Ecuador; Laboratorio de Ensayos Analíticos (LEA) del Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) del Distrito Metropolitano de Quito, Ecuador; y, en el Departamento de Tecnología de Alimentos de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (ETSIA), de la Universidad Pública de Navarra (UPNA), Pamplona, España.

4.2 INTERPRETACIÓN DE DATOS

4.2.1 Materia prima

La materia prima utilizada fue manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheím*), que se la adquirió de un proveedor de la provincia de Tungurahua Parroquia Santa Rosa, la misma que fue seleccionada y caracterizada según su tamaño y estado de madurez.

Se realizó la caracterización física de 10 muestras de manzana en la cual se tomó el peso de cada una, se midió el diámetro, el largo y se observó el estado de madurez de la fruta considerando como parámetro de madurez al color, sabor y el valor de °Brix de cada uno de los resultados se obtuvo el promedio y las respuestas son: 125,45 para peso(g.); 6,48 de diámetro (cm); 5,6 de largo (cm); 9,6 para brix; pH igual a 3,85; acidez total (% Ac. Málico) igual a 0,036; color verde – amarillento y sabor dulce.

El preparado enzimático que se utilizó fue LALLZYME C-MAX en una relación de 0,03 g./kg. de fruta en el tratamiento correspondiente (tratamiento enzimático pre-fermentativo) y en una relación de 0,01 gr/lit. de vino en el tratamiento correspondiente (tratamiento enzimático post-fermentativo) y finalmente el tratamiento sin preparado enzimático.

4.2.2 Respuestas experimentales

4.2.2.1 Proceso de fermentación

4.2.2.1.1 Sólidos solubles:

Al analizar la Tabla A-2 del Anexo A, se observa que el proceso de fermentación de los mostos inició con un valor promedio de 21,1°Brix; y que el tiempo varía con el tipo de levadura que se utilizó para dicho proceso, de modo que los tratamientos a_1b_1 , a_1b_2 y a_1b_3 registran un valor constante de sólidos solubles a partir del día 45; en cambio los tratamientos a_2b_1 , a_2b_2 y a_2b_3 que corresponden a los tratamientos con levadura vínica registran un

valor constante a partir del día 38, es decir que el tiempo en el cual el consumo de azúcares se detuvo disminuye con la utilización de levaduras específicas.

Los vinos obtenidos del tratamiento a_1b_1 tienen 7,1 ° Brix, para los tratamientos a_1b_2 y a_1b_3 el valor de °Brix final fue de 6,9; mientras que en los tratamientos a_2b_1 y a_2b_2 el valor de ° Brix final fue de 6,4; finalmente el tratamiento a_2b_3 llegó a un valor de 6,7 ° Brix, lo cual es conveniente para la producción de alcohol.

Estas variaciones se deben a que las levaduras aprovechan los azúcares (° Brix) presentes y producen alcohol y anhídrido carbónico, todo esto es posible porque alrededor del 90 % de sólidos solubles de un vino está compuesto por azúcares fermentables. (Amerine, 1976).

Los valores de grados brix para el vino de manzana es de 7,0 – 7,2, empleando la manzana, variedad Emilia (*Malus communis* – *Reineta Amarilla de Blenheim*) (Bayas, 1989).

En la Tabla B-3 se reporta los resultados de Análisis de varianza efectuado sobre los valores de grados Brix (Tabla A-2) al finalizar la fermentación con un nivel de significación de 0,05; se determina que existe diferencia significativa en el factor: A tipo de levadura .

Al aplicar la prueba de Diferencia Mínima Significativa, con un nivel de significancia del 0,05 sobre el Factor A: Tipo de Levadura, se corrobora que la utilización de dos tipos de levadura provoca un efecto distinto en el consumo de sólidos solubles puesto que los vinos con menor cantidad de sólidos solubles residuales son los obtenidos con el Factor A nivel 2 es decir utilizando levadura vínica Lalvin EC 1118 cuyo valor medio es igual a 6,5 frente al valor medio obtenido con Levadura de pan cuya media es igual a 6,967.

4.2.2.1.2 pH

En el Anexo A, Tabla A-1 se observa que el pH inicial promedio del mosto fue de 4,1; durante el proceso de fermentación este parámetro disminuye hasta alcanzar un valor entre 3,25 y 3,33. Amerine (1976), menciona que un vino de mesa debe estar en el rango 3,1-3,6; por lo que los valores que se obtuvieron en el proyecto de investigación presentan concordancia.

La determinación de pH constituye un parámetro de control de gran importancia por su efecto sobre los microorganismos, sobre el color, sobre el sabor, sobre el potencial redox, sobre la susceptibilidad al enturbiamiento por fosfato de hierro y sobre la proporción entre dióxido de azufre libre y el combinado. En general el pH de un vino nuevo libre de dióxido de carbono, es más alto que el del mosto del que proviene. Un pH alto originará un vino propicio a las contaminaciones bacterianas, mientras que con los valores de pH bajo se consiguen rendimientos en alcohol más considerables. (Amerine, 1976).

Si se realiza un seguimiento de los valores de pH durante el proceso de fermentación se observa que este parámetro disminuye en los 10 primeros días dicho proceso; posteriormente la disminución es lenta hasta que los valores se estabilizan.

En la Tabla B-1 del Anexo B, se reportan los resultados del análisis de varianza efectuado sobre los valores de pH (Tabla A-1) al finalizar la fermentación, con un nivel de significación de 0,05; se determina que existe diferencia significativa en el Factor A: Tipo de Levadura.

La Prueba de Diferencia Mínima Significativa aplicada sobre el Factor A: Tipo de Levadura nos permite deducir que la utilización de una Levadura Vínica Lalvin EC 1118 provoca un mayor descenso en el valor de pH registrado durante el proceso de fermentación de Vino de manzana, alcanzando un valor medio igual a 3,257 que comparado con el valor medio

alcanzado para la Levadura de pan que fue de 3,30 es significativamente inferior considerando que el pH inicial para los tratamientos en los que se utilizó la Levadura *Vínica Lalvin EC 1118* fue superior al valor de pH inicial de los tratamientos en los que se trabajó con Levadura de Pan.

4.2.2.1.3 Acidez (% de ácido málico)

En la Tabla A-3 del Anexo A, se observa que la acidez se mantuvo relativamente constante durante el proceso de fermentación, al iniciar la fermentación el porcentaje de acidez promedio en el mosto fue de 0,014 (expresado como ácido málico) y al finalizar el proceso de fermentación la acidez en los vinos tuvo un valor promedio de 0,040%. Estos valores están dentro de lo reportado en la Norma INEN 374 para vinos frutales que es de 0,60-1,30 %.

Gayón (1976), sostiene que un vino de consumo corriente es más agradable y digestivo si su acidez es algo elevada, estos vinos también toleran el agregado de agua.

Cabe recalcar que no existen relaciones directas, o que permitan predicciones, entre el pH y la acidez total valorable. La acidez valorable se utiliza durante las operaciones de elaboración y acabado, para normalizar los vinos y para descubrir alteraciones indeseables debidas a bacterias y fermentos (Amerine, 1976).

En la Tabla B-5, Anexo B. Se reporta los resultados del análisis de varianza efectuado sobre los valores de acidez (Tabla A-3) al finalizar la fermentación con un nivel de significación de 0,05; se determina que no existe diferencia significativa entre los tratamientos estudiados, con esto se puede decir que el tipo de levadura y el momento de adición del preparado enzimático no tienen influencia sobre la acidez.

4.2.2.1.4 Absorbancia

Considerando la Tabla A-4 del Anexo A, se puede decir que la absorbancia en los tratamientos a_1b_1 y a_2b_1 por efecto de la adición de enzima de clarificación (tratamiento pre-fermentativo) presentan una disminución algo acelerada en el valor de absorbancia con respecto a los otros tratamientos, obteniendo un valor final de 0,391 y 0,101 UA respectivamente; por el contrario el resto de tratamientos presentan un proceso lento de disminución del valor de absorbancia; llegándose a determinar entre los tratamientos un rango promedio de 0,352 – 0,441(UA).

Los parámetros establecidos para vinos de manzana están entre los 0,060 - 0,425 UA en medidas espectrofotométricas de color, a una longitud de onda de 420 nm (Yildirim, 2006)

De acuerdo a los valores bibliográficos mencionados en el párrafo anterior los tratamientos obtenidos en el desarrollo de este proyecto de investigación presentan valores de absorbancia aceptables para vino de manzana, es decir que el proceso de clarificación fue eficiente.

En la Tabla B-6 se reporta los resultados del Análisis de varianza efectuado sobre los valores de absorbancia (Tabla A-4) al finalizar la fermentación con un nivel de significancia del 0,05; se determina que no existe diferencia significativa entre los tratamientos estudiados, por lo que se puede señalar que el tipo de levadura y el momento de adición del preparado enzimático no tienen influencia sobre los valores de absorbancia.

En el Gráfico C-4 se muestra la evolución de A 420 nm a lo largo de 67 días de estudio, es muy evidente el efecto de las enzimas. En el caso de los tratamientos b1 (enzimas al inicio de la fermentación) la absorbancia cae rápidamente entre el día 2 y el 4 hasta niveles de 0,1 a 0,2 UA, para mantenerse prácticamente constante hasta el final. En el caso de los tratamientos b2 (enzimas postfermentativos), tras un descenso los primeros días hasta niveles de 0.55-0.70 UA, la absorbancia va disminuyendo muy lentamente durante la fermentación, para luego caer rápidamente en el

momento en que se añaden los enzimas, alcanzando valores similares a los de los vinos b1.

Finalmente las muestras b3 (sin enzimas) mantienen siempre una absorbancia alta que va disminuyendo muy poco a poco fruto del proceso de clarificación natural muy lento del vino, quedando muy lejos de los valores de los vinos tratados con enzimas.

4.2.2.1.5 Tiempo de fermentación

En el Anexo A, Tabla A-5, se puede observar los días que requirió cada uno de los tratamientos, para que el proceso de fermentación llegue a su etapa final; de modo que se considero este tiempo a partir del tercer día en que se estabilizo el contenido de sólidos solubles del mosto fermentado.

Como se puede observar los vinos que se elaboraron con el empleo de levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*), requieren un tiempo entre 35 y 40 días para concluir con el consumo de azúcares fermentables contenidos en el mosto, adicionalmente el consumo de azúcares es mucho más eficiente puesto que si observa en la Tabla A-2 el contenido de sólidos solubles alcanza valores menores a los que se registra en los tratamientos que utilizaron levadura de panificación. Por el contrario el vino elaborado con levadura de panificación Levapan (*S. cerevisiae*) llego a su etapa final de fermentación entre los 40 y 45 días.

En el Anexo B, Tabla B-7 se reporta los resultados del análisis de varianza efectuado sobre los valores de Tiempo de Fermentación, que aplicó (Tabla A-5) al finalizar la fermentación con un nivel de significancia del 0,05; se determina que existe diferencia significativa en el factor A: Tipo de Levadura.

Al aplicar la prueba de Diferencia Mínima Significativa, con un nivel de significancia del 0,05 sobre el Factor A: tipo de levadura, se confirma que la

utilización de dos tipos de levadura provoca un efecto distinto en el tiempo que se requiere para el proceso de fermentación, puesto que los vinos que requieren menor tiempo de fermentación son los obtenidos con el Factor A nivel 2 es decir utilizando levadura vínica Lalvin EC 1118 cuyo valor medio es igual a 37,5 días frente al valor medio obtenido con Levadura de pan cuya media es igual a 43,16 días.

4.2.2.2 Proceso de maduración

Durante la maduración las variables: sólidos solubles (°Brix), se mantuvo constante dentro de un rango de 6,4 – 7,1 como se observa en la Tabla A-7; el pH presenta una disminución mínima, llegando a valores comprendidos entre 3,18 – 3,30 concluidos los 42 días (Tabla A-5); la acidez se mantuvo constante en un valor de 0,04 % en todos los tratamientos excepto el tratamiento a₂b₁ cuyo valor fue de 0,037 (Tabla A-8).

Es importante mencionar que las tablas de Análisis de Varianza que se reportan para los valores de pH, sólidos solubles, absorbancia y acidez no buscan la posible diferencia significativa que se produciría durante el proceso de maduración, sino más bien confirmar el comportamiento reportado durante el periodo de fermentación, en el cual el Factor A: Tipo de levadura presenta diferencia significativa sobre el consumo de sólidos solubles y el valor de pH del vino.

Durante la fase de maduración se realizaron análisis de absorbancia y extracto seco, la discusión de estos resultados se reporta a continuación.

4.2.2.2.1 Absorbancia

Las determinaciones se las realizó cada 14 días durante un periodo de 42 días. En la Tabla A-9 del Anexo A, se observa que la absorbancia disminuye por la precipitación de los sólidos en suspensión presentes en los vinos; sin embargo en la Tabla B-22 para Análisis de varianza de dicho parámetro no se observa diferencia mínima significativa es decir el tipo de levadura y el

momento de adición de la enzima no provocan ningún efecto sobre la absorbancia.

4.2.2.2.2 Extracto seco

Se entiende como extracto seco al conjunto de todas las sustancias que no se volatilizan a 100° C, estas condiciones físicas deben fijarse de tal manera que las sustancias componentes de este extracto sufran la mínima alteración. (Office International de la Vigne et du Vin (OIV), 1990).

En Tabla A-10 del Anexo A y su correspondiente Gráfico C-9 que se reporta en el Anexo C; se aprecia el comportamiento que obedece el contenido de extracto seco en el vino de manzana elaborado, que con el transcurso del tiempo disminuye paulatinamente, de modo que inicia en un valor promedio de 15,23 g/lit y luego de 41 días llega a un valor promedio de 9,8 g/lit.

Según la norma NTE INEN 374 que reporta un límite de 19 g/litro; y la Office International de la Vigne et du Vin (OIV), 1990; que reporta para vinos espumosos valores de 4 – 22 g/litro; se puede incluir al producto elaborado dentro de estos parámetros.

En un breve análisis se puede estimar que la utilización de dos tipos de levadura presenta cierta incidencia sobre el valor de extracto seco puesto que, el menor valor obtenido es 9,3 y corresponde al tratamiento a_1b_3 (Levadura de Pan-Sin tratamiento enzimático) y el mayor valor obtenido es 10,4 y corresponde al tratamiento a_2b_1 (Levadura vínica Lalvin EC 1118).

Sin embargo al analizar la Tabla B-15 del Anexo B en el análisis de varianza efectuado sobre los valores de extracto seco (Anexo A, Tabla A-10) al finalizar la fase de maduración con un nivel de significancia de 0,05; se concluye que no existe diferencia significativa, es decir que la utilización de dos tipos de levadura y el momento de adición de la enzima no incide en el valor de extracto seco del producto final.

4.2.2.2.3 Análisis cromatográficos

A la hora de emitir un juicio sobre un vino, el análisis sensorial representa un medio de información valiosísimo, pues nos muestra la armonía o desarmonía de sus componentes, mientras que un análisis químico, por muy detallado que sea podrá aclarar y apoyar la degustación pero no sustituirla (Gamboa, 2003).

La cromatografía de gases permite la separación física de dos o más compuestos. En el caso del análisis cromatográfico en alcoholes se pueden obtener con precisión resultados de metanol, aldehídos, ésteres, alcoholes superiores entre otros. El sabor y aroma de un vino son el resultado de la compleja conjunción de un gran número de compuestos (Abbott, 1973).

En la Tabla A-11 del Anexo A, se reportan los valores experimentales correspondientes al análisis cromatográfico para compuestos volátiles (metanol), alcoholes superiores (1-propanol, alcohol isobutílico, alcohol isoamílico) y ésteres (acetato de etilo y acetato de metilo). Es importante mencionar que los valores se obtuvieron en el Departamento de Tecnología de Alimentos de la Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (ETSIA) de Universidad Pública de Navarra (UPNA).

Mediante el análisis estadístico que se realizó en los valores obtenidos a partir del análisis de aromas por cromatografía en donde se analizó: compuestos volátiles (metanol), alcoholes superiores (1-propanol, alcohol isobutílico, alcohol isoamílico) y ésteres (acetato de etilo y acetato de metilo); se puede concluir que existe diferencia significativa en el Factor A: Tipo de levadura, es decir que la utilización de levadura de panificación y levadura vínica Lalvin EC 1118 provocan un efecto significativo en los compuestos volátiles mayoritarios del producto final.

Aplicando un análisis de comparación y correlación se puede afirmar que la producción de alcohol isoamílico, alcohol isobutílico, metanol y 1-propanol se encuentra relacionado con el uso de la levadura de panificación. Por otro lado se puede observar que la producción de acetato de etilo está directamente relacionada con el uso de levaduras vínicas. Se puede comprobar también que el tratamiento enzimático no tiene ningún efecto sobre los compuestos volátiles mayoritarios presentes en los vinos de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*). Cabe mencionar que la producción de acetato de metilo y de 1-propanol es casi idéntica independiente mente del tratamiento enzimático y del tipo de levadura que se utilizó.

El contenido de metanol en los vinos esta dentro de un rango comprendido entre 32-115 mg/l. Estos valores se encuentran dentro de los niveles aceptados por ANMAT “Administración Nacional de Alimentos, Medicamentos y Tecnología Médica” de la República de Argentina (2000); con 0.025% de metanol para vinos frutales.

Los vinos obtenidos en este trabajo de investigación tienen los siguientes rangos para alcoholes superiores: para 1-propanol entre 8-17mg/l, entre 45-75 mg/l para alcohol Isobutílico y para alcohol Isoamílico valores entre 200-450 mg/l. Ribéreau *et al.*, (2003), cita que los alcoholes superiores están presentes en los vinos globales desde 150 a 550 mg/l, pudiendo alcanzar hasta 1 g/l generalmente juzgado como desagradable (Flancy, C. 2000). De lo anterior, se determina que la cantidad de alcoholes superiores presentes en los vinos son aceptables, de modo que el su contenido es óptimo para el aroma.

Los ésteres aportan significativamente en el bouquet del vino. Como referencia tenemos que la NTE INEN 2014 para determinación de productos congéneres por cromatografía de gases en bebidas alcohólicas, muestra los requisitos para esterres como acetato de etilo, la misma que no presenta ni un mínimo ni un máximo de este compuesto aromático. Con todo, Azti –

Difusión Tecnológica (2001), reporta valores entre 8 – 20 mg/100 cm³ de alcohol anhidro para vinos blancos.

Los distintos tratamientos evaluados tienen valores entre 2-11mg/l de acetato de metilo y entre 20-42 mg/l de acetato de etilo, los valores se encuentran dentro de lo citado en bibliografía de tal forma que el bouquet del vino elaborado es aceptable con características frutales.

4.2.2.2.4 ANÁLISIS DE LA RIQUEZA EN COMPUESTOS FENÓLICOS

4.2.2.2.4.1 Índice de polifenoles totales (IPT)

El índice de polifenoles totales (IPT) es una medida de la riqueza en compuestos fenólicos de los vinos. Los polifenoles son un grupo de compuestos muy amplio y variado que están presentes en mayor o menor medida en casi todos los frutos (en el caso de la manzana es menor). En la manzana no existen antocianos ni elagitaninos como en la uva u otras frutas pero sí existe una amplia variedad de otros compuestos fenólicos: ácidos fenólicos, flavanoles (catequina, epicatequina), flavonoles, etc (Yildirim, 2006).

En el Anexo A, Tabla A-13 se puede observar los valores experimentales para el índice de polifenoles totales. Considerando el factor A: Tipo de levadura, es posible decir que existe una mínima diferencia, sin embargo se puede comprobar que la utilización de paquetes enzimáticos de clarificación afecta significativamente el contenido en compuestos fenólicos puesto que si se comparan los tratamientos b_1 y b_2 frente al tratamiento b_3 independientemente del tipo de levadura que se utilizó para la fermentación se ve una variación bastante amplia en el contenido de compuestos fenólicos. Así los vinos elaborados con tratamiento enzimático pre y posfermentativo presentan valores iguales a 14,07 y 14,20 (UA) respectivamente; mientras que el tratamiento en el que no se adiciono ningún paquete enzimático presenta un valor de 17,07 (UA) para levadura de

pan. Para los vinos fermentados con levadura vínica Lalvin EC 1118 con tratamiento enzimático pre y posfermentativo se registran valores de 13,04 y 13,44 (UA) respectivamente; en cambio el tratamiento en el que no se adiciono ningún paquete enzimático presenta un valor de 18,17 (UA).

Los polifenoles están formados por una o más moléculas de fenol y contribuyen de forma notable en las características organolépticas del vino (color, astringencia, etc.). Los vinos blancos contienen menos polifenoles que los tintos, porque en su proceso de elaboración no se incluye la maceración del mosto con la piel y partes sólidas de la fruta, principal origen de los polifenoles (Office International de la Vigne et du Vin (OIV),

En bibliografía no se encontró valores exactos para vino de manzana, sin embargo se encontraron valores habituales de IPT para vino blanco comprendidos entre 14 – 20 UA, (en modo comparativo se ubica el vino de manzana dentro de este tipo de vino); 20 – 25 para rosados, 35 – 60 para tintos y 50 – 100 para crianza y reserva. (Office International de la Vigne et du Vin (OIV), 1990). Con lo cual corroboramos los datos obtenidos en la fase experimental que se encuentran dentro de los rangos establecidos por normas internacionales.

En el Anexo B, en la Tabla B-27 se reporta el análisis de varianza efectuado sobre los valores de índice de polifenoles totales (IPT) (Anexo A, Tabla A-13) al finalizar la fase de maduración con un nivel de significancia de 0,05; se determinó que no existe diferencia significativa, es decir que la utilización de dos tipos de levadura y el momento de adición de la enzima no incide en el valor de extracto seco del producto final.

4.2.2.2.4.2 Polifenoles totales (PT)

En el Anexo A, Tabla A-14, se puede valorar que el comportamiento de los polifenoles totales (PT) es semejante del índice de polifenoles totales (IPT). En el vino elaborado con la utilización de levadura de pan, los sistemas que

recibieron tratamiento enzimático (b_1 y b_2) tienen un contenido de polifenoles totales igual a 538,14 y 537,7 mg/lit respectivamente, valores inferiores al reportado para el tratamiento b_3 que únicamente obedeció a un proceso de clarificación natural, que fue igual a 556,22 mg/lit.

A su vez, mediante el empleo de levadura vínica para el proceso de fermentación se obtienen valores inferiores con respecto a los obtenidos a la levadura de pan. En los tratamientos b_1 y b_2 con adición de enzima en distinta etapas del proceso el valor de polifenoles totales es de 508,01 y 480,78 mg/lit respectivamente, el tratamiento que no recibió un proceso de clarificación por enzimas muestra un valor alto igual a 577,43 mg/lit.

Bibliográficamente el valor de polifenoles totales (PT) en vinos blancos y sidras de manzana varia en un rango de 489,96 – 720,25 mg/litro; por consiguiente las respuestas experimentales para este parámetro analizado se encuentra dentro de los límites establecidos (Alonso – Salces *et al.*, 2006).

En el Anexo B, en la Tabla B-28 se reporta el análisis de varianza efectuado sobre los valores de polifenoles totales (PT) (Anexo A – Tabla A-14) al finalizar la fase de maduración con un nivel de significancia de 0,05; se concluye que no existe diferencia significativa, es decir que la utilización de dos tipos de levadura y el momento de adición de la enzima no incide en el valor de extracto seco del producto final.

4.2.2.2.5 Medición de la turbidez

La turbidez de los vinos se midió en un turbidímetro, equipo que mide la intensidad de luz dispersada a 90 grados cuando un rayo de luz pasa a través de la muestra analizada. La turbidez se expresa en NTU, (Nephelometric Turbidity Units).

Según, (Office International de la Vigne et du Vin (OIV), 1990), La turbidez constituye un parámetro que permite valorar objetivamente el efecto de un tratamiento clarificante con respecto a otro y dar inicio a la fermentación del mosto "limpio".

En la Tabla A-12 del anexo A, se reporta la turbidez de todos los vinos al final de la fase de maduración. Como se puede observar la medida de turbidez ha sido muy útil para apreciar el efecto clarificante de las enzimas pectolíticas. Los vinos correspondientes a los tratamientos b3 (sin adición de enzima) presentan una turbidez muy marcada (entre 150 y 280 NTU), mientras que los vinos tratados con enzimas están perfectamente transparentes, con valores de turbidez entre 13 y 30 NTU. El momento de adición de los enzimas no parece afectar al valor final de la turbidez, puesto que no hay diferencias significativas entre los tratamientos b_1 y b_2 . Si se añaden al comienzo de la fermentación, los mostos-vinos se clarificarán antes, y las fermentaciones se producirán en mostos limpios, mientras que si se añaden tras la fermentación, ésta tendrá lugar en mostos turbios, y la clarificación se producirá en el vino. En cualquier caso los valores finales de turbidez serán muy semejantes.

En cuanto al factor A, las levaduras no han influido en la turbidez final de los vinos.

(Clariss *et al.*, 1991), reporta valores que la turbidez en vinos de manzana varia entre los 75,8 – 5,9 NTU, por consiguiente los vinos elaborados en este estudio se encuentran dentro de los rangos establecidos.

Sin embargo al analizar la Tabla B-26 del Anexo B en el análisis de varianza efectuado sobre los valores de turbidez (Anexo A, Tabla A-12) al finalizar la fase de maduración con un nivel de significancia de 0,05; se concluye que no existe diferencia significativa, es decir que la utilización de dos tipos de

levadura y el momento de adición de la enzima no incide en el valor de extracto seco del producto final.

4.2.2.3 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS DOS MEJORES TRATAMIENTOS a_1b_3 (levadura de pan, sin tratamiento enzimático) y a_2b_3 (levadura *Vínica Lalvin EC 1118*, sin tratamiento enzimático).

El análisis microbiológico con respecto al recuento total de mohos y levaduras para vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*), que se aplicó una vez terminado el proceso de maduración y asumiendo condiciones aceleradas (40 °C) con un seguimiento cada tres días, se presenta en la Tabla, A-19 Y A-20 del Anexo A. Se puede apreciar que no hay presencia de mohos y levaduras en el vino, en todas las diluciones y en el blanco, esto se debe a que al vino al finalizar la fermentación se le añadió 50 ppm de metabisulfito de sodio que ejerce una acción inhibitoria sobre los microorganismos como mohos y levaduras.

En la Tabla A-17 Y A-18 se observa que el análisis microbiológico aplicado para Recuento Total (ufc/ml), muestra un resultado similar a lo mencionado anteriormente para mohos y levaduras es decir ausencia total en todas las diluciones y en el blanco; es importante mencionar que las muestra fue sometida a condiciones aceleradas (40 °C) y con un seguimiento cada tres días.

4.2.2.4 ANÁLISIS DE GRADO ALCOHÓLICO DE LOS DOS MEJORES TRATAMIENTOS

Se realizó el análisis de grado alcohólico en el mejor tratamiento obtenido con levadura *vínica Lalvin EC 1118* y en el mejor tratamiento con levadura de pan *Levapan*, determinando que el contenido alcohólico es mayor en el vino elaborado a partir de levadura *vínica Lalvin EC 1118 (S. bayanus)*.

El grado alcohólico tiene más importancia que la concentración inicial de azúcar del mosto, la estimación de la concentración final de etanol. Durante la fermentación aproximadamente la mitad del peso del azúcar se transforma en alcohol, el balance restante a dióxido de carbono (Rankine, 2000).

En el Anexo A, Tablas A-17 y A-18 se muestra los resultados de los ensayos, reportando para los tratamientos a_1b_3 (levadura de Pan-Sin tratamiento enzimático); y, tratamiento a_2b_3 (levadura vínica Lalvin EC 1118-Sin tratamiento enzimático), valores de 14,6 y 15,2° GL respectivamente.

Como referencia tenemos que la NTE INEN 374 para vinos de frutas muestra los requisitos para grado alcohólico a 20° C, la misma que oscila entre 5 – 18° GL. Por consiguiente los dos mejores tratamientos de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) se encuentran dentro de los rangos establecidos.

4.2.2.5 ANÁLISIS SENSORIAL

Cumplidos los 42 días de maduración, se realizó el Análisis Sensorial de los vinos elaborados, para lo cual se selecciono un grupo de 36 estudiantes de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Bioquímica, que hayan aprobado el modulo de Análisis Sensorial; puesto que de esta manera se asegura que los catadores reconozcan: sabores amargos, ácidos y dulces, olores y colores básicos y característicos de la materia prima.

Se utilizo la ficha de catación (Anexo H), y se trabajo con los 36 catadores seleccionados para las catacioens entre ellos 18 mujeres y 18 hombres.

En la Tabla A-16 del Anexo A se observan los resultados de la catación, en donde se especifica los tres tratamientos que se les asigno a cada catador de acuerdo al diseño Lattice Rectangular 3^4 y la calificación que cada uno de ellos le asigno a la muestra de acuerdo a la escala hedónica de 7 puntos que se propuso (Anexo H).

4.2.2.5.1 Examen visual

Color: En la Tabla B-33 se reporta el Análisis de Varianza aplicado sobre las calificaciones que cada catador asignó al atributo sensorial de color, se demuestra que no hay diferencia significativa entre los tratamientos, es decir el tipo de levadura y el momento de adición de la enzima no provocan ningún efecto sobre el color final del vino.

Desde un punto de vista porcentual, el 69% de los catadores ubicaron al vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) en la escala 5 de la ficha de catación manejada (Anexo H); calificando a las muestras de vino en el nivel de “me gusta ligeramente”, dentro de la escala hedónica presentada.

4.2.2.5.2 Examen Olfativo

Aroma: Al realizar el Análisis de Varianza Tabla B-30 de los distintos tratamientos, se demuestra que no existe diferencia significativa, con lo que nos indica que el tipo de levadura y el momento de adición de la enzima no provocan ningún efecto sobre el aroma final del vino.

Porcentualmente, los catadores ubicaron al vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) en la escala 5 de la ficha de catación usada (Anexo G) con un porcentaje igual al 65%; catalogándolo en el nivel de “me gusta ligeramente”, dentro de la escala hedónica presentada.

4.2.2.5.3 Examen Gustativo

Dulzor: En la Tabla B-34 se observa el Análisis de Varianza realizado para los distintos tratamientos, cabe mencionar que los seis tratamientos y sus respectivas replicas fueron ajustados a 12 °Brix una vez terminado su proceso de maduración. Los resultados obtenidos del análisis estadístico demuestran que no existe diferencia significativa, es decir el tipo de levadura y el momento de adición de la enzima no influyen sobre el grado de dulzor del vino.

A su vez, el 60% de los catadores ubicaron al vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) en la escala 4 de la ficha de catación utilizada (Anexo G); catalogándolo en el nivel de “ni me gusta ni me disgusta”, dentro de la respectiva escala hedónica.

Acidez: Al realizar el Análisis de Varianza Tabla B-29 de los distintos tratamientos, se demuestra que no existe diferencia significativa, de modo que el tipo de levadura y el momento de adición de la enzima no provocan ningún efecto sobre la acidez que alcanza el vino.

Desde un punto de vista porcentual el 60 % de los catadores ubicaron el grado de acidez del vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) en la escala 4 de la ficha de catación utilizada (Anexo G); catalogándolo en el nivel de “ni me gusta ni me disgusta”, dentro de la respectiva escala hedónica.

Astringencia: En la Tabla B-31 se reporta los resultados de Análisis de varianza efectuado sobre las calificaciones asignadas por los catadores para la astringencia con un nivel de significación de 0,05; se determina que existe diferencia significativa en el factor: A tipo de levadura.

Al aplicar la prueba de Diferencia Mínima Significativa, con un nivel de significancia del 0,05 sobre el Factor A: Tipo de levadura, se corrobora que la utilización de dos tipos de levadura provoca un efecto distinto en el grado de astringencia que presenta el vino cuando está listo para su consumo, de modo que los vinos que mayor astringencia reportan son los obtenidos con el Factor A nivel 2 es decir utilizando levadura vínica Lalvin EC 1118 cuyo valor medio es igual a 5,22 frente al valor medio obtenido con levadura de pan cuya media es igual a 4,70.

Sin embargo, el 60% de los catadores calificaron el grado de astringencia del vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) en el nivel 4 de la ficha de catación empleada (Anexo G); catalogándolo como “ni me gusta ni me disgusta”, dentro de la respectiva escala hedónica.

Impresión global: Al realizar el Análisis de Varianza Tabla B-35 de los distintos tratamientos, se demuestra que no existe diferencia significativa, es decir que el tipo de levadura y el momento de adición de la enzima no produce ningún efecto en la Impresión Global que adquiere el Vino.

Porcentualmente, los catadores calificaron al vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) en la escala 5 de la ficha de catación usada (Anexo G) con un porcentaje total igual al 67 %; catalogándolo en el nivel de “me gusta ligeramente”, dentro de la respectiva escala hedónica.

4.2.3 Tiempo de estabilidad del vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) en los dos mejores tratamientos.

En el Anexo E, Tabla E-1 se reporta los cambios en la absorbancia a 420nm (UA) registrados durante un período de 40 días, bajo condiciones aceleradas (temperatura constante de 40° C), en los dos mejores tratamientos: a₁b₃ (levadura de pan-sin tratamiento enzimático); y, a₂b₃ (Lalvin EC 1118-sin tratamiento enzimático), del vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*).

El control de este parámetro bajo condiciones aceleradas busca evaluar la oxidación de los pigmentos (pardeamiento del vino) al someterlo a condiciones aceleradas de temperatura (40° C). (Yildirim, 2006), reporta un valor de 0,259 UA para dicho parámetro; a una longitud de onda de 420nm, en vino de manzana. Enuncia que a esta medida espectrofotométrica y bajo temperaturas oscilantes entre 35 – 40° C los pigmentos del vino se degradan iniciando la oxidación del producto.

En el Anexo E, Tabla E-2 y gráfico E-1, se puede apreciar el cálculo realizado para la determinación de la ecuación que describa la cinética para la estabilidad del vino, bajo una cinética de primer orden, así para el tratamiento a₁b₃ (Levadura de pan-sin adición de enzima) se obtuvo la siguiente ecuación:

$$\ln C = 0,01 t - 1,7467$$

$$\ln (0,259) = 0,01 t - 1,7467$$

$$t = ((\ln (0,259) + 1,7467) / 0,01)$$

$$t = 40 \text{ días}$$

Mientras que para el tratamiento a_2b_3 (LALVIN EC 1118-sin adición de enzima) se obtuvo la siguiente ecuación:

$$\ln C = 0,0136 t - 1,7901$$

$$\ln (0,259) = 0,0136 t - 1,7901$$

$$t = ((\ln (0,259) + 1,7901) / 0,0136)$$

$$t = 32 \text{ días}$$

Mediante la sustitución del valor bibliográfico reportado por Yildirim, 2006 se obtiene un valor de tiempo de estabilidad para los tratamientos, de modo que: en el tratamiento a_1b_3 (levadura de pan-sin adición de enzima); y a_2b_3 (LALVIN EC 1118-sin adición de enzima), en vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*); son 40 y 32 días respectivamente, en los cuales se evidenció la oxidación de los pigmentos tales como la quercetina (flavonoide predominante en la manzana, cebolla y vinos blancos o tintos).

Uno de los más prestigiosos viñedos de Burdeos (*Château Cos d'Estournel*); demostró que durante el verano europeo en el vino blanco de Burdeos, exclusivamente en el caso del *Sauternes* dulce; tiende a producirse un leve pardeamiento a causa de las altas temperaturas (entre los 40 – 45° C); y que al efectuar pruebas espectrofométricas tales como tonalidad o índice de color, IPT, PT entre otras; la oxidación de los pigmentos se produce a un promedio de 0,246 UA tomando como referencia absorbancias a 420 nm en el caso de tonalidad; con los cual el producto se degrada en un lapso de 76

días, en las bodegas a esas condiciones de temperatura (Chatonnet *et al.*, 1992).

4.2.4 Rendimiento de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*)

Analizando los balances de materiales del Anexo D, Gráficos D-1 al D-6 se obtienen los rendimientos expresados en porcentaje de cada uno de los tratamientos del vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*). En la Tabla A-15 del Anexo A, se reporta de forma resumida los pesos iniciales de mosto y la cantidad final de vino, expresados en Kg obtenida en cada uno de los tratamientos luego de las distintas etapas del proceso de elaboración. Es importante mencionar que los mostos que se utilizaron para la fermentación estaban libres de sólidos (semillas, y cascara de la manzana).

Se puede observar que la utilización de un mosto limpio para el proceso de fermentación incrementa el rendimiento del producto final, de modo que los porcentajes más altos de producto final fueron 88,53% y 87,24%; y corresponden al tratamiento a_1b_1 (levadura de pan, tratamiento enzimático pre fermentativo) y a_2b_1 (levadura vínica Lalvin EC 1118, tratamiento enzimático pre fermentativo) respectivamente.

En los tratamientos a_1b_2 (levadura de pan, tratamiento enzimático post fermentativo) y a_2b_2 (levadura vínica Lalvin EC 1118, tratamiento enzimático post fermentativo), se obtienen valores medios de rendimiento, los mismos que corresponden a 83,34% y 84,70% respectivamente.

El menor rendimiento se reporta en los tratamientos a_1b_3 (levadura de pan, sin adición de enzima) y a_2b_3 (levadura vínica Lalvin EC 1118, sin adición de enzima), con valores iguales a 78,89% y 80,58% respectivamente, puesto que el proceso de clarificación ocurrió de forma natural por lo que las

cantidades de concho después de cada trasiego son altas respecto a las cantidades obtenidas en los tratamientos b_1 y b_2 .

4.2.5 Estimación Económica

La ausencia de la industria ecuatoriana dentro de la producción de bebidas alcohólicas fermentadas, como vino de manzana de buena calidad, mediante el empleo de preparados enzimáticos y de levaduras de carácter vínico ha sido muy evidente en el mercado. De manera que, el presente estudio económico busca establecer la factibilidad de fortalecer el trabajo que ha desarrollado de manera artesanal la Asociación de mujeres Asociación de Mujeres Campesinas Alborada ASOMA; a partir del aporte tecnológico que los resultados constituirían para la optimización en la elaboración de un producto mejorado, sin que su costo sea elevado.

Con el fin de conocer el costo de esta tecnología de vinificación empleando levadura vínica y de panificación, se propuso realizar una estimación económica entre el mejor tratamiento obtenido, con levadura de pan y el mejor tratamiento obtenido con levadura vínica, para la elaboración de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*); a_1b_3 (Levadura de Pan-Sin adición de enzima) y, a_2b_3 (LALVIN EC 1118-Sin adición de Enzima), con el propósito de contrastar diferencias entre ambos, en lo que respecta a los costos correspondientes de producción y expendio del vino en el mercado local y nacional. Para los dos tratamientos se partió de 6 kg de manzana, es decir que las pruebas se hicieron a nivel de laboratorio.

En el Anexo F, Tablas F-1, F-2, F-3, F-4 y F-5; se detalla los costos de producción que se considero en el proyecto de investigación desarrollado, que busca potenciar y mejorar la producción de Vino de Manzana, variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*), de la Asociación de Mujeres Campesinas Alborada de la comunidad Santa Rosa, empleando la levadura vínica LALVIN EC 1118. Al mismo tiempo confrontaremos la efectividad del

estudio, con el que empleo levadura de panificación LEVAPAN (*S. cerevisiae*) en la elaboración del mismo producto; que a su vez está detallado en el Anexo F, Tablas F-6, F-7, F-8, F-9 y F-10.

En el mejor tratamiento reportado con el empleo de la levadura vínica LALVIN EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*), a partir del balance de materiales y de costos desarrollado, se obtiene que la botella de vino de 750 ml para la venta al público cuesta \$ 3,59; con una utilidad por parada igual al 43,13%. En contraste el mejor tratamiento reportado con la utilización de levadura de panificación LEVAPAN (*S. cerevisiae*), con características similares a la que se vende en el mercado nacional reporta un precio igual a \$ 3,58 por cada botella de 750 ml, con una utilidad del 43,13 %; que es mayor a lo que normalmente se busca en el precio de venta al público. (30 %).

Teniendo en cuenta que el precio de un vino de manzana con características organolépticas similares en el mercado, esta aproximadamente comprendido entre los USD 4,50 – USD 5,00; se lo puede catalogar como aceptable por el consumidor desde el punto de vista económico. Se podría esperar una ganancia neta de \$ 2,24 y \$ 2,25 por botella de vino de 750 ml utilizando las levaduras mencionadas anteriormente; lo que significa una ganancia representativa para la planta piloto de la Asociación de Mujeres Campesinas Alborada (ASOMA). Desde el punto económico del producto final se aconseja emplear la levadura vínica LALVIN EC 1118 (*S. bayanus*), puesto que supone un menor tiempo de amortización de la materia prima y del producto elaborado, además que sus cualidades aromáticas son sutiles y de bouquet insuperables.

4.3 VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS

Se ha rechazado la hipótesis nula que señala que la utilización de enzimas antes o después de la fermentación no influye en la eficiencia de la operación de clarificación para la obtención de vino de manzana variedad

Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) como producto final. La discusión presentada en las secciones precedentes da cuenta de la situación para los distintos parámetros evaluados.

En consecuencia, se acepta la hipótesis alternativa, $T \neq 0$, es decir que La utilización de enzimas antes o después de la fermentación influye en la eficiencia de la operación de clarificación para la obtención de vino de manzana como producto final el empleo de levaduras vínicas y panificación si influye significativamente en la calidad sensorial final del vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*).

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- Se 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 variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheím*). Para este estudio se consideró como variable el momento de adición del paquete enzimático (pre fermentativo, post fermentativo y sin adición de enzimas). Luego de desarrollar distintos análisis de carácter físico – químicos, espectrofotométricos, cromatográficos y sensoriales, se obtuvo los dos mejores tratamientos: a₁b₃ (levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*) - sin adición de enzima) y a₂b₃ levadura vínica Lalvin EC 118 (*S. cerevisiae bayanus*) - sin adición de enzima), de modo que se concluye 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.
- Se realizó una comparación entre el comportamiento fermentativo de la levadura vínica (Lalvin EC 1118) frente a la levadura de panificación (Levapan), para dicho propósito se analizó el efecto sobre las características físico-químicas en mostos de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheím*). Durante la fase de fermentación y maduración, la levadura que mejor desempeño tuvo fue la levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*), independientemente del momento de adición de la enzima pectolítica utilizada; siendo así que el tiempo necesario para el consumo de azúcares fermentables

del mosto fue mucho menor en los tratamientos que utilizaron levadura vínica Lalvin EC 1118 para su proceso de fermentación. En lo que respecta a acidez, este parámetro se mantuvo constante con pequeñísimas variaciones. El valor de pH en los tratamientos fermentados a partir de la utilización de levadura vínica Lalvin EC 1118 alcanzaron valores más bajos. Se realizó el análisis de grado alcohólico en el mejor tratamiento obtenido con levadura vínica Lalvin EC 1118 y en el mejor tratamiento con levadura de pan Levapan, determinando que el contenido alcohólico es mayor en el vino elaborado a partir de levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*).

- Se infirió el mejor tratamiento en base a los atributos evaluados durante el análisis sensorial del vino obtenido. Para lo cual, se evaluó atributos tales como color, aroma, dulzor, acidez, astringencia, y apreciación global, utilizando una ficha de catación con una escala de 7 puntos. Concluida la evaluación sensorial, se realizó un análisis estadístico, que seleccionó al tratamiento a_1b_3 (levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)- Sin adición de enzima) como mejor tratamiento, puesto que fue de mayor agrado por parte de los catadores en cuanto a su apreciación global. Los catadores no denotan diferencia significativa alguna en los atributos de color, aroma, dulzor, acidez, astringencia. El segundo mejor tratamiento fue atribuido al tratamiento a_2b_3 (levadura vínica LALVIN EC 1118 (*S. bayanus*)- Sin adición de enzima). Es importante mencionar que la evaluación sensorial se efectuó con muestras de vino aun tierno, a lo que se atribuye el hecho de que los catadores no denotan diferencia significativa alguna en los atributos evaluados, puesto que no se le asignó un tiempo prudente para que el vino desarrolle un bouquet propio de las levaduras que se utilizaron.

- Se realizó un estudio de costos de producción del mejor tratamiento con levadura vínica y con levadura de panificación. El tratamiento a₁b₃ (levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)- Sin adición de Enzima) con características aceptables por el consumidor reporta un precio igual a \$ 3,58 por cada botella de 750 ml, con una utilidad del 43,13 %. Para el mejor tratamiento elaborado con el empleo de la levadura vínica a₂b₃ (levadura vínica LALVIN EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)- Sin adición de enzima), teniendo en cuenta el balance de materiales y de costos desarrollado, la botella de vino de 750 ml para la venta al público se valora en \$ 3,59; con una utilidad por parada igual al 43,13%. Por lo que se concluye que el vino elaborado en este trabajo de investigación puede competir productivamente con los vinos que se comercializan en el mercado.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda la utilización de la levadura vínica LALVIN EC1118 (*S. cerevisiae bayanus*), si se desearía tener eficiencia durante el proceso de fermentación acelerando la misma; y obteniendo rendimientos sumamente altos debido a que se obtiene el vino para la venta al público en un corto tiempo lo que implica beneficios económicos y tecnológicos, al evitar mantener la materia amortizada en la planta de producción de vino de manzana.
- Se recomienda la utilización de enzimas pectolíticas Lallzyme C-max en una proporción de 0,03 g/ kg de fruta si se va a realizar un tratamiento enzimático pre fermentativo y en una proporción igual a 0,01 g/ lt de vino cuando se pretende realizar un tratamiento enzimático post fermentativo; puesto que mejora la eficiencia de la fase de clarificación y el rendimiento del producto final.

- Se recomienda trabajar bajo condiciones asépticas para evitar contaminación microbiana en el producto final, por consiguiente evitar el proceso de pasteurización debido a que si este no es el adecuado se pierden muchos aromas del vino y se ve afectada la coloración del mismo.
- Se recomienda el desarrollo de otros estudios, en los que se reutilicen los conchos resultantes de los trasiegos ya sea para concentración o uso en nuevos procesos de fermentación, como suplemento en la elaboración de balanceados para consumo animal, de modo que se contribuya impida contaminaciones ambientales.

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1 DATOS INFORMATIVOS

- **Título:** “Estudio del Costo de Producción de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) con levadura de pan y levadura Vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*), sin tratamiento enzimático”.
- **Institución Ejecutora:** Asociación de Mujeres Trabajadoras Alborada en la parroquia Santa Rosa del cantón Ambato en la provincia de Tungurahua.
- **Beneficiarios** Asociación de Mujeres Trabajadoras Alborada (ASOMA).
- **Ubicación:** Santa Rosa – Tungurahua – Ecuador
- **Tiempo estimado para la ejecución:** 12 meses
Inicio: Julio del 2009 **Final:** Julio de 2010
- **Equipo técnico responsable:** Egda. María José Andrade, Ing. Gladys Navas, Ing. Jacqueline Ortiz.
- **Costo:** \$ 5,400.00

6.2 ANTECEDENTES DE LA PROPUESTA

El vino y los alimentos derivados de frutas son considerados alimentos de primera necesidad en algunas partes del mundo y, por lo tanto, las

exigencias de los consumidores son cada vez mayores. Junto con esto, el proceso de globalización y la búsqueda de mejores oportunidades de vida han provocado migraciones importantes que, al establecerse a través del mundo, han conservado sus tradiciones y su forma de alimentación.

Las bebidas con contenido alcohólico moderado en nuestra ciudad incrementan cada vez más su demanda, tanto en el hogar como restaurantes y centros de comercio, es así que el desarrollo de tecnologías que puedan ser aplicadas por los productores de frutas en especial de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*), constituyen temas de estudio que garantizan el desarrollo económico, tecnológico, industrial y social de la provincia de Tungurahua.

El proceso de elaboración de vino de manzana, empleando levadura vínica LALVIN EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*) y levadura de panificación Levapan (*S. cerevisiae*) no muestra una diferencia significativa en sus atributos organolépticas y ofrece seguridad fermentativa sin la necesidad de la utilización de enzimas pectolíticas que aceleren la fase de clarificación.

Además, de las investigaciones relacionadas al tema en estudio se puede destacar lo siguiente:

Se encontró un alto grado de adaptabilidad de las levaduras en sustratos de frutas como la manzana, kiwi, mango y papaya, adicionalmente la manzana fue la fruta que mejores resultados dio para la elaboración de vinos, ya que el kiwi, mango y papaya requieren incrementar la cantidad de azúcar (Sepúlveda, 1999).

Bayas (1989), manifiesta que los principales objetivos de este trabajo hacen referencia al estudio de los efectos del tipo de levadura, nutrientes y tipo de preparación de mosto y fermentación en la elaboración de vinos. Siendo así que se concluye que el tipo de levadura ensayada no afecta directamente al

trabajo final; con respecto al tipo de nutriente se pudo comprobar que si influye significativamente sobre el tiempo de fermentación mas no sobre el porcentaje de etanol producido.

Santana y colab. (2000), en cuanto al tiempo de decantación, la aplicación de carbón activado en la dosis comercial determino la reducción del periodo de clarificación hasta 250 horas. La adición de gelatina como clarificante determinó el mayor tiempo para la estabilización de la turbiedad, con un promedio de 400 horas. La utilización de carbón activado fue contraproducente en la coloración del vino de banano y en cambio la aplicación de bentonita y gelatina permitieron que el color característico del vino de banano se mantenga en una buena proporción.

Como consecuencia de todo lo anterior, existe hoy en el mundo una amplia variedad de oferta de derivados de frutas para el consumo humano, por lo que es de vital importancia el uso o la incorporación en la elaboración de vinos que compensen las nuevas exigencias de los consumidores.

6.3 JUSTIFICACIÓN

El consumo de vinos de fruta incrementa dentro de la población de consumo de bebidas moderadas, siendo recomendado y permitido su consumo debido a que son bebidas con bajos contenidos de alcohol, bajo contenido de etanol y alto contenido en vitaminas y minerales. No obstante, debido a la situación política y económica que enfrenta el país, el costo de las materias primas utilizadas para la fabricación de los mismos ha ido aumentando su valor, consecuentemente estos productos han aumentado su costo, y de esta manera se ha limitado la adquisición de vinos elaborados en base a frutas como la manzana.

Para evitar intoxicaciones por consumo del vino de manzana, los organismos estatales y municipios, establecen reglamentaciones para su manejo seguro,

bajo condiciones sanitarias adecuadas. Por otro lado estos organismos, conjuntamente con instituciones que realizan investigación deben trabajar para desarrollar proyectos de investigación enfocados a una necesidad real.

Siendo la Agencia Española de Cooperación Internacional para el Desarrollo (AECID), Centros españoles participantes y Centros Iberoamericanos participantes un organismo de control, que permitirá la difusión de la tecnología para que llegue a todos los involucrados, de modo que esto que los productores apliquen las tecnologías de procesamiento y buenas prácticas de manufactura, para la elaboración de vinos y por ende se corrija la calidad sensorial de estos productos, que son de alto consumo en la ciudad.

El desarrollo del proyecto ofrecería un producto con un valor agregado en su presentación conjuntamente con un tratamiento que garantice la inocuidad, esta es una necesidad de los productores de manzana de la parroquia Santa Rosa del cantón Ambato, quienes aspiran garantizar la seguridad microbiológica de los productos, cuyos volúmenes de demanda son cada vez más elevados.

La tecnología desarrollada tendrá como grupo meta la Asociación de Mujeres Trabajadoras Alborada y demás grupos de interés, a través de conferencias y entrega de manuales de la tecnología de elaboración de vino.

6.4 OBJETIVOS

6.4.1 OBJETIVO GENERAL

- Realizar un estudio de costos de producción del vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheím*) con levadura de pan y levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. bayanus*).

6.4.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Comparar los costos de producción de elaboración de vino de manzana, utilizando levadura vínica y de panificación.
- Determinar las propiedades físico – químicas del vino de manzana obtenido con levadura vínica y con levadura de panificación.
- Establecer el efecto de la utilización de dos tipos de levadura en los atributos sensoriales del producto final, vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*).

6.5 ANÁLISIS DE FACTIBILIDAD

El proyecto de investigación es de tipo tecnológico, ya que con ello se puede implementar nuevas técnicas en la elaboración de vino de manzana, para de esta forma lograr un producto de calidad y con mejores características organolépticas.

El análisis de factibilidad además es de carácter socio económico y ambiental, ya que se podrá aprovechar completamente el cultivo de manzana variedad Emilia, evitando de esta manera pérdidas económicas a los expendedores y productores de manzana, dando un uso práctico a este tipo de fruta.

Por medio de cataciones se demostró que el producto presenta buena aceptación por los consumidores, de modo que a partir de un análisis estadístico sobre la calificación asignada por cada uno de los catadores, se seleccionó al tratamiento a_1b_3 (levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)- Sin adición de enzima) como mejor tratamiento, puesto que fue de mayor agrado por parte de los catadores en cuanto a su apreciación global, el test utilizado consta de preguntas básicas y sencillas. (Anexo H).

En la siguiente Tabla se detalla los costos de producción de vino de manzana.

Tabla N°7. Costos de elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (Reineta Amarilla de Blenheim).

Materiales	Unidad	Cantidad	Valor Unitario (\$)	Valor Total (\$)
Manzanas	kg	6,00	0,80	4,80
Metabisulfito de sodio	kg	0,00075	10,00	0,01
Fosfato de amonio	kg	0,0002	40,00	0,01
Azúcar	kg	6,00	1,20	7,20
Levadura de Panificación	kg	0,0072	46,83	0,34
Enzima LALLZYME C-MAX	kg	0,0000	248,88	0,00
Envases (750 ml)	u	22,00	0,25	5,50
Total				17,85
Maquinarias y equipos				0,76
Servicios				18,20
Personal				24,00
Costo Total				60,82
Costo Unitario				2,76
La utilidad de la parada (43,13%)				49,18
Utilidad de cada botella				2,24
Costo de venta				3,59

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán, 2010.

6.6 FUNDAMENTACIÓN

El vino de manzana y los vinos blancos tienen una demanda considerable en nuestro país, especialmente en provincias de la zona centro del país como Tungurahua, Cotopaxi, Chimborazo y Bolívar. Su consumo se recomienda puesto que constituye una bebida de bajo contenido alcohólico.

En la Tabla 7, se puede apreciar una aproximación del costo de elaboración de vino de manzana, precio de venta al público que si se compara con los vinos que habitualmente se venden en el mercado es relativamente bajo; tomando en cuenta que este vino presenta mejores características

organolépticas y físico-químicas, y que su proceso de elaboración garantiza su inocuidad y seguridad de consumo.

El área de producción de vinos en nuestro país no ha sido atendida en su totalidad de modo que han sido empresas extranjeras las que han atendido las demandas y ofertas de los consumidores. El Banco Central del Ecuador registró importaciones de vino por unos \$2,7 millones en 2006, \$3 510 millones en el primer trimestre de 2007 y se espera que la cifra alcance los \$5 millones a finales de 2008, según los negocios (Zurita, 2009).

Descripción del proceso tecnológico para la elaboración de Vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*)

Recepción: El proceso de elaboración de un buen vino inicia con el recibimiento de una fruta madura, uniforme, sana y sin indicios de descomposición. El valor de sólidos solubles (°Brix) de la fruta fue de 11,5.

Pesado: La fruta se coloca sobre la balanza para determinar la cantidad de materia prima, a partir de la cual se va a partir, lo cual nos va a permitir determinar los pesos de los otros insumos a utilizarse.

Lavado: La manzana se lava con agua corriente potable para eliminar la tierra u otros materiales que pueden ser fuente de contaminación.

Cortado: Se lleva a cabo manualmente utilizando cuchillos y cortando las manzanas en cuatro partes.

Trituración: Para liberar el color, sabor y otros componentes se fracciona la fruta en una licuadora industrial por unos pocos segundos. La relación agua fruta es 3 a 1. El mosto, denominación que se le da al producto obtenido del proceso descrito anteriormente puede contener semillas, cáscaras, jugo, etc., dependiendo de la fruta.

Sulfitado: Con el objeto de eliminar impurezas, levaduras y hongos silvestres de la fruta se realiza un sulfitado, adicionando metabisulfito de potasio en una relación de 75 ppm (0.075 gr/lit).

Reposo: Se cierra el recipiente que contiene el mosto y se deja reposar durante 24 horas.

Adición de nutrientes: Transcurridas 24 horas, se realiza análisis de pH y °Brix en el mosto curado, a partir de esta determinación se conoce la cantidad de azúcar que se requiere para ajustar el mosto a 21 ° Brix. Por otro lado se adiciona fosfato de amonio (100 ppm) como nutriente para las levaduras con las que se va a trabajar.

Hidratación: Este procedimiento se lleva a cabo según lo indicado en la ficha técnica. Se utiliza agua a 37 °C, en donde se incorpora 0.3 gramos de levadura (vínica o de panificación) por cada litro de mosto.

Inoculación: El proceso de fermentación inicia con la adición de la levadura de panificación o vínica previamente activada en el mosto. Este proceso permite transformar el azúcar contenido en alcohol.

Fermentación: Para iniciar el proceso fermentativo se tapa el recipiente que contiene el mosto inoculado y se crea un pequeño agujero (10 cm) en la tapa para permitir muy ligeramente el ingreso de oxígeno, de esta manera se controla la presión originada por los gases producto de las reacciones de fermentación.

Primer trasiego: Esta operación se realiza para separar el vino de los sedimentos de fruta y los desechos de la fermentación (conchos), para ello se utiliza una manguera.

Termino de la fermentación: Luego de alcanzar los parámetros establecidos de acidez, pH y °Brix para el vino a obtener se procede a interrumpir el proceso de fermentación adicionando 100 ppm de metabisulfito de sodio.

Reposo: Se cierra el recipiente que contiene el vino y se deja reposar durante 15 días.

Segundo trasiego: Esta operación se realiza para separar el vino de los desechos posfermentativos, para ello se utiliza una manguera.

Maduración: El vino clarificado se deja en reposo, para que se desarrollen aromas y sabores especiales. El tiempo de maduración recomendable es de 3 a 4 meses.

Tercer trasiego: Esta operación se realiza para separa el vino de los desechos post-fermentativos, para ello se utiliza una manguera.

Endulzado: El mercado nacional prefiere el vino dulce por lo cual luego de un tercer trasiego se separa una pequeña cantidad de vino a la cual se agrega azúcar blanca para alcanzar un valor de 11 °Brix y se pasteuriza la mezcla a 70 °C por 5 minutos, luego se filtra en un lienzo y una vez frío se agrega al resto del vino mezclando perfectamente.

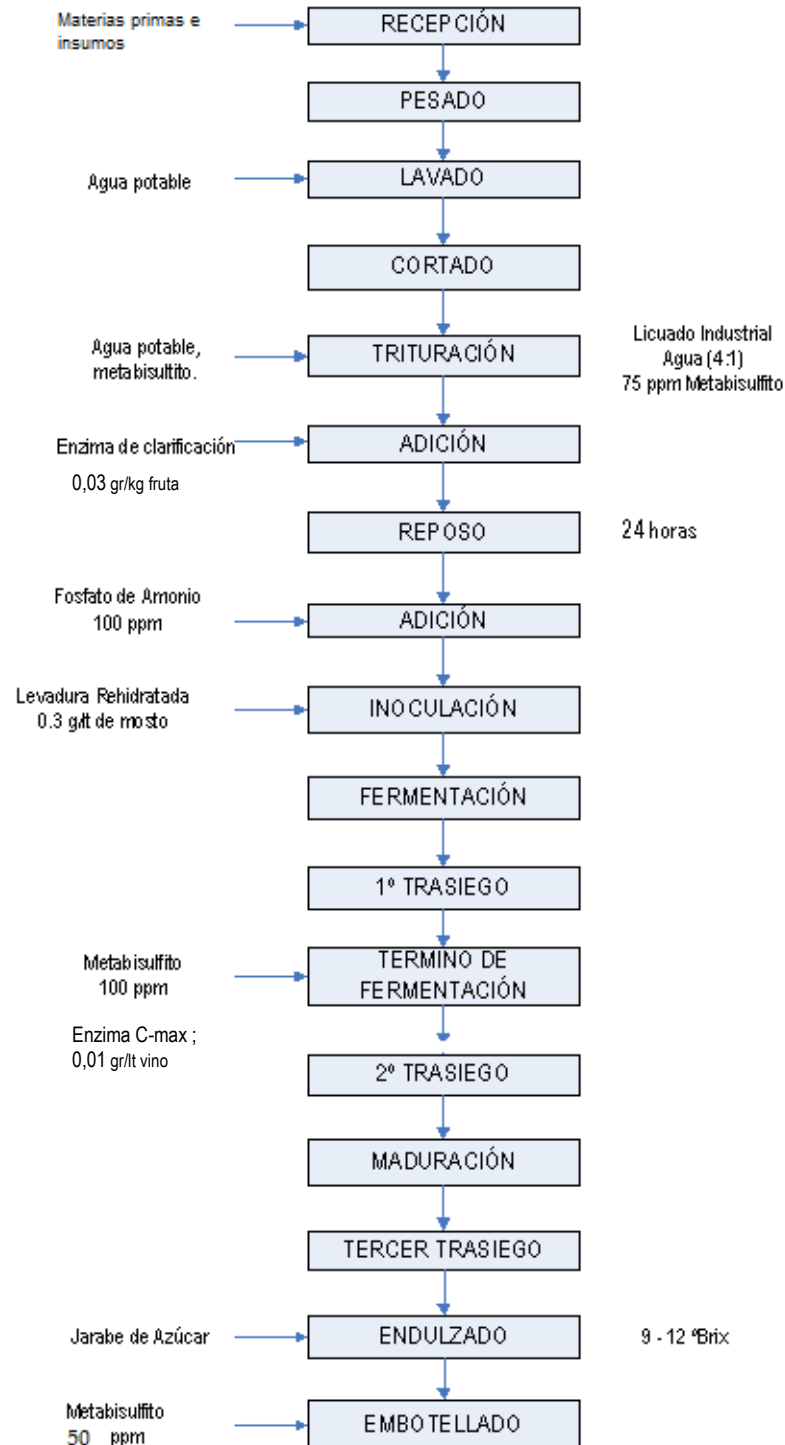
Sulfitado: Esta operación se realizó con la finalidad de impedir contaminaciones posteriores en los vinos obtenidos, se utilizo una dosis de metabisulfito de potasio de 50 ppm.

Embotellado: Transcurrido el tiempo de maduración recomendado, se procede a envasar el vino y a etiquetar las botellas indicando la fecha de elaboración. Las botellas deben llenarse dejando un pequeño espacio vacío,

ya que demasiada cantidad de oxígeno en el envase puede afectar el producto.

Almacenado.- Se lo realiza a temperatura ambiente, en un lugar fresco y seco.

Diagrama de Flujo para la elaboración de Vino de manzana, variedad Emilia (Reineta Amarilla de Blenheim)



ELABORACIÓN: María José Andrade Albán, 2010.

Análisis

Físico – Químicos

- Sólidos Solubles
- pH
- Acidez Total
- Extracto Seco

Microbiológicos

En los análisis microbiológicos se realiza: recuento para anaerobios totales, recuento de coliformes totales y mohos y levaduras.

Sensoriales

Dentro de los análisis sensoriales se evaluaron los siguientes atributos sensoriales:

- Color
- Olor
- Aroma
- Dulzor
- Acidez
- Astringencia
- Apreciación global

La evaluación sensorial se realiza empleando un panel de catadores semientrenados, utilizando la hoja de cata (Anexo H).

Estabilidad de vino.

Para la determinación de la vida útil se utiliza el método propuesto por Yildirim (2006), tomando como datos necesarios los cambios de color por espectrofotometría.

6.7 METODOLOGÍA

Para la elaboración de vino de manzana seguimos el procedimiento detallado en el Gráfico 02, cumpliendo normas de inocuidad que garanticen la calidad final del producto.

Cuadro 3 .Modelo Operativo (Plan de acción)

Fases	Metas	Actividades	Responsables	Recursos	Presupuesto	Tiempo
1. Formulación de la propuesta	Utilización de Materia Prima en Producción de Bebidas de Calidad	Revisión bibliográfica	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 900	3 meses
2. Desarrollo preliminar de la propuesta	Cronograma de la propuesta.	Elaboración del Producto	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 1500	5 meses
3. Implementación de la propuesta	Ejecución de la propuesta	Aplicación de Tecnología de elaboración del producto	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 1800	2 meses
4. Evaluación de la propuesta	Comprobación del proceso de la implementación.	Encuestas a consumidores	Investigador	Humanos Técnicos Económicos	\$ 1200	2 meses

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán, 2010.

6.8 ADMINISTRACIÓN

La ejecución de la propuesta estará coordinada por los responsables del proyecto Ing. Gladys Navas, Ing. Jacqueline Ortiz y Egda. María José Andrade.

Cuadro 4. Administración de la Propuesta

Indicadores a mejorar	Situación actual	Resultados esperados	Actividades	Responsables
Productos de calidad y excelentes características organolépticas	Tecnología inadecuada en la elaboración de vino de manzana.	Obtener un vino de frutas de excelente calidad sin alteraciones a las características originales.	Determinar los costos de producción de los mejores tratamientos. Realizar análisis físico – químicos, microbiológicos y sensoriales. Determinar el comportamiento fermentativo de la levadura vínica y de panificación.	Investigador: María José Andrade, Ing. Gladys Navas, Ing. Jacqueline Ortiz.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán, 2010.

6.9 PREVISIÓN DE LA EVALUACIÓN

Cuadro 5. Previsión de la Evaluación

Preguntas Básicas	Explicación
¿Quiénes solicitan evaluar?	<ul style="list-style-type: none">- Asociación de Mujeres Trabajadoras Alborada.- AECID, Centros españoles participantes y Centros Iberoamericanos participantes
¿Por qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none">- Verificar la calidad de los productos- Corregir errores tecnológicos
¿Para qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none">- Determinar la tecnología adecuada de elaboración de vino.
¿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.
¿Cómo evaluar?	<ul style="list-style-type: none">- Mediante instrumentos de evaluación.
¿Con qué evaluar?	<ul style="list-style-type: none">- Experimentación.- Normas establecidas

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán, 2010

7. BIBLIOGRAFÍA

Citas Bibliograficas:

ALULEMA. C, SALINAS. C, 1993, "Obtención de Vino a partir de Miel de Abeja". Tesis 146.

AMERINE, M. A.; OUGH, C. S., 1976, "Análisis de Vinos y Mostos", Editorial Acribia, Zaragoza – España, pág. 18-46.

ARIANSEN, E. 2009. Enología práctica: Conocimiento y elaboración del vino. Mundi-Prensa. Págs. 326 – 327, 405 – 407.

AZTI – DIFUSIÓN TECNOLÓGICA. 2001. Real Decreto 2001/1995, de 7 de diciembre, del Ministerio de Sanidad y Consumo. Aditivos autorizados en vinos y diversas bebidas alcohólicas a base de vinos. Elaborado por: Servicio de Información Alimentaria Aditivos alimentarios. Vino © AZTI 2000 (Sukarrieta).

BAYAS, Telmo, 1989, "Elaboración de vino de manzana (Malus communis)". Tesis 100.

BRUCE W. Zoecklein, KENNETH C. Fugelsang, y otros. 2001. "Análisis y Producción de Vino". Editorial Acribia S.A. Zaragoza – España. Pág. 251-273

CARBONELL, Razquin. 1970. "Tratado de Vinicultura". Primera Edición. Editorial AEDOS. Barcelona-España.

CABRERA, J. VELASCO, M., 1989, "Elaboración de vino a partir de manzana, pera, piña y mora a Escala Piloto". Tesis 102.

DEL POZO Freddy – VALENCIA Alex (2004). Establecer una tecnología para la obtención de una bebida alcohólica a partir de Maíz (*Zea mays* variedad morochon). Tesis 321 – FCIAL – UTA. Págs. 36 – 38.

DONÈCHE Bernard – DUBOURDIEU Dennis – LONVAUD Aline – RIBÈREAU-GAYON Pascal. 2003. “Tratado de Enología: Tomo 1. Microbiología del Vino - Vinificaciones”. Edt. Hemisferio Sur. Buenos Aires – AR. Págs. 69 – 99, 101 – 147.

DOÑATE, M. (1966), “Técnicas modernas de vinificación y de conservación de los vinos”, Primera edición española, Barcelona-España. Págs: 45-46

DURAN L. (1968). Vinos: Elaboración – Análisis. Tratamientos. Edt. Serrahima y Urpi. S. L. Barcelona – ES. Págs. 198 – 202.

FERNANDEZ. M, ZAPATA. E, 1994, “Elaboración de Vino de Uvilla (*Physalis peruviana*)”. Tesis 155.

FLANZY, Claude. 2000. “Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos”. Ediciones AMV. Primera Edición. Pág. 255 - 256.

GAMBOA, Mónica, 2003, “Utilización de Preparados Enzimáticos en la Producción de Vino de Mora (*Rubís glaucus Benth*)”. Tesis 307.

HERBERT G. (1986). Elaboración artesanal de licores. Edt. Acribia. Zaragoza – ES. Págs. 178 – 180.

HOUGH J. (1990). Biotecnología de la Cerveza y la Malta. Edt. Acribia. Zaragoza – ES. Págs. 210 – 214.

KOLB, Erich. 2002. "Vinos de Frutas: Elaboración Artesanal e Industrial". Editorial Acribia. Zaragoza-España.

KRETZSCHMAR H. (1961). Levaduras y Alcoholes y otros productos de la Fermentación. Primera Edición. Editorial Reverte S.A. Zaragoza – ES. Págs. 177 – 180.

LÓPEZ, Carlos, 1994, "Obtención de vino blanco a partir de babaco (Carica pentagonata)". Tesis 159.

MIJARES, Ma. Isabel. GARCIA, Pelayo. 2000. "Vino de la Cepa a la Copa". Tercera Edición. Ediciones Mundi Prensa. Barcelona-España.

MEILGAARD, C, 1991. Sensory Evaluation Techniques, 2nd Edition. CRC Press LLC. Pp. 354 – 356.

PASCAL Ribereau-Gayon y Colaboradores. 2003. "Tratado de Enología". Ediciones Mundi-Prensa. Editorial Hemisferio Sur. Buenos Aires-Argentina.

PROCEL, Luis Marcelo, 1985, "Elaboración de Vino de Pera "variedad piña" (Pirus comunis, variedad ANONNA MARICATUM)". Tesis 55.

RANKINE Bryce. 2000. Manual Práctico de Enología. Tercera Edición. Edt. Acribia. Zaragoza – ES. Págs. 156 – 166, 269 – 274, 298 – 304, 329 – 334.

RIBÉREAW J. 1989. Tratado de Enología: Ciencias y Técnicas del Vino. Edt. Hemisferio Sur. Primera Edición. Buenos Aires – AR. Págs. 33 – 34.

SALTOS Aníbal. 1993. "Bebidas Fermentadas Típicas: Sidras de Manzanas Tungurahuales". Proyecto PIAHIB – FCIAL – UTA.

SANTANA. E, SILVA. P, 2000, "Optimización del Proceso de Clarificación en Vino de Banano (*Musa sapientum*)". Tesis 264.

SEPÚLVEDA, E. 1999. Producción y Exportación De Vinos. Universidad Técnica Federico Santa María Sede Viña Del Mar. Págs. 115 – 123.

TORIJA, M. 2002. Ecología de levaduras: Selección y adaptación a fermentaciones vínicas. Tesis Ph.D. Universidad de Rovira I Virgili. Tarragona, España. 260 – 264pp.

VOGT E. (1971). La Fabricación de Vinos. Edt. Acribia. Zaragoza – ES. Págs. 213 – 216.

VILLACRES, Clara Elena, 1985, "Elaboración de vino de mora (*rubus glaucus*)". Tesis 56.- FCIAL – UTA.

Artículos Técnicos:

ALONSO – SALCES Rosa M, HERRERO Carlos, BARRANCO Alejandro, LÓPEZ – MÁRQUEZ Diana M, BERRUETA Luis A, GALLO Blanca and VICENTE Francisca. 2006. Polyphenolic compositions of Basque natural ciders: A chemometric study. J. Food Chem., 97 (5): 438 - 446.

BODEGAS. J. 2005. Las soluciones del aumento de pH están en el viñedo y en la elaboración. II Encuentro de Enólogos, Fundación para la cultura del vino No. 11 de abril. Pág. 12.

BONILLA, F., M. MAYEN, J. MERIDA and M. MEDINA. 2001. Yeasts used as fining treatment to correct browning in white wines. J. Agric. Food Chem., 49 (4): 1928 - 1933.

CHATONNET P., DUBOURDIEU D., BOIDRON J.N. Incidence des conditions de fermentation et d'élevage des vins blancs secs en barriques sur leur composition en substances cédées par le bois de chêne, *Sciences des Aliments* 1992; 12: 665-685.

CLARISS, O. G. and R. JUSTIN. 1991. Effect of ultrafiltration on apple wine quality and browning. *Am. J. Enol. Vitic.* 42 (4):347-353.

CORAZZA, M., D. RODRIGUES and J. NOZAKI. 2001. Preparation and Characterization of Apple Wine. *Quim. Nova.* 24 (4): 449-452.

DEGRE, R. 1993. Selection and commercial cultivation of wine yeast and bacteria En *Wine Microbiology and Biotechnology* (Fleet, G.H., ed.) Harwood Academic Publishers: 421-447.

NDIP, R., J. AKOACHERE, L. DOPGIMA and L.M.NDIP. 2001. A Characterization of yeast strains for wine production: effect of fermentation variables on quality of wine produced. *Appl Biochem Biotechnol.* 95(3):209-220.

OFFICE INTERNATIONAL DE LA VIGNE ET DU VIN (OIV). 1990. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins et moûts. Pp. 85 – 89, 153 – 154, 156 – 158, 160 – 163, 181 – 186, 215 – 218, 244 – 245, 269 – 271.

RIBÉREAU. G. P.1985. New developments in Wine Microbiology. *Am. J. Enol. Vitic.* 36(1):1-10.

YANG, H.Y. 1955. Selection of fruit and berries in wine production. *Am. J. Enol. Vitic.* 6(2):32-35.

YERAMIAN N., F. VARELA, F. CALDERÓN, B. COLOMO, A. MORATA, J.A. SUÁREZ LEPE y E.D. SANCHO. 2001. Acidificación del Mosto por *Saccharomyces spp.* VI Jornadas Científicas 2001 Grupos de Investigación Enológica. pp. 56-82.

YILDIRIM, H. K. 2006. Evaluation of colour parameters and antioxidant activities of fruit wines, *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 57:1, 47 – 63.

Páginas de Internet:

[1] FAO. 2003. Statistical database. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Available at <http://www.ecb.int/>. Accessed 25 August 2003.

[2] Producto conforme al Codex Enológico Internacional y al Reglamento EC 11493/99. Seleccionado, producido y distribuido por LALLEMAND dirección online www.lallemmandwine.com – fb.espana@lallemmand.com .

[3] GONZÁLEZ, María L. 2009. Los compuestos fenólicos y las características sensoriales de los vinos. Área de Tecnología de los Alimentos, Facultad Ciencias, Universidad de Burgos, Burgos – España. Available at http://www.percepnet.com/documenta/CS02_03.pdf. Accessed 15 February 2010 – 17:36:08 GMT.

[4] USDA. 2003. United States Department of Agriculture, Foreign Agricultural Services (FAS online). Available at <http://www.fas.usda.gov/htp/horticulture/fresh%20vegetables/12-23-083%20fresh%20veg%20article.pdf>. Accessed 30 June 2003.

[5] VIVAS, N., M. NEDJMA y A. JOSÉ. 2003. Los fenómenos coloidales y el afinado de los vinos. Nº 31 ACE. Revista de enología. Available at <http://www.acenologia.com/scripts/results.asp>. Accessed 02 March 2010 – 21:12:46 GMT.

[6] Pardeamiento enzimático;
<http://bitacoradeciencia.blogspot.com/2008/04/el-pardeamiento-enzimtico-de-los.html>

[7] ZAMORA F. 2005. El Anhídrido Sulfuroso; Algunas Reflexiones Sobre Este Aditivo. Enólogos Nº 38. Available at <http://www.enologo.com/tecnicos/eno38/eno38.html>. Accessed 23 March 2010 – 19:50:14 GMT.

[8] ZURITA M. 2009. Demanda de licores causa inflación de los precios. Diario Hoy. <http://www.hoy.com.ec/noticias-ecuador/demanda-de-licores-causa-inflacion-de-los-precios-321001.html>. Accessed 18 June 2010 – 17:04:10 GMT.

[9] MAS, A. M., J. TORIJA, G. BELTRÁN, M. NOVO, N. HIERRO, M. POBLET, N. ROZÉS y J. M. GUILLAMÓN. 2002. Selección de Levaduras Unitat d'enologia del Centre de Referència en Tecnologia dels Aliments. Facultat de Enología de Tarragona Universidad Rovira i Virgili, tecnología del vino, marzo/abril. Available al <http://www.alcion.es>. Accessed 15 February 2010 – 11:25:28 GMT.

ANEXO A

RESPUESTAS EXPERIMENTALES

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS

Tabla A-1. Cambios en el pH registrado durante la fermentación de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*)

Tratamiento	Tiempo (días)																				
	0	1	2	3	4	6	8	10	13	15	17	20	24	28	30	34	36	38	43	45	48
a1b1R1	3,93	3,72	3,48	3,30	3,30	3,25	3,23	3,30	3,14	3,02	3,19	3,18	3,21	3,21	3,26	3,19	3,17	3,19	3,21	3,23	3,25
a1b1R2	3,98	3,83	3,48	3,40	3,32	3,26	3,37	3,31	3,14	3,12	3,18	3,20	3,20	3,22	3,26	3,18	3,17	3,19	3,20	3,22	3,26
Promedio	3,96	3,78	3,48	3,35	3,31	3,26	3,30	3,31	3,14	3,07	3,19	3,19	3,21	3,22	3,26	3,19	3,17	3,19	3,21	3,23	3,26
a1b2R1	4,13	4,10	3,66	3,47	3,43	3,37	3,43	3,45	3,27	3,16	3,29	3,29	3,30	3,30	3,36	3,27	3,25	3,27	3,29	3,28	3,31
a1b2R2	4,10	3,96	3,61	3,53	3,43	3,41	3,46	3,45	3,29	3,27	3,31	3,32	3,32	3,33	3,37	3,31	3,29	3,30	3,32	3,33	3,35
Promedio	4,12	4,03	3,64	3,50	3,43	3,39	3,45	3,45	3,28	3,22	3,30	3,31	3,31	3,32	3,37	3,29	3,27	3,29	3,31	3,31	3,33
a1b3R1	4,12	3,92	3,70	3,43	3,42	3,37	3,39	3,38	3,21	3,14	3,25	3,24	3,25	3,25	3,31	3,22	3,21	3,23	3,24	3,26	3,29
a1b3R2	4,14	4,09	3,70	3,51	3,44	3,42	3,40	3,45	3,26	3,23	3,30	3,30	3,29	3,30	3,35	3,26	3,26	3,28	3,30	3,30	3,35
Promedio	4,13	4,01	3,70	3,47	3,43	3,40	3,40	3,42	3,24	3,19	3,28	3,27	3,27	3,28	3,33	3,24	3,24	3,26	3,27	3,28	3,32
a2b1R1	4,13	3,81	3,50	3,31	3,23	3,19	3,27	3,28	3,14	3,09	3,17	3,15	3,15	3,16	3,23	3,15	3,15	3,17	3,20	3,23	3,25
a2b1R2	4,10	3,84	3,44	3,31	3,24	3,22	3,31	3,27	3,10	3,08	3,17	3,15	3,15	3,14	3,18	3,11	3,11	3,11	3,14	3,30	3,28
Promedio	4,12	3,83	3,47	3,31	3,24	3,21	3,29	3,28	3,12	3,09	3,17	3,15	3,15	3,15	3,21	3,13	3,13	3,14	3,17	3,27	3,27

a2b2R1	4,11	3,92	3,57	3,47	3,41	3,33	3,37	3,36	3,18	3,13	3,20	3,19	3,18	3,17	3,22	3,14	3,15	3,16	3,18	3,19	3,22
a2b2R2	4,14	4,00	3,62	3,55	3,46	3,42	3,48	3,44	3,23	3,22	3,28	3,27	3,26	3,25	3,29	3,21	3,21	3,22	3,24	3,26	3,28
Promedio	4,13	3,96	3,60	3,51	3,44	3,38	3,43	3,40	3,21	3,18	3,24	3,23	3,22	3,21	3,26	3,18	3,18	3,19	3,21	3,23	3,25
a2b3R1	4,08	3,91	3,60	3,47	3,43	3,39	3,45	3,42	3,22	3,19	3,26	3,24	3,24	3,24	3,27	3,18	3,18	3,19	3,20	3,20	3,26
a2b3R2	4,14	4,01	3,58	3,48	3,42	3,31	3,39	3,37	3,19	3,17	3,23	3,22	3,20	3,20	3,24	3,15	3,15	3,17	3,18	3,21	3,25
Promedio	4,11	3,96	3,59	3,48	3,43	3,35	3,42	3,40	3,21	3,18	3,25	3,23	3,22	3,22	3,26	3,17	3,17	3,18	3,19	3,21	3,26

FUENTE: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

Tabla A-2. Cambios en los Sólidos Solubles registrados durante la fermentación de vino de manzana variedad Emilia (Reineta amarilla de blenheim)

Tratamiento	Tiempo (días)																				
	0	1	2	3	4	6	8	10	13	15	17	20	24	28	30	34	36	38	43	45	48
a1b1R1	21,2	20,0	19,8	19,0	18,8	18,4	17,4	16,4	15,2	14,4	13,6	12,2	11,0	10,2	9,6	9,0	8,2	8,0	7,6	7,2	7,2
a1b1R2	21,0	19,0	18,8	18,8	18,8	17,8	16,0	15,4	14,0	13,4	12,6	11,2	10,0	9,2	8,4	8,0	7,2	7,2	7,0	7,0	7,0
Promedio	21,1	19,5	19,3	18,9	18,8	18,1	16,7	15,9	14,6	13,9	13,1	11,7	10,5	9,7	9,0	8,5	7,7	7,6	7,3	7,1	7,1
a1b2R1	21,4	20,2	20,2	19,4	18,2	18,2	16,4	15,6	14,0	13,2	12,4	11,2	10,2	9,2	8,8	8,0	7,4	7,2	7,0	7,0	7,0
a1b2R2	21,2	19,4	19,2	19,0	18,6	17,8	16,6	15,0	13,6	12,6	12,0	10,6	9,2	8,4	7,6	7,0	7,0	7,0	7,0	6,8	6,8
Promedio	21,3	19,8	19,7	19,2	18,4	18,0	16,5	15,3	13,8	12,9	12,2	10,9	9,7	8,8	8,2	7,5	7,2	7,1	7,0	6,9	6,9
a1b3R1	21,0	20,0	19,2	18,8	18,8	18,0	16,2	15,4	14,0	13,2	12,2	11,2	10,0	9,0	8,2	8,0	7,2	7,0	7,0	7,0	7,0
a1b3R2	21,0	20,2	19,6	18,4	18,2	18,2	17,0	16,0	14,2	13,2	12,6	11,2	10,2	9,2	8,2	7,8	7,0	7,0	7,0	6,8	6,8
Promedio	21,0	20,1	19,4	18,6	18,5	18,1	16,6	15,7	14,1	13,2	12,4	11,2	10,1	9,1	8,2	7,9	7,1	7,0	7,0	6,9	6,9
a2b1R1	21,0	19,4	19,4	19,2	19,0	18,6	17,2	16,1	14,2	13,0	11,2	9,4	8,0	7,2	6,8	6,6	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4
a2b1R2	21,2	20,2	20,2	20,0	19,8	18,4	16,8	15,2	13,4	12,4	11,6	10,2	8,8	7,6	7,0	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4
Promedio	21,1	19,8	19,8	19,6	19,4	18,5	17,0	15,7	13,8	12,7	11,4	9,8	8,4	7,4	6,9	6,5	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4

a2b2R1	21,0	19,2	19,2	18,8	18,6	17,6	17,2	16,2	14,0	12,4	11,2	10,0	8,6	7,6	7,0	6,6	6,6	6,4	6,2	6,2	6,2
a2b2R2	21,0	20,2	20,2	19,2	19,0	18,0	18,0	17,2	14,2	12,4	12,0	10,2	9,0	8,0	7,0	6,8	6,8	6,6	6,6	6,6	6,6
Promedio	21,0	19,7	19,7	19,0	18,8	17,8	17,6	16,7	14,1	12,4	11,6	10,1	8,8	7,8	7,0	6,7	6,7	6,5	6,4	6,4	6,4
a2b3R1	21,0	19,0	18,6	18,6	18,4	17,8	17,2	16,0	13,6	12,6	11,6	10,2	9,0	8,0	7,2	6,8	6,8	6,6	6,6	6,6	6,6
a2b3R2	21,2	20,0	20,0	19,4	19,2	17,6	16,4	15,2	13,6	12,4	11,8	10,6	9,2	8,2	7,2	7,0	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8
Promedio	21,1	19,5	19,3	19,0	18,8	17,7	16,8	15,6	13,6	12,5	11,7	10,4	9,1	8,1	7,2	6,9	6,8	6,7	6,7	6,7	6,7

FUENTE: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

Tabla A-3. Cambios en la acidez registrados durante la fermentación de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheim*)

Tratamiento	Tiempo (días)																				
	0	1	2	3	4	6	8	10	13	15	17	20	24	28	30	34	36	38	43	45	48
a1b1R1	0,013	0,017	0,027	0,027	0,027	0,027	0,034	0,034	0,040	0,034	0,034	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
a1b1R2	0,020	0,020	0,020	0,027	0,027	0,027	0,027	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
Promedio	0,017	0,018	0,023	0,027	0,027	0,027	0,030	0,034	0,037	0,034	0,034	0,037	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
a1b2R1	0,013	0,013	0,020	0,020	0,020	0,027	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
a1b2R2	0,007	0,020	0,020	0,020	0,020	0,030	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
Promedio	0,010	0,017	0,020	0,020	0,020	0,028	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
a1b3R1	0,020	0,020	0,013	0,020	0,020	0,027	0,027	0,027	0,034	0,034	0,034	0,034	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
a1b3R2	0,013	0,013	0,020	0,020	0,020	0,027	0,027	0,027	0,034	0,034	0,034	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
Promedio	0,017	0,017	0,017	0,020	0,020	0,027	0,027	0,027	0,034	0,034	0,034	0,037	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
a2b1R1	0,013	0,020	0,020	0,020	0,020	0,027	0,027	0,027	0,034	0,034	0,034	0,034	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
a2b1R2	0,013	0,013	0,020	0,020	0,020	0,027	0,027	0,027	0,027	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034
Promedio	0,013	0,017	0,020	0,020	0,020	0,027	0,027	0,027	0,030	0,034	0,034	0,034	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037

a2b2R1	0,013	0,020	0,020	0,020	0,020	0,027	0,027	0,034	0,034	0,034	0,027	0,034	0,034	0,034	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
a2b2R2	0,020	0,020	0,027	0,020	0,020	0,020	0,027	0,027	0,034	0,034	0,034	0,034	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
Promedio	0,017	0,020	0,023	0,020	0,020	0,023	0,027	0,030	0,034	0,034	0,030	0,034	0,037	0,037	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
a2b3R1	0,007	0,013	0,020	0,020	0,020	0,020	0,027	0,027	0,027	0,034	0,034	0,034	0,034	0,040	0,047	0,047	0,047	0,040	0,040	0,040	0,040
a2b3R2	0,013	0,020	0,020	0,020	0,020	0,027	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,034	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040	0,040
Promedio	0,010	0,017	0,020	0,020	0,020	0,023	0,030	0,030	0,030	0,034	0,034	0,034	0,034	0,040	0,044	0,044	0,044	0,040	0,040	0,040	0,040

FUENTE: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁ Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)
a₂ Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. bayanus*)
b₁ Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂ Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃ Sin tratamiento enzimático
R₁ Réplica 1
R₂ Réplica 2

Tabla A-4. Cambios en absorbancia registrados durante la fermentación de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheim*)

Tratamiento	Tiempo (días)																				
	0	1	2	3	4	6	8	10	13	15	17	20	24	28	30	34	36	38	43	45	48
a1b1R1	0,269	0,214	0,350	0,242	0,151	0,127	0,194	0,133	0,316	0,352	0,296	0,324	0,318	0,312	0,381	0,356	0,355	0,367	0,358	0,357	0,484
a1b1R2	0,697	0,442	0,903	0,697	0,279	0,313	0,328	0,281	0,327	0,316	0,349	0,363	0,352	0,348	0,372	0,362	0,356	0,372	0,298	0,275	0,298
Promedio	0,483	0,328	0,627	0,470	0,215	0,220	0,261	0,207	0,322	0,334	0,323	0,344	0,335	0,330	0,377	0,359	0,356	0,370	0,328	0,316	0,391
a1b2R1	0,659	0,609	0,923	0,807	0,662	0,703	0,57	0,512	0,484	0,492	0,418	0,403	0,42	0,389	0,383	0,392	0,351	0,353	0,139	0,307	0,206
a1b2R2	0,651	0,726	0,912	1,055	0,626	0,682	0,650	0,577	0,631	0,643	0,535	0,507	0,522	0,553	0,538	0,533	0,526	0,550	0,569	0,556	0,498
Promedio	0,655	0,668	0,918	0,931	0,644	0,693	0,610	0,545	0,558	0,568	0,477	0,455	0,471	0,471	0,461	0,463	0,439	0,452	0,354	0,432	0,352
a1b3R1	0,888	0,964	1,324	1,198	0,730	0,823	0,840	0,686	0,740	0,751	0,632	0,646	0,686	0,648	0,630	0,654	0,645	0,581	0,686	0,655	0,662
a1b3R2	0,608	0,559	0,863	0,898	0,546	0,558	0,371	0,559	0,566	0,502	0,402	0,415	0,415	0,406	0,396	0,367	0,345	0,342	0,325	0,322	0,327
Promedio	0,748	0,762	1,094	1,048	0,638	0,691	0,606	0,623	0,653	0,627	0,517	0,531	0,551	0,527	0,513	0,511	0,495	0,462	0,506	0,489	0,495
a2b1R1	0,264	0,143	0,139	0,143	0,095	0,104	0,110	0,120	0,123	0,140	0,090	0,104	0,078	0,107	0,086	0,100	0,097	0,109	0,103	0,101	0,100
a2b1R2	0,290	0,199	1,216	0,143	0,094	0,100	0,094	0,105	0,134	0,131	0,098	0,113	0,078	0,106	0,101	0,115	0,107	0,104	0,091	0,103	0,102
Promedio	0,277	0,171	0,678	0,143	0,095	0,102	0,102	0,113	0,129	0,136	0,094	0,109	0,078	0,107	0,094	0,108	0,102	0,107	0,097	0,102	0,101

a2b2R1	0,457	0,517	0,752	0,604	0,438	0,440	0,435	0,408	0,409	0,403	0,381	0,365	0,384	0,348	0,362	0,357	0,340	0,360	0,352	0,329	0,254
a2b2R2	1,018	0,996	1,038	1,048	0,738	0,745	0,717	0,710	0,662	0,649	0,604	0,593	0,640	0,647	0,636	0,680	0,675	0,688	0,734	0,720	0,562
Promedio	0,738	0,757	0,895	0,826	0,588	0,593	0,576	0,559	0,536	0,526	0,493	0,479	0,512	0,498	0,499	0,519	0,508	0,524	0,543	0,525	0,408
a2b3R1	0,818	0,841	1,062	0,798	0,600	0,667	0,638	0,609	0,612	0,643	0,556	0,543	0,578	0,552	0,549	0,563	0,553	0,581	0,580	0,570	0,584
a2b3R2	0,647	0,655	0,834	0,681	0,511	0,500	0,451	0,453	0,446	0,432	0,399	0,383	0,390	0,388	0,372	0,362	0,356	0,342	0,298	0,275	0,298
Promedio	0,733	0,748	0,948	0,740	0,556	0,584	0,545	0,531	0,529	0,538	0,478	0,463	0,484	0,470	0,461	0,463	0,455	0,462	0,439	0,423	0,441

FUENTE: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

Tabla A-5. Tiempo que duro la fermentación en cada uno de los tratamientos con dos distintos tipos de levaduras y con variaciones en el momento de adición de enzimas.

Tratamientos	T. fermentación (días)
a1b1R1	45
a1b1R2	43
Promedio	44
a1b2R1	43
a1b2R2	45
Promedio	44
a1b3R1	38
a1b3R2	45
Promedio	41,5
a2b1R1	36
a2b1R2	34
Promedio	35
a2b2R1	43
a2b2R2	38
Promedio	40,5
a2b3R1	38
a2b3R2	36
Promedio	37

FUENTE: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

Tabla A-6. Cambios en el pH registrado durante la maduración de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*)

Tratamientos	Tiempo (días)			
	0	14	28	42
a1b1R1	3,30	3,23	3,23	3,25
a1b1R2	3,29	3,21	3,22	3,24
Promedio	3,30	3,22	3,23	3,25
a1b2R1	3,37	3,27	3,27	3,30
a1b2R2	3,38	3,26	3,28	3,29
Promedio	3,38	3,27	3,28	3,30
a1b3R1	3,34	3,24	3,26	3,26
a1b3R2	3,39	3,31	3,32	3,33
Promedio	3,37	3,28	3,29	3,30
a2b1R1	3,27	3,19	3,21	3,23
a2b1R2	3,24	3,15	3,17	3,19
Promedio	3,26	3,17	3,19	3,21
a2b2R1	3,25	3,13	3,13	3,15
a2b2R2	3,30	3,18	3,18	3,20
Promedio	3,28	3,16	3,16	3,18
a2b3R1	3,31	3,22	3,22	3,24
a2b3R2	3,29	3,19	3,21	3,21
Promedio	3,30	3,21	3,22	3,23

FUENTE: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

Tabla A-7. Cambios en los sólidos solubles registrados durante la maduración de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*)

Tratamientos	Tiempo (días)			
	0	14	28	42
a1b1R1	7,2	7,2	7,2	7,2
a1b1R2	7,0	7,0	7,0	7,0
Promedio	7,1	7,1	7,1	7,1
a1b2R1	7,0	7,0	7,0	7,0
a1b2R2	6,8	6,8	6,8	6,8
Promedio	6,9	6,9	6,9	6,9
a1b3R1	7,0	7,0	7,0	7,0
a1b3R2	6,8	6,8	6,8	6,8
Promedio	6,9	6,9	6,9	6,9
a2b1R1	6,4	6,4	6,4	6,4
a2b1R2	6,4	6,4	6,4	6,4
Promedio	6,4	6,4	6,4	6,4
a2b2R1	6,2	6,2	6,2	6,2
a2b2R2	6,6	6,6	6,6	6,6
Promedio	6,4	6,4	6,4	6,4
a2b3R1	6,6	6,6	6,6	6,6
a2b3R2	6,8	6,8	6,8	6,8
Promedio	6,7	6,7	6,7	6,7

FUENTE: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

Tabla A-8. Cambios en la acidez expresada en registrados durante la maduración de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*)

Tratamientos	Tiempo (días)			
	0	14	28	42
a1b1R1	0,040	0,040	0,040	0,040
a1b1R2	0,040	0,040	0,040	0,040
Promedio	0,040	0,040	0,040	0,040
a1b2R1	0,040	0,040	0,040	0,040
a1b2R2	0,040	0,040	0,040	0,040
Promedio	0,040	0,040	0,040	0,040
a1b3R1	0,040	0,040	0,040	0,040
a1b3R2	0,040	0,040	0,040	0,040
Promedio	0,040	0,040	0,040	0,040
a2b1R1	0,040	0,040	0,040	0,040
a2b1R2	0,034	0,034	0,034	0,034
Promedio	0,037	0,037	0,037	0,037
a2b2R1	0,040	0,040	0,040	0,040
a2b2R2	0,040	0,040	0,040	0,040
Promedio	0,040	0,040	0,040	0,040
a2b3R1	0,040	0,040	0,040	0,040
a2b3R2	0,040	0,040	0,040	0,040
Promedio	0,040	0,040	0,040	0,040

FUENTE: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

Tabla A-9. Cambios en la absorbancia registrados durante la maduración de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheim*)

Tratamientos	Tiempo (días)			
	0	14	28	42
a1b1R1	0,596	0,548	0,627	0,262
a1b1R2	0,303	0,192	0,212	0,128
Promedio	0,450	0,370	0,420	0,195
a1b2R1	0,103	0,082	0,107	0,106
a1b2R2	0,476	0,154	0,301	0,148
Promedio	0,290	0,118	0,204	0,127
a1b3R1	0,677	0,647	0,672	0,523
a1b3R2	0,364	0,332	0,313	0,101
Promedio	0,521	0,490	0,493	0,312
a2b1R1	0,100	0,087	0,118	0,124
a2b1R2	0,101	0,091	0,111	0,126
Promedio	0,101	0,089	0,115	0,125
a2b2R1	0,152	0,111	0,147	0,129
a2b2R2	0,370	0,258	0,245	0,241
Promedio	0,261	0,185	0,196	0,185
a2b3R1	0,596	0,548	0,627	0,262
a2b3R2	0,303	0,192	0,212	0,128
Promedio	0,450	0,370	0,420	0,195

FUENTE: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

Tabla A-10. Cambios en valores de extracto seco registrados durante la maduración de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*)

Tratamientos	Tiempo (días)			
	0	14	28	42
a1b1R1	15,8	12,0	10,6	9,2
a1b1R2	14,8	13,2	11,4	9,6
Promedio	15,3	12,6	11,0	9,4
a1b2R1	14,4	13,6	12,8	10,6
a1b2R2	14,2	12,4	11,8	9,2
Promedio	14,3	13,0	12,3	9,9
a1b3R1	15,4	13,2	11,0	9,2
a1b3R2	15,2	14,4	12,6	9,4
Promedio	15,3	13,8	11,8	9,3
a2b1R1	16,2	13,6	11,2	10,6
a2b1R2	15,4	13,8	11,0	10,2
Promedio	15,8	13,7	11,1	10,4
a2b2R1	15,0	14,4	12,2	9,4
a2b2R2	15,8	13,6	12,8	10,6
Promedio	15,4	14,0	12,5	10,0
a2b3R1	15,4	13,8	11,2	10,0
a2b3R2	15,2	13,6	11,2	9,2
Promedio	15,3	13,7	11,2	9,6

FUENTE: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

ANÁLISIS CROMATOGRÁFICOS

Tabla A-11. Datos del análisis mediante cromatografía de gases de compuestos volátiles mayoritarios presentes en los vinos de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) (mg/l)

Tratamiento	Acetato de metilo	Acetato de etilo	Metanol	1-propanol	Isobutílico	Isoamílicos
a ₁ b ₁ R ₁	5,42	27,51	88,42	11,13	71,72	323,38
a ₁ b ₁ R ₂	10,92	41,73	111,90	15,25	74,13	422,42
a ₁ b ₂ R ₁	6,64	28,43	44,56	9,19	70,47	375,54
a ₁ b ₂ R ₂	6,90	41,56	86,94	16,79	73,01	412,13
a ₁ b ₃ R ₁	8,37	25,44	36,84	10,44	63,12	366,14
a ₁ b ₃ R ₂	8,11	20,88	40,60	16,63	72,43	446,46
a ₂ b ₁ R ₁	3,44	40,29	76,41	8,07	57,69	204,25
a ₂ b ₁ R ₂	1,82	35,74	32,30	5,94	46,16	181,45
a ₂ b ₂ R ₁	2,94	39,32	38,30	7,24	58,83	225,54
a ₂ b ₂ R ₂	8,25	38,38	115,14	11,40	56,56	232,36
a ₂ b ₃ R ₁	2,38	37,53	35,30	6,59	52,50	203,49
a ₂ b ₃ R ₂	5,60	38,85	76,72	9,32	57,70	228,95

FUENTE: Departamento de Tecnología de Alimentos. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (ETSIA). Universidad Pública de Navarra (UPNA). Pamplona – España.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

DETERMINACIÓN DE MEDIDAS DE COLOR Y DE COMPOSICIÓN FENÓLICA

**Tabla A-12. Medida de la turbidez (NTU) de vino de manzana variedad
Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*)**

Tratamiento	Turbidez (NTU)
a₁b₁R₁	13,9
a₁b₁R₂	17,5
Promedio	15,68
a₁b₂R₁	19,0
a₁b₂R₂	24,6
Promedio	21,75
a₁b₃R₁	190,5
a₁b₃R₂	231,0
Promedio	210,75
a₂b₁R₁	25,8
a₂b₁R₂	14,9
Promedio	20,35
a₂b₂R₁	36,3
a₂b₂R₂	28,9
Promedio	32,60
a₂b₃R₁	280,0
a₂b₃R₂	149,5
Promedio	214,75

FUENTE: Departamento de Tecnología de Alimentos. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (ETSIA). Universidad Pública de Navarra (UPNA). Pamplona – España.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

Tabla A-13. Medida del Índice de polifenoles totales (absorbancia a 280 nm) en el vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*)

Tratamiento	Medida 1	Medida 2	Media	Factor Dilución	IPT (UA)
a ₁ b ₁ R ₁	0,694	0,672	0,683	21	14,34
a ₁ b ₁ R ₂	0,652	0,662	0,657	21	13,80
Promedio					14,07
a ₁ b ₂ R ₁	0,662	0,678	0,670	21	14,07
a ₁ b ₂ R ₂	0,692	0,673	0,683	21	14,33
Promedio					14,20
a ₁ b ₃ R ₁	0,825	0,818	0,822	21	17,25
a ₁ b ₃ R ₂	0,790	0,818	0,804	21	16,88
Promedio					17,07
a ₂ b ₁ R ₁	0,670	0,646	0,658	21	13,82
a ₂ b ₁ R ₂	0,622	0,622	0,622	21	13,06
Promedio					13,44
a ₂ b ₂ R ₁	0,610	0,629	0,620	21	13,01
a ₂ b ₂ R ₂	0,619	0,626	0,623	21	13,07
Promedio					13,04
a ₂ b ₃ R ₁	0,899	0,910	0,905	21	18,99
a ₂ b ₃ R ₂	0,841	0,810	0,826	21	17,34
Promedio					18,17

FUENTE: Departamento de Tecnología de Alimentos. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (ETSIA). Universidad Pública de Navarra (UPNA). Pamplona – España.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

Tabla A-14. Medida del contenido en polifenoles totales (método de Folin-Ciocalteu) en el vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*)

Tratamiento	(A750)	(A750)	Medida 1 (mg/l)	Medida 2 (mg/l)	PT (mg/l)
a₁b₁R₁	0,639	0,651	559,3	570,1	564,7
a₁b₁R₂	0,584	0,587	510,2	512,9	511,6
Promedio					538,14
a₁b₂R₁	0,603	0,613	527,2	536,1	531,7
a₁b₂R₂	0,606	0,637	529,9	557,6	543,7
Promedio					537,70
a₁b₃R₁	0,666	0,678	583,5	594,2	588,8
a₁b₃R₂	0,592	0,606	517,4	529,9	523,6
Promedio					556,22
a₂b₁R₁	0,598	0,601	522,7	525,4	524,1
a₂b₁R₂	0,592	0,535	517,4	466,5	491,9
Promedio					508,01
a₂b₂R₁	0,561	0,563	489,7	491,5	490,6
a₂b₂R₂	0,545	0,535	475,4	466,5	471,0
Promedio					480,78
a₂b₃R₁	0,685	0,653	600,4	571,8	586,1
a₂b₃R₂	0,657	0,642	575,4	562,0	568,7
Promedio					577,43

FUENTE: Departamento de Tecnología de Alimentos. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (ETSIA). Universidad Pública de Navarra (UPNA). Pamplona – España.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

RENDIMIENTO OBTENIDO EN LOS DISTINTOS TRATAMIENTOS

Tabla A-15. Valores considerados para la determinación del rendimiento obtenido en el producto final en la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*).

Tratamientos	Mosto Inicial (kg)	Vino Final (kg)	Rendimiento (%)
a ₁ b ₁ R ₁	14,21	12,54	88,25
a ₁ b ₁ R ₂	14,26	12,66	88,81
Promedio	14,23	12,60	88,53
a ₁ b ₂ R ₁	14,26	11,98	84,03
a ₁ b ₂ R ₂	14,26	11,78	82,66
Promedio	14,26	11,88	83,34
a ₁ b ₃ R ₁	14,30	11,48	80,34
a ₁ b ₃ R ₂	14,30	11,07	77,44
Promedio	14,30	11,28	78,89
a ₂ b ₁ R ₁	14,26	12,49	87,65
a ₂ b ₁ R ₂	14,31	12,42	86,82
Promedio	14,28	12,46	87,24
a ₂ b ₂ R ₁	14,30	12,25	85,70
a ₂ b ₂ R ₂	14,26	11,93	83,70
Promedio	14,28	12,09	84,70
a ₂ b ₃ R ₁	14,26	11,43	80,20
a ₂ b ₃ R ₂	14,26	11,54	80,95
Promedio	14,26	11,49	80,58

FUENTE: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

ANÁLISIS SENSORIALES

Tabla A-16. Resultados de pruebas sensoriales de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*)

Catador	Código	Color	Aroma	Dulzor	Acidez	Astring.	Imp.global
1	a1b1R1	5	5	4	5	5	6
1	a1b1R2	4	3	5	4	6	5
1	a1b2R1	2	3	3	2	3	3
2	a1b2R2	4	5	4	4	5	4
2	a1b3R1	5	3	4	5	6	4
2	a1b3R2	4	4	4	5	5	4
3	a2b1R1	6	6	4	5	6	6
3	a2b1R2	5	4	2	3	5	5
3	a2b2R1	5	3	4	5	4	5
4	a2b2R2	7	5	7	6	5	7
4	a2b3R1	7	6	6	7	5	7
4	a2b3R2	6	7	7	7	4	7
5	a1b1R1	6	5	6	4	3	6
5	a2b1R2	6	3	3	4	3	5
5	a2b3R1	7	3	4	5	4	4
6	a1b1R2	5	6	6	6	3	5
6	a1b3R1	7	7	5	5	4	6
6	a2b3R2	4	6	4	5	4	4
7	a1b2R1	3	5	3	4	6	3
7	a1b3R2	7	6	6	7	4	7
7	a2b2R1	6	5	7	5	5	6
8	a1b2R2	5	5	4	4	6	6
8	a2b1R1	7	6	4	4	3	5
8	a2b2R2	6	4	4	3	5	5
9	a1b1R1	7	7	3	4	6	5
9	a1b3R1	6	7	4	5	5	6
9	a2b1R1	7	6	4	5	5	6
10	a1b1R2	6	5	5	6	7	4
10	a2b2R1	1	5	1	4	7	1
10	a2b2R2	7	6	5	3	7	5
11	a1b2R1	5	5	4	5	5	4
11	a1b2R2	6	5	5	6	4	7
11	a2b3R1	7	6	6	6	5	6
12	a1b3R2	3	5	6	4	7	7
12	a2b1R2	5	5	4	3	6	6
12	a2b3R2	7	4	6	4	6	7
13	a1b1R1	5	6	5	6	4	6
13	a1b1R2	7	6	4	6	4	6

13	a1b2R1	3	4	5	4	4	5
14	a1b2R2	5	6	3	4	4	4
14	a1b3R1	3	5	3	4	7	3
14	a1b3R2	6	5	3	5	4	5
15	a2b1R1	7	4	7	6	4	6
15	a2b1R2	4	3	3	4	6	4
15	a2b2R1	7	4	5	5	4	5
16	a2b2R2	5	3	4	4	5	4
16	a2b3R1	7	2	5	4	5	5
16	a2b3R2	3	4	6	7	4	7
17	a1b1R1	4	6	4	5	6	5
17	a2b1R2	7	6	6	6	6	7
17	a2b3R1	4	3	6	4	5	4
18	a1b1R2	6	5	5	5	6	5
18	a1b3R1	7	7	7	7	5	7
18	a2b3R2	6	5	4	4	4	5
19	a1b2R1	2	5	6	6	3	6
19	a1b3R2	6	7	5	5	6	5
19	a2b2R1	5	3	7	3	5	4
20	a1b2R2	5	6	6	5	5	6
20	a2b1R1	6	7	7	5	5	6
20	a2b2R2	7	6	6	5	3	7
21	a1b1R1	6	7	5	4	3	5
21	a1b3R1	7	5	3	5	6	4
21	a2b1R1	5	6	2	3	6	3
22	a1b1R2	5	5	6	6	4	5
22	a2b2R1	6	6	3	5	4	3
22	a2b2R2	5	5	5	3	4	5
23	a1b2R1	2	4	3	4	5	3
23	a1b2R2	4	3	3	4	5	5
23	a2b3R1	6	5	4	5	5	5
24	a1b3R2	6	5	7	6	4	6
24	a2b1R2	7	6	6	5	4	7
24	a2b3R2	5	6	5	4	3	5
25	a1b1R1	6	6	4	5	4	6
25	a1b1R2	4	4	5	4	4	6
25	a1b2R1	2	3	4	3	5	5
26	a1b2R2	4	6	4	4	4	4
26	a1b3R1	5	5	3	5	2	3
26	a1b3R2	4	4	4	5	1	4
27	a2b1R1	6	6	6	5	4	6
27	a2b1R2	4	3	4	4	3	5
27	a2b2R1	5	4	5	5	5	4
28	a2b2R2	7	4	6	6	3	7

28	a2b3R1	6	5	5	6	1	6
28	a2b3R2	6	6	7	7	7	7
29	a1b1R1	5	5	6	4	6	5
29	a2b1R2	6	4	4	4	5	6
29	a2b3R1	6	3	5	3	3	4
30	a1b1R2	5	6	5	6	3	6
30	a1b3R1	6	7	5	4	2	6
30	a2b3R2	4	5	3	4	7	4
31	a1b2R1	4	5	3	4	5	3
31	a1b3R2	7	6	6	7	5	6
31	a2b2R1	5	6	6	6	7	6
32	a1b2R2	5	5	4	5	4	4
32	a2b1R1	6	6	5	4	5	5
32	a2b2R2	6	3	4	3	6	5
33	a1b1R1	6	7	3	5	4	5
33	a1b3R1	7	6	3	5	5	5
33	a2b1R1	7	6	4	3	7	6
34	a1b1R2	5	6	4	5	6	6
34	a2b2R1	3	6	3	4	2	4
34	a2b2R2	7	5	5	4	5	6
35	a1b2R1	3	5	5	5	6	5
35	a1b2R2	6	6	5	4	4	7
35	a2b3R1	7	5	6	6	5	6
36	a1b3R2	4	5	6	4	5	6
36	a2b1R2	6	6	4	3	3	5
36	a2b3R2	7	4	5	3	5	6

FUENTE: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán. 2010.

a₁	Levadura de pan Levapan (<i>S. cerevisiae</i>)
a₂	Levadura vínica Lalvin EC 1118 (<i>S. bayanus</i>)
b₁	Tratamiento enzimático pre fermentativo
b₂	Tratamiento enzimático post fermentativo
b₃	Sin tratamiento enzimático
R₁	Réplica 1
R₂	Réplica 2

Tabla A-17. Análisis bromatológico de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) para el mejor tratamiento a₁b₃ (levadura de pan-Sin tratamiento enzimático).

Ensayos	Unidades	Fecha de ensayos	Método	Requisitos		Resultados de ensayos
				Mín.	Máx.	
Grado alcohólico a 20° C	°GL	2010-06-09	NTE INEN 340	5	18	14,6

Fuente: Laboratorio de Ensayos Analíticos (LEA). Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). Quito D.M. – Ecuador.

Elaboración: María José Andrade Albán.

Tabla A-18. Análisis bromatológico de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) para el mejor tratamiento a₂b₃ (levadura vínica Lalvin EC 1118-Sin tratamiento enzimático).

Ensayos	Unidades	Fecha de ensayos	Método	Requisitos		Resultados de ensayos
				Mín.	Máx.	
Grado alcohólico a 20° C	°GL	2010-06-09	NTE INEN 340	5	18	15,2

Fuente: Laboratorio de Ensayos Analíticos (LEA). Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). Quito D.M. – Ecuador.

Elaboración: María José Andrade Albán.

Tabla A-19. Análisis microbiológico (Recuento total (ufc/ml)) de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) para el mejor tratamiento a_1b_3 (levadura de pan -Sin tratamiento enzimático).

Tratamiento	Tiempo (horas)				
	0	240	480	720	960
$a_1b_3R_1$	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
$a_1b_3R_2$	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Promedio	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Fuente: Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL). Ambato – Ecuador.

Elaboración: María José Andrade Albán.

Tabla A-20. Análisis microbiológico (Recuento total (ufc/ml)) de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) para el mejor tratamiento a_2b_3 (levadura vínica Lalvin EC 1118-Sin tratamiento enzimático).

Tratamiento	Tiempo (horas)				
	0	240	480	720	960
$a_2b_3R_1$	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
$a_2b_3R_2$	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Promedio	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Fuente: Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL). Ambato – Ecuador.

Elaboración: María José Andrade Albán.

Tabla A-21. Análisis microbiológico (mohos y levaduras (ufc/ml)) de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) para el mejor tratamiento a₁b₃ (levadura de pan-Sin tratamiento enzimático).

Tratamiento	Tiempo (horas)				
	0	240	480	720	960
a₁b₃R₁	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
a₁b₃R₂	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Promedio	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Fuente: Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL). Ambato – Ecuador.

Elaboración: María José Andrade Albán.

Tabla A-22. Análisis microbiológico (mohos y levaduras (ufc/ml)) de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) para el mejor tratamiento a₂b₃ (levadura vínica Lalvin EC 1118-Sin tratamiento enzimático).

Tratamiento	Tiempo (horas)				
	0	240	480	720	960
A₂b₃R₁	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
A₂b₃R₂	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia
Promedio	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia	Ausencia

Fuente: Laboratorio de Control y Análisis de Alimentos (LACONAL). Ambato – Ecuador.

Elaboración: María José Andrade Albán.

ANEXO B

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DURANTE LA FERMENTACIÓN

Tabla B-1. Análisis de Varianza para pH- Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de Cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de Levadura	0,006075	1	0,006075	15,64	0,0108
B: Momento de Adición	0,00221667	2	0,00110833	2,85	0,1490
C: Replicas	0,00300833	1	0,00300833	7,75	0,0388
INTERACCIONES					
AB	0,00465	2	0,002325	5,99	0,0471
RESIDUAL	0,00194167	5	0,000388333		
TOTAL (CORREGIDO)	0,0178917	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-2. Diferencia Mínima Significativa para pH en el Factor A: Tipo de Levadura

Método: 95,0 % LSD		
Nivel	LS Mean	Grupos Homogéneos
2:Levadura Vínica Lalvin EC 1118	3,25667	B
1:Levadura de Pan	3,30167	A
Contrastes	Diferencias	+/- Límites
1 - 2	*0,045	0,0292465

* denota estadísticamente diferencia significativa.

Tabla B-3. Análisis de Varianza para °Brix- Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de Levadura	0,653333	1	0,653333	20,42	0,0063
B: Momento de adición	0,0466667	2	0,0233333	0,73	0,5274
C: Replicas	0,0	1	0,0	0,00	1,0000
INTERACTIONS					
AB	0,126667	2	0,0633333	1,98	0,2327
RESIDUAL	0,16	5	0,032		
TOTAL (CORREGIDOS)	0,986667	11			

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-4. Diferencia Mínima Significativa para °Brix en el factor A: Tipo de Levadura

Método: 95,0 % LSD		
Nivel	LS Mean	Grupos Homogéneos
2: Levadura Vínica Lalvin EC 1118	6,5	B
1: Levadura de Pan	6,96667	A
Contrastes	Diferencia	+/- Límites
1 - 2	*0,466667	0,265489

* denota estadísticamente diferencia significativa.

Tabla B-5. Análisis de Varianza para acidez titulable - Sumas de cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de Levadura	0,00000374083	1	0,00000374083	1,00	0,3632
B:Momento de adición	0,00000748167	2	0,00000374083	1,00	0,4312
C:Replicas	0,00000374083	1	0,00000374083	1,00	0,3632
INTERACCIONES					
AB	0,00000748167	2	0,00000374083	1,00	0,4312
RESIDUOS	0,0000187042	5	0,0000037408		
TOTAL (CORREGIDOS)	0,0000411492	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-6. Análisis de Varianza para Absorbancia 420 nm - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de Levadura	0,0275521	1	0,0275521	0,69	0,4453
B: Momento de Adición	0,0997722	2	0,0498861	1,24	0,3649
C: Replicas	0,00350208	1	0,00350208	0,09	0,7797
INTERACTIONS					
AB	0,0625462	2	0,0312731	0,78	0,5078
RESIDUAL	0,200872	5	0,0401745		
TOTAL (CORREGIDOS)	0,394245	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DEL TIEMPO TOTAL DE FERMENTACIÓN

Tabla B-7. Análisis de Varianza para el Tiempo de Fermentación - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente Valor	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de Levadura	96,3333	1	96,3333	10,78	0,0219
B:Momento de Adición	22,1667	2	11,0833	1,24	0,3652
C:Replica	0,333333	1	0,333333	0,04	0,8544
INTERACCIONES					
AB	17,1667	2	8,58333	0,96	0,4435
RESIDUAL	44,6667	5	8,93333		
TOTAL (CORREGIDOS)	180,667	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-8. Diferencia Mínima Significativa para Tiempo de Fermentación en el Factor A: Tipo de Levadura.

Método: 95,0% LSD			
Nivel	LS Medio	Grupos Homogéneos	
2	37,5	B	
1	43,1667	A	
Contrastes	Diferencias	+/-	Limites
1 - 2		*5,66667	4,43587

* denota estadísticamente diferencia significativa.

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DURANTE LA MADURACIÓN

Tabla B-9. Análisis de Varianza para pH - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de levadura	0,016875	1	0,016875	16,96	0,0092
B:Momento de adición	0,00231667	2	0,00115833	1,16	0,3845
C:Replicas	0,000075	1	0,000075	0,08	0,7946
INTERACTIONS					
AB	0,00365	2	0,001825	1,83	0,2527
RESIDUAL	0,004975	5	0,000995		
TOTAL (CORRECTED)	0,0278917	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-10. Diferencia Mínima Significativa para pH en el Factor A: Tipo de Levadura.

Método: 95,0 % LSD			
Nivel	LS Medio	Grupos Homogéneos	
2:	3,20333	B	
1:	3,27833	A	
Contrastes	Diferencias	+/-	Limites
1 - 2		*0,075	0,0468148

* denota estadísticamente diferencia significativa.

Tabla B-11. Análisis de Varianza para °Brix - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de Levadura	0,653333	1	0,653333	20,42	0,0063
B: Momento de Adición	0,0466667	2	0,0233333	0,73	0,5274
C: Replicas	0,0	1	0,0	0,00	1,0000
INTERACTIONS					
AB	0,126667	2	0,0633333	1,98	0,2327
RESIDUAL	0,16	5	0,032		
TOTAL (CORREGIDOS)	0,986667	11			

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-12. Diferencia Mínima Significativa para °Brix en el Factor A:Tipo de levadura

Método: 95,0 % LSD		
Nivel	LS Media	Grupos Homogéneos
2: Levadura Vínica Lalvin EC 1118	6,5	B
1: Levadura de pan	6,96667	A
Contrastes	Diferencias	+/- Límites
1 - 2	*0,466667	0,265489

* denota estadísticamente diferencia significativa.

Tabla B-13. Análisis de Varianza para Acidez Titulable - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de levadura	0,00000374083	1	0,00000374083	1,00	0,3632
B:Momento de adición	0,00000748167	2	0,00000374083	1,00	0,4312
C:Replicas	0,00000374083	1	0,00000374083	1,00	0,3632
INTERACCIONES					
AB	0,00000748167	2	0,00000374083	1,00	0,4312
RESIDUOS	0,0000187042	5	0,00000374083		
TOTAL (CORREGIDOS)	0,0000411492	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-14. Análisis de Varianza para Absorbancia 420 nm - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de Levadura	0,005547	1	0,005547	0,31	0,6035
B: Momento de Adición	0,0243527	2	0,0121763	0,67	0,5508
C: Replicas	0,023763	1	0,023763	1,31	0,3035
INTERACTIONS					
AB	0,016406	2	0,008203	0,45	0,6590
RESIDUAL	0,090391	5	0,0180782		
TOTAL (CORREGIDOS)	0,16046	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-15. Análisis de Varianza para Extracto Seco - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de levadura	0,653333	1	0,653333	1,52	0,2722
B: Momento de adición	0,606667	2	0,303333	0,71	0,5367
C: Replicas	0,0533333	1	0,0533333	0,12	0,7389
INTERACCIONES					
AB	0,446667	2	0,223333	0,52	0,6234
RESIDUOS	2,14667	5	0,429333		
TOTAL (CORREGIDOS)	3,90667	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS PARA LOS VALORES DE VOLATILES MAYORITARIOS

Tabla B-16. Análisis de Varianza para Acetato de Etilo - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de Levadura	165,466	1	165,466	4,58	0,0852
B:Momento de Adición	94,9801	2	47,4901	1,32	0,3475
C:Replica	28,892	1	28,892	0,80	0,4120
INTERACCIONES					
AB	86,8218	2	43,4109	1,20	0,3746
RESIDUAL	180,472	5	36,0943		

TOTAL (CORREGIDOS)	556,632	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-17. Análisis de Varianza para Acetato de Metilo - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de Levadura	40,0771	1	40,0771	8,73	0,0317
B:Momento de Adición	1,50412	2	0,752058	0,16	0,8533
C:Replica	12,834	1	12,834	2,80	0,1554
INTERACCIONES					
AB	10,0577	2	5,02883	1,10	0,4032
RESIDUAL	22,953	5	4,59061		
TOTAL (CORREGIDOS)	87,4259	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-18. Diferencia Mínima Significativa para Acetato de Metilo sobre el factor A: Tipo de Levadura

Método: 95,0 % LSD		
Nivel	LS Mean	Grupos Homogéneos
2	4,07167	B
1	7,72667	A
Contrastes	Diferencias	+/- Limites
1 - 2	*3,655	3,17985

* denota estadísticamente diferencia significativa.

Tabla B-19. Análisis de Varianza para 1-Propanol - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de Levadura	79,4131	1	79,4131	14,01	0,0134
B:Momento de Adición	2,27422	2	1,13711	0,20	0,8245
C:Replica	42,8274	1	42,8274	7,55	0,0404
INTERACCIONES					
AB	3,44645	2	1,72322	0,30	0,7506
RESIDUAL	28,3455	5	5,66911		
TOTAL (CORREGIDOS)	156,307	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-20. Diferencia Mínima Significativa para 1-propanol sobre el factor A: Tipo de Levadura

Método: 95,0 % LSD		
Nivel	LS Mean	Grupos Homogéneos
2	8,09333	B
1	13,2383	A
Contrastes	Diferencias	+/- Limites
1 - 2	*5,145	3,5337

* denota estadísticamente diferencia significativa.

Tabla B-21. Análisis de Varianza para Isoamílicos - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de Levadura	95413,7	1	95413,7	92,24	0,0002
B:Momento de Adición	2158,63	2	1079,32	1,04	0,4181
C:Replica	4234,89	1	4234,89	4,09	0,0989
INTERACCIONES					
AB	321,789	2	160,894	0,16	0,8599
RESIDUAL	5171,92	5	1034,38		
TOTAL (CORREGIDOS)	107301,0	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-22. Diferencia Mínima Significativa para A. Isoamílicos sobre el factor A: Tipo de Levadura

Método: 95,0 % LSD		
Nivel	LS Mean	Grupos Homogéneos
2	212,673	B
1	391,012	A
Contrastes	Diferencias	+/- Límites
1 - 2	*178,338	47,7323

* denota estadísticamente diferencia significativa.

Tabla B-23. Análisis de Varianza para Acetato de Metilo - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de Levadura	759,066	1	759,066	29,34	0,0029
B:Momento de Adición	22,6522	2	11,3261	0,44	0,6680
C:Replica	2,66963	1	2,66963	0,10	0,7610
INTERACCIONES					
AB	39,8515	2	19,9258	0,77	0,5110
RESIDUAL	129,365	5	25,873		
TOTAL (CORREGIDO)	953,605	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-24. Diferencia Mínima Significativa para Acetato de Metilo sobre el factor A: Tipo de Levadura

Método: 95,0 % LSD			
Nivel	LS Mean	Grupos Homogéneos	
2	54,9067	B	
1	70,8133	A	
Contrastes	Diferencias	+/- Límites	
1 - 2	*15,9067	7,54911	

* denota estadísticamente diferencia significativa.

Tabla B-25. Análisis de Varianza para Metanol - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de Levadura	102,609	1	102,609	0,12	0,7421
B:Momento de Adición	1999,48	2	999,739	1,18	0,3808
C:Replica	1722,48	1	1722,48	2,03	0,2135
INTERACTIONS					
AB	2414,77	2	1207,39	1,42	0,3241
RESIDUAL	4241,12	5	848,224		
TOTAL (CORRECTED)	10480,5	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

DETERMINACIÓN DE MEDIDAS DE COLOR Y DE COMPOSICIÓN FENÓLICA

Tabla B-26. Análisis de Varianza para Turbidez - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de Levadura	127,075	1	127,075	0,07	0,7969
B:Momento de Adición	96593,0	2	48296,5	27,99	0,0019
C:Replica	817,575	1	817,575	0,47	0,5218
INTERACCIONES					
AB	28,5029	2	14,2515	0,01	0,9918
RESIDUAL	8626,8	5	1725,36		
TOTAL (CORREGIDOS)	106193,0	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-27. Análisis de Varianza para IPT(Índice de Polifenoles Totales) - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de Levadura	0,1587	1	0,1587	0,69	0,4440
B:Momento de Adición	41,1705	2	20,5852	89,51	0,0001
C:Replica	0,75	1	0,75	3,26	0,1308
INTERACCIONES					
AB	2,7938	2	1,3969	6,07	0,0459
RESIDUAL	1,1499	5	0,22998		
TOTAL (CORREGIDOS)	46,0229	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-28. Análisis de Varianza para PT(Polifenoles Totales) - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Tipo de Levadura	1445,19	1	1445,19	3,80	0,1089
B:Momento de Adición	7228,27	2	3614,14	9,49	0,0198
C:Replica	2565,23	1	2565,23	6,74	0,0485
INTERACCIONES					
AB	3151,9	2	1575,95	4,14	0,0870
RESIDUAL	1903,9	5	380,78		
TOTAL (CORREGIDOS)	16294,5	11			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

ANÁLISIS ESTADÍSTICOS PARA LAS PRUEBAS SENSORIALES

Tabla B-29. Análisis de Varianza para Acidez - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de Levadura	0,333333	1	0,333333	0,17	0,6834
B: Momento de Adición	0,962963	2	0,481481	0,24	0,7858
INTERACCIONES					
AB	0,222222	2	0,111111	0,06	0,9458
RESIDUOS	203,222	102	1,99237		
TOTAL (CORREGIDOS)	204,741	107			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-30. Análisis de Varianza para Aroma - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de Levadura	7,25926	1	7,25926	3,57	0,0618
B: Momento de Adición	3,55556	2	1,77778	0,87	0,4205
INTERACCIONES					
AB	3,62963	2	1,81481	0,89	0,4131
RESIDUOS	207,556	102	2,03486		
TOTAL (CORRECTED)	222,0	107			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-31. Análisis de Varianza para Astringencia - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de Levadura	7,25926	1	7,25926	4,15	0,0441
B: Momento de Adición	4,51852	2	2,25926	1,29	0,2789
INTERACCIONES					
AB	1,85185	2	0,925926	0,53	0,5903
RESIDUOS	178,222	102	1,74728		
TOTAL (CORREGIDOS)	191,852	107			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-32. Diferencia Mínima Significativa para la Astringencia en el Factor A: Tipo de Levadura

Método: 95,0 % LSD		
Nivel	LS Mean	Grupos Homogéneos
1: Levadura de pan	4,7037	B
2: Levadura Vínica Lalvin EC 1118	5,22222	A
Contrastes	Diferencias	+/- Límites
1 - 2	*-0,518519	0,504581

* denota estadísticamente diferencia significativa.

Tabla B-33. Análisis de Varianza para Color - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de Levadura	3,34259	1	3,34259	2,85	0,0943
B: Momento de Adición	12,5185	2	6,25926	5,34	0,0062
INTERACTIONS					
AB	2,2963	2	1,14815	0,98	0,3788
RESIDUAL	119,5	102	1,17157		
TOTAL (CORRECTED)	137,657	107			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-34. Análisis de Varianza para Dulzor - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de Levadura	0,0	1	0,0	0,00	1,0000
B: Momento de Adición	7,18519	2	3,59259	1,73	0,1821
INTERACCIONES					
AB	4,66667	2	2,33333	1,12	0,3286
RESIDUOS	211,556	102	2,07407		
TOTAL (CORREGIDOS)	223,407	107			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

Tabla B-35. Análisis de Varianza para Impresión Global - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Tipo de Levadura	0,00925926	1	0,00925926	0,01	0,9413
B: Momento de Adición	5,05556	2	2,52778	1,49	0,2303
INTERACCIONES					
AB	0,796296	2	0,398148	0,23	0,7913
RESIDUOS	173,056	102	1,69662		
TOTAL (CORREGIDOS)	178,917	107			

Todos los cocientes-F están basados sobre el cuadrado medio residual.

FACTOR A: Tipo de levadura

Nivel 1 Levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)

Nivel 2 Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*)

FACTOR B: Condición del mosto

Nivel 1 Tratamiento enzimático pre fermentativo

Nivel 2 Tratamiento enzimático post fermentativo

Nivel 3 Sin tratamiento enzimático

ANEXO C

GRÁFICOS

Gráfico C-1. pH vs. tiempo durante la fermentación de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheim*)

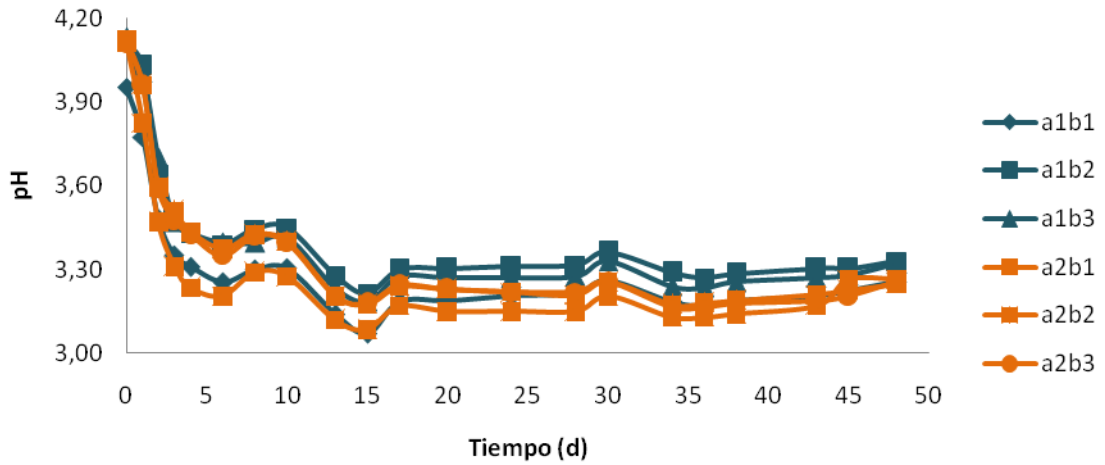


Gráfico C-2. Grados Brix vs. tiempo durante la fermentación de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheim*)

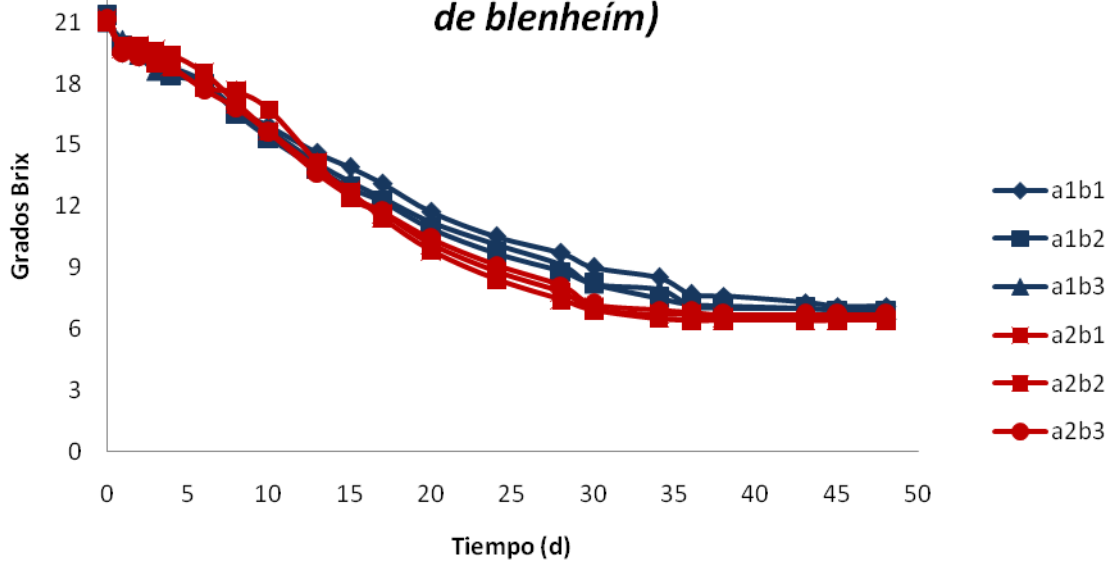


Gráfico C-3. Acidez vs. tiempo durante la fermentación de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheim*)

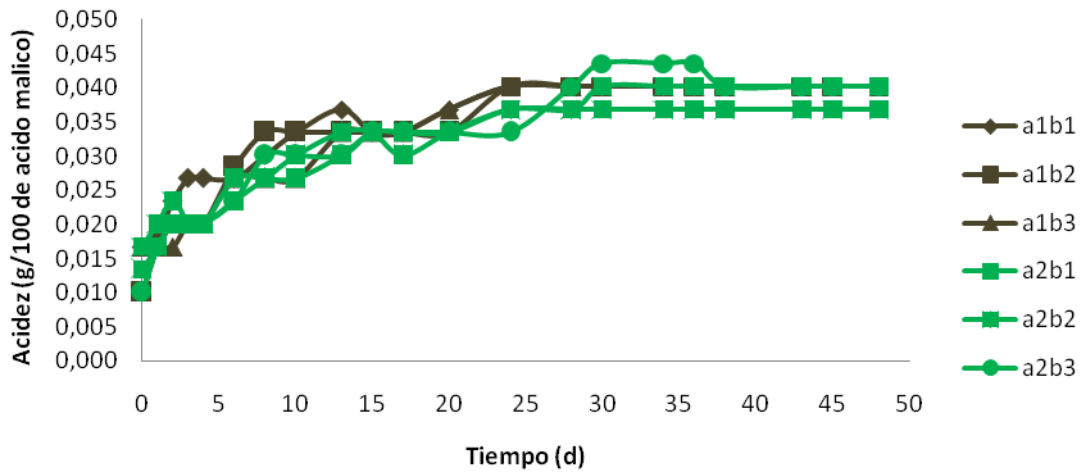


Gráfico C-4. Absorbancia vs. tiempo durante la fermentación de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheim*)

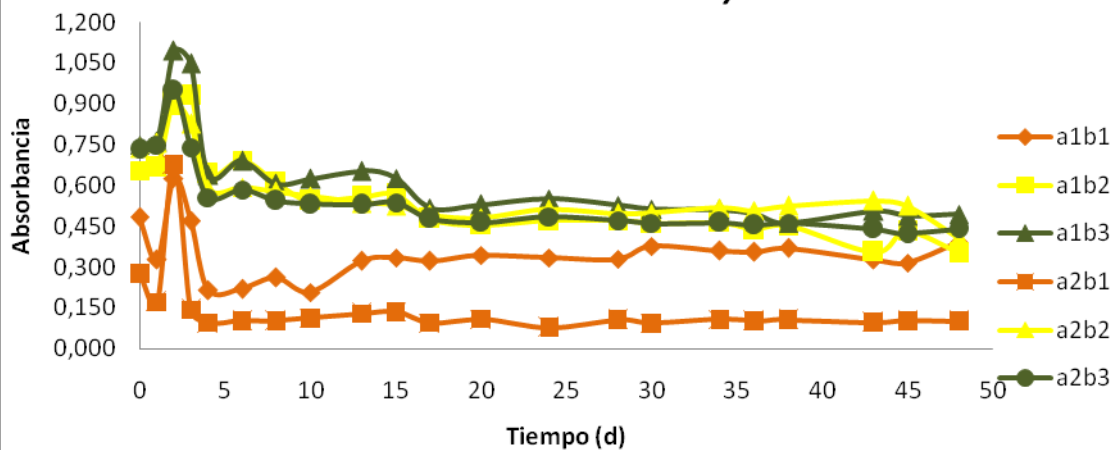


Gráfico C-5. pH vs. tiempo durante la maduración de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheim*)

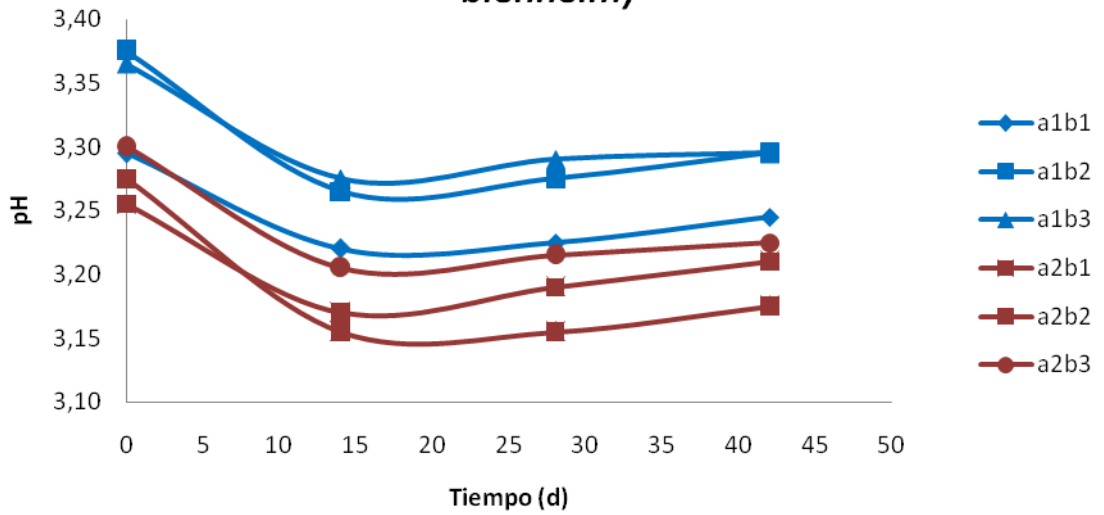


Gráfico C-6. Grados brix vs. tiempo durante la maduración de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheim*)

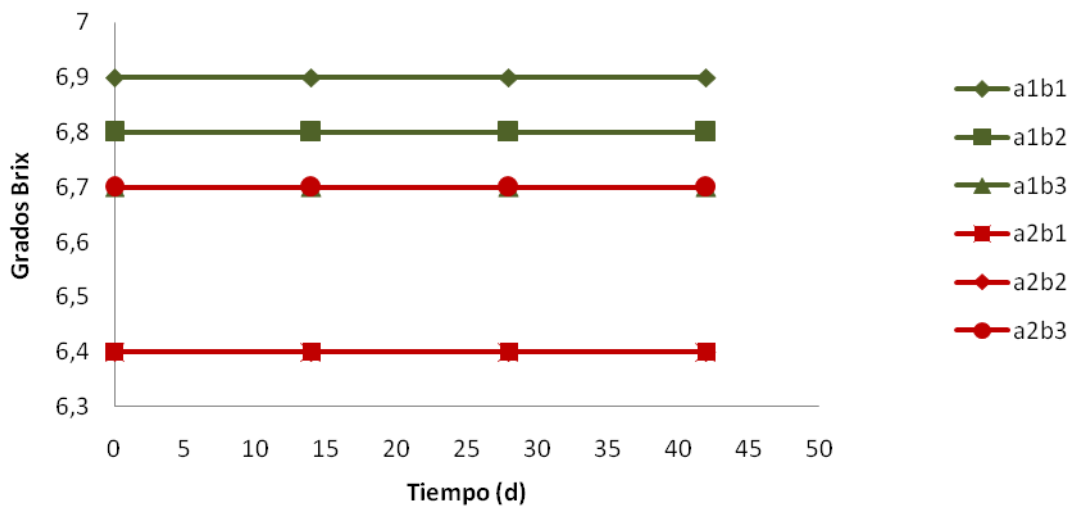


Gráfico C-7. Absorbancia vs. tiempo durante la maduración de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheím*)

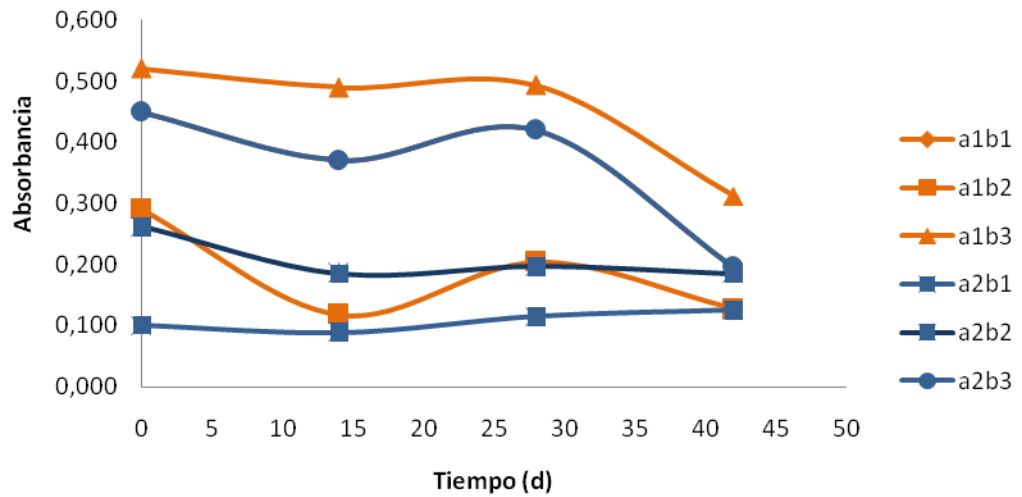


Gráfico C-8. Acidez vs. tiempo durante la maduración de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheím*)

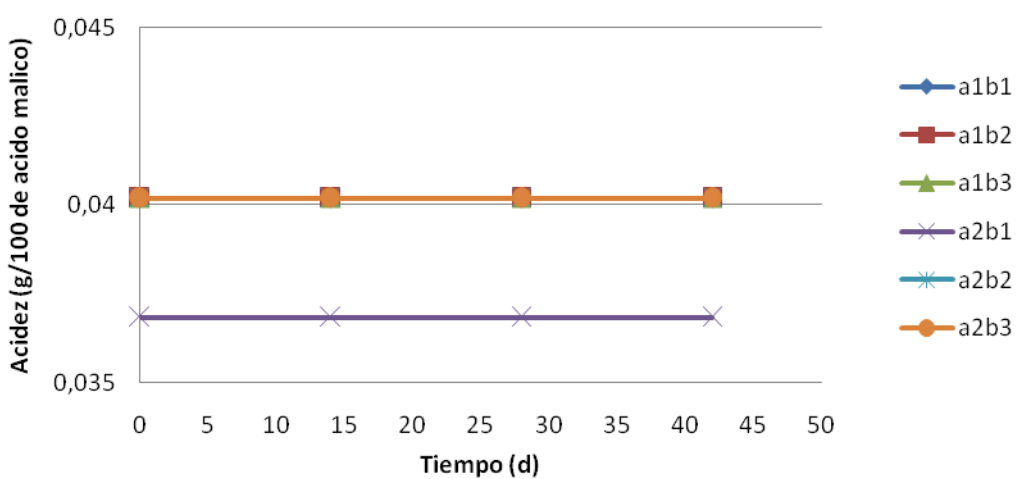


Gráfico C-9. Extracto seco vs. tiempo durante la maduración de vino de manzana (*Reineta amarilla de blenheim*)

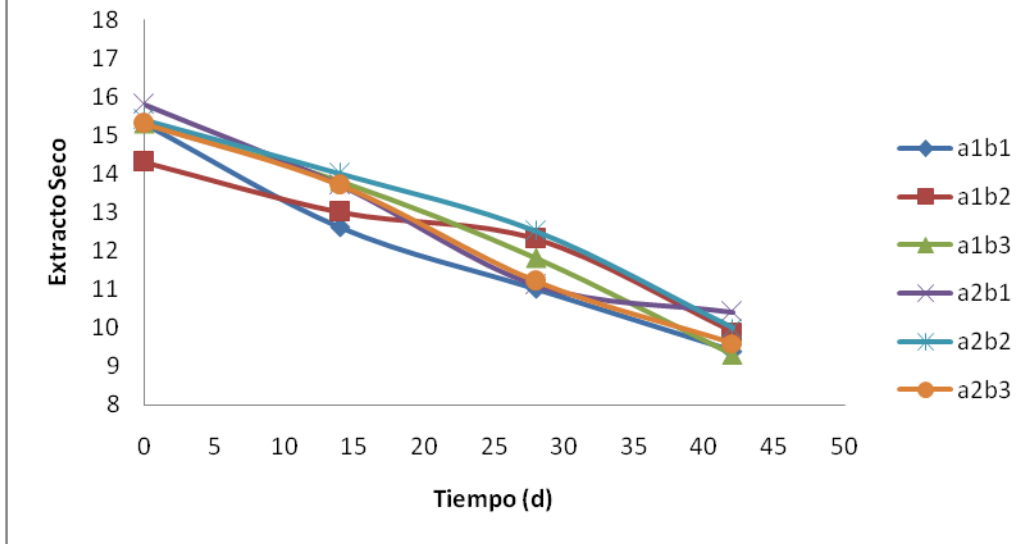


Gráfico C-10. Medida de turbidez expresadas en unidades Nefelométricas en vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheim*).

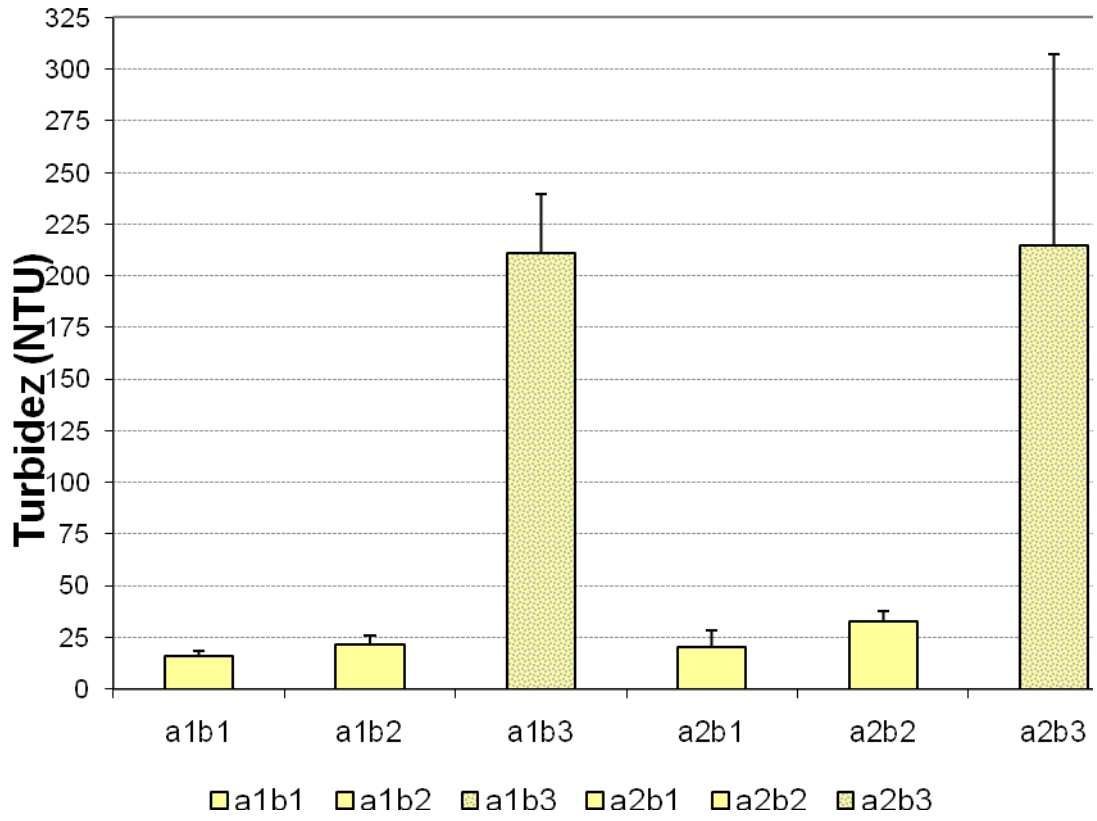


Gráfico C-11. Medida de índice de polifenoles totales expresadas de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheim*).

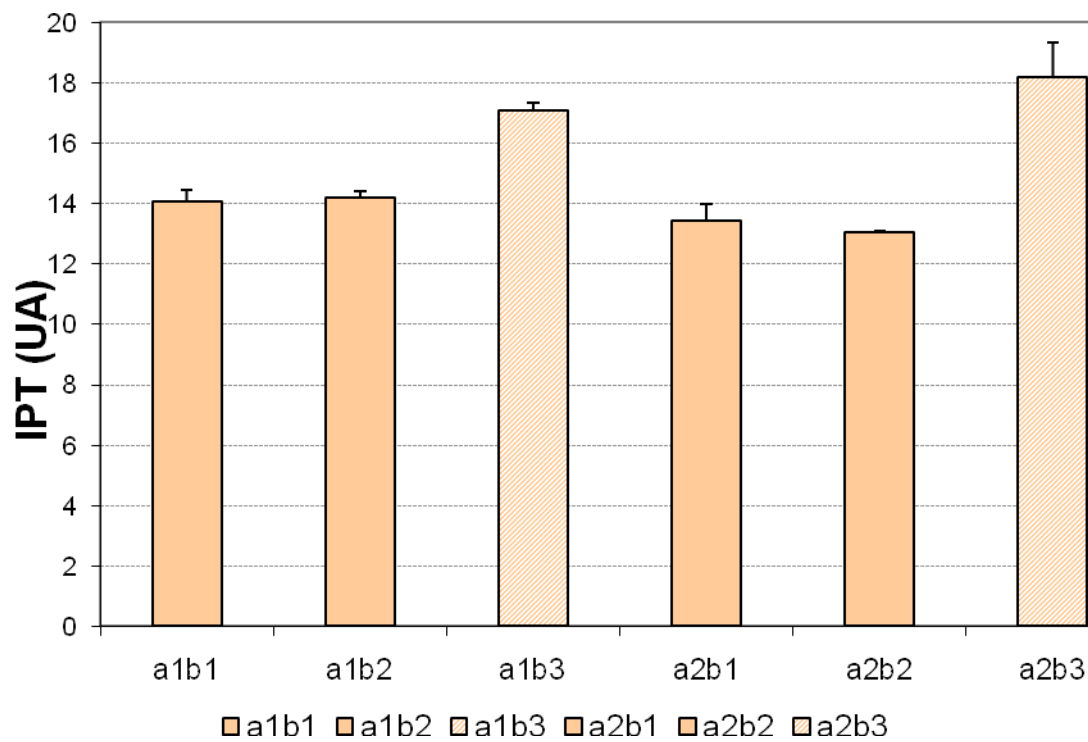


Gráfico C-12. Medida de polifenoles totales expresadas en miligramos por litro de vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheim*).

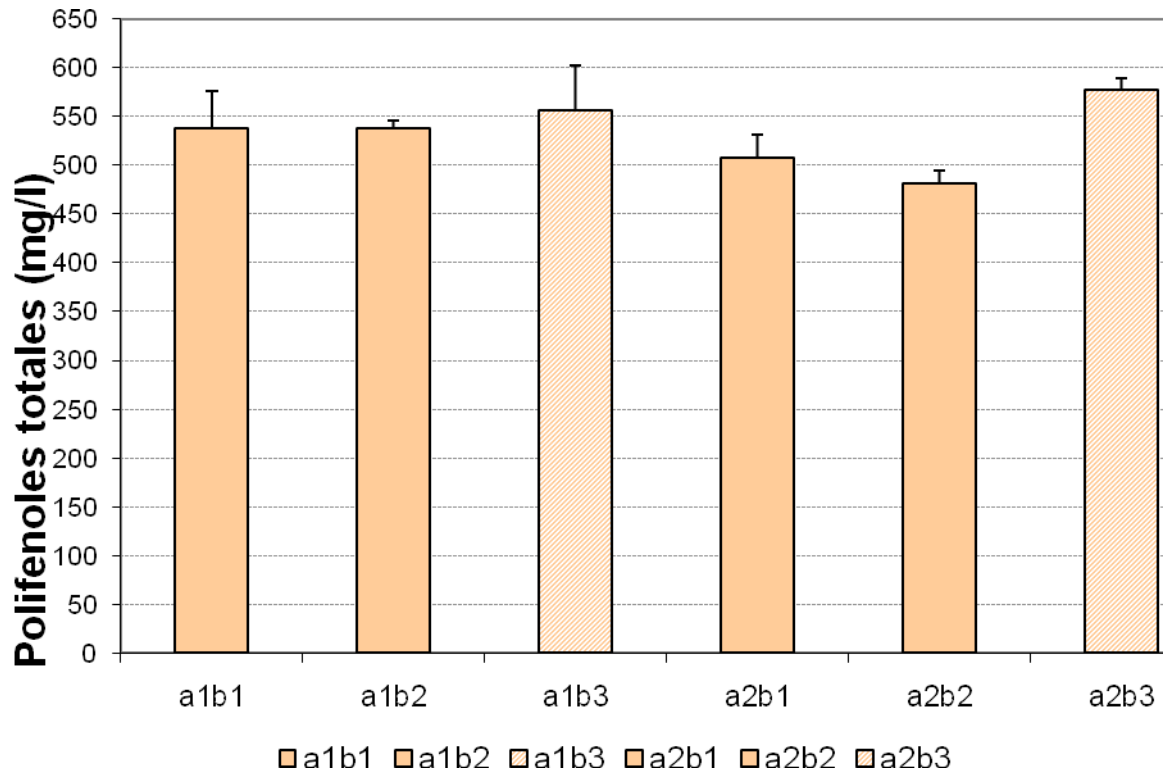


Gráfico C-13. Cromatograma demostrativo del tratamiento a₁b₁ (Levadura de pan LEVAPAN (*S. cerevisiae*)- tratamiento enzimático pre fermentativo) de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) – Replica 1.

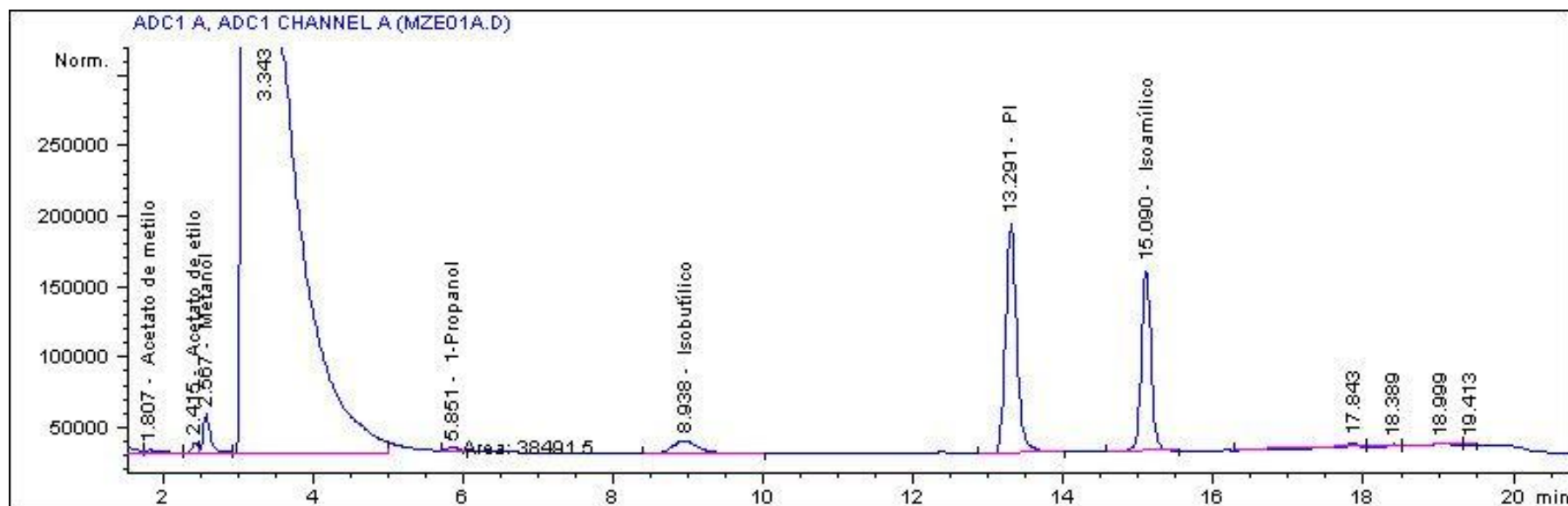


Gráfico C-14. Cromatograma demostrativo del tratamiento a_1b_1 (Levadura de pan LEVAPAN (*S. cerevisiae*)- tratamiento enzimático pre fermentativo) de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) – Replica 2.

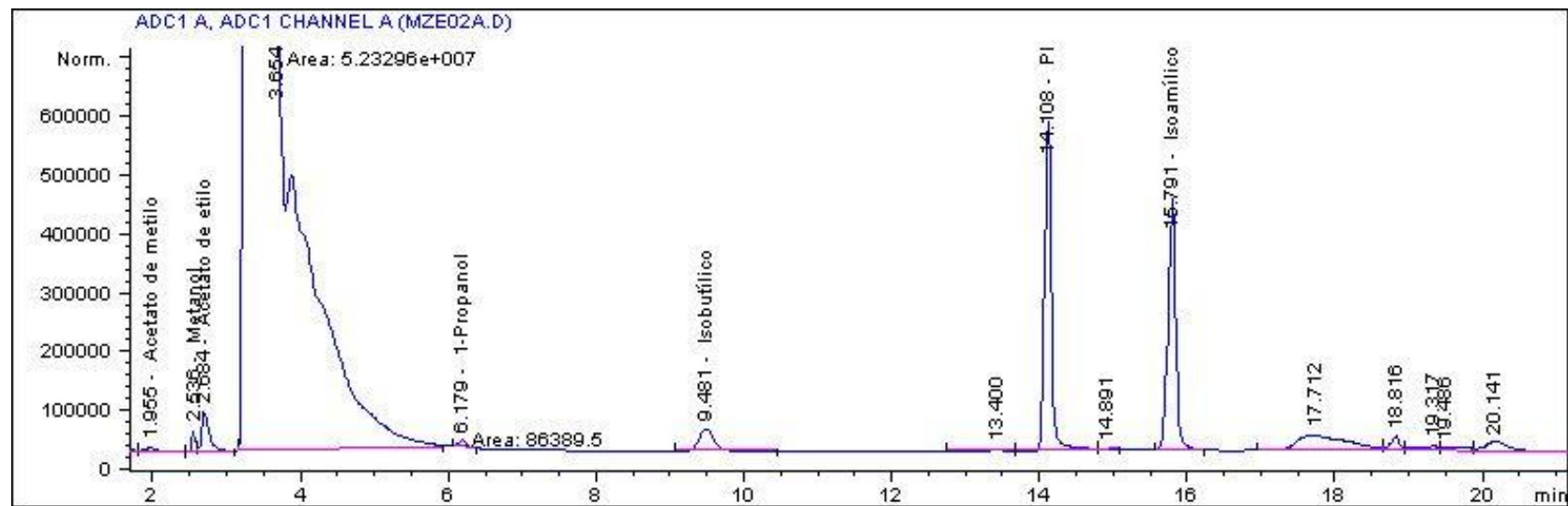


Gráfico C-15. Cromatograma demostrativo del tratamiento a_2b_2 (Levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. bayanus*)-tratamiento enzimático pos fermentativo) de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) – Replica 1

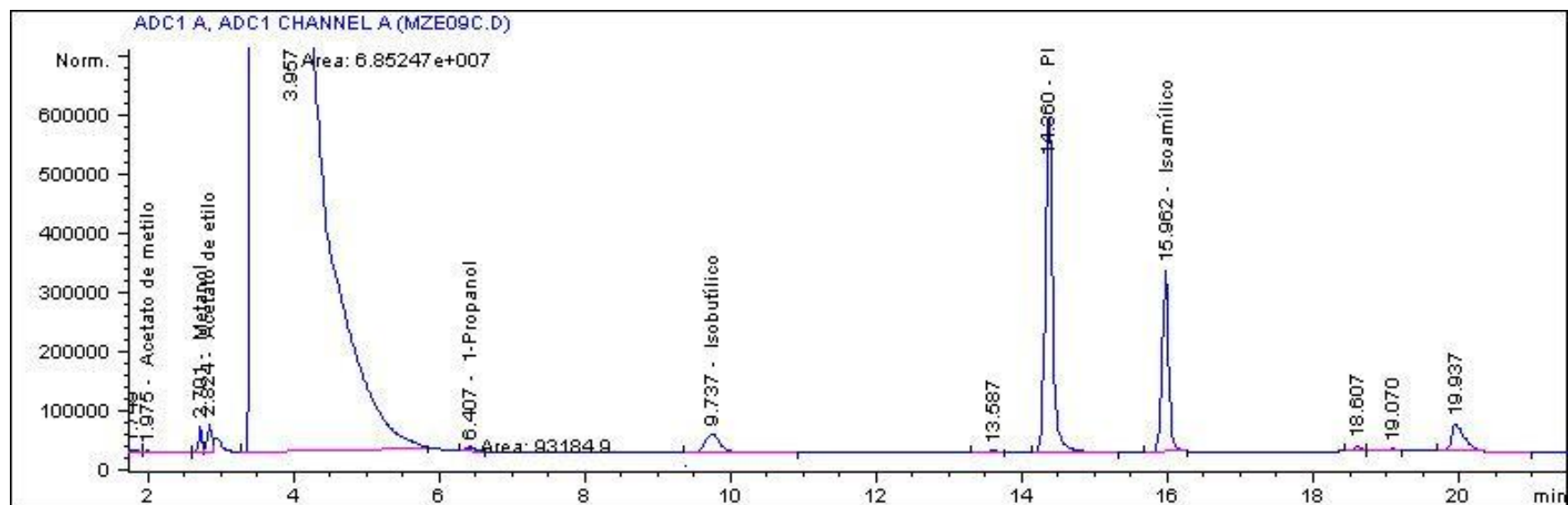
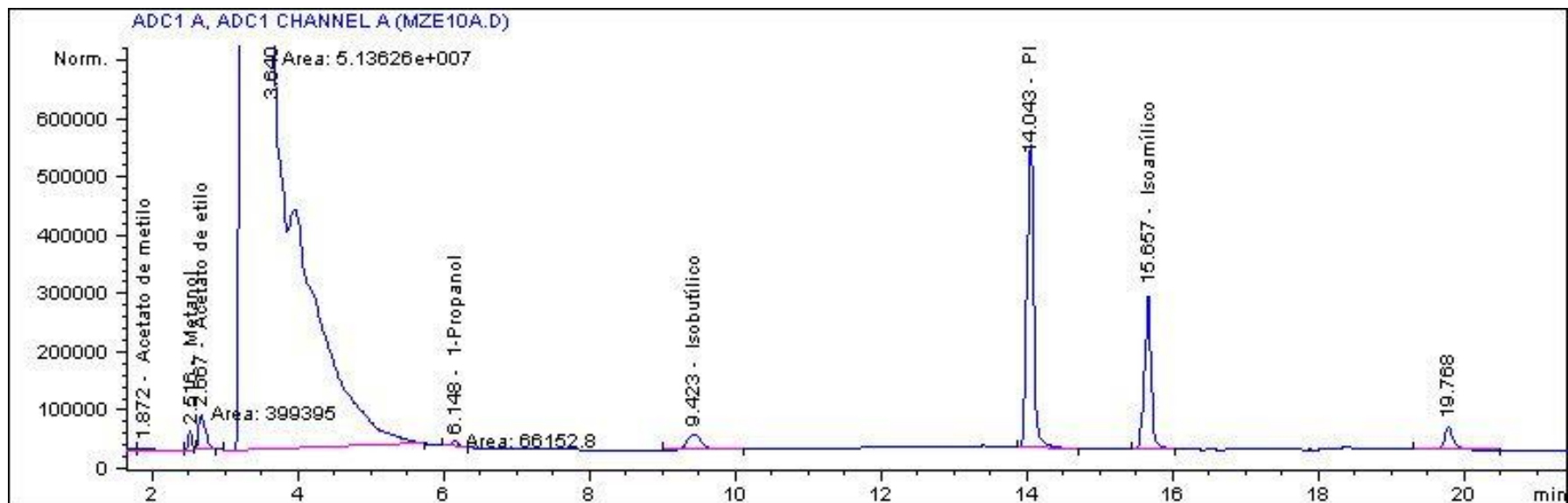


Gráfico C-16. Cromatograma demostrativo del tratamiento a₂b₃ (levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. bayanus*)- sin adición de enzima) de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) – Replica 2



ANEXO D

DIAGRAMAS

Gráfico D-1. Balance de materiales de la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (Reineta amarilla de Blenheim), tratamiento a₁b₁ levadura de Pan Levapan (*S. cerevisiae*)- tratamiento enzimático pre fermentativo

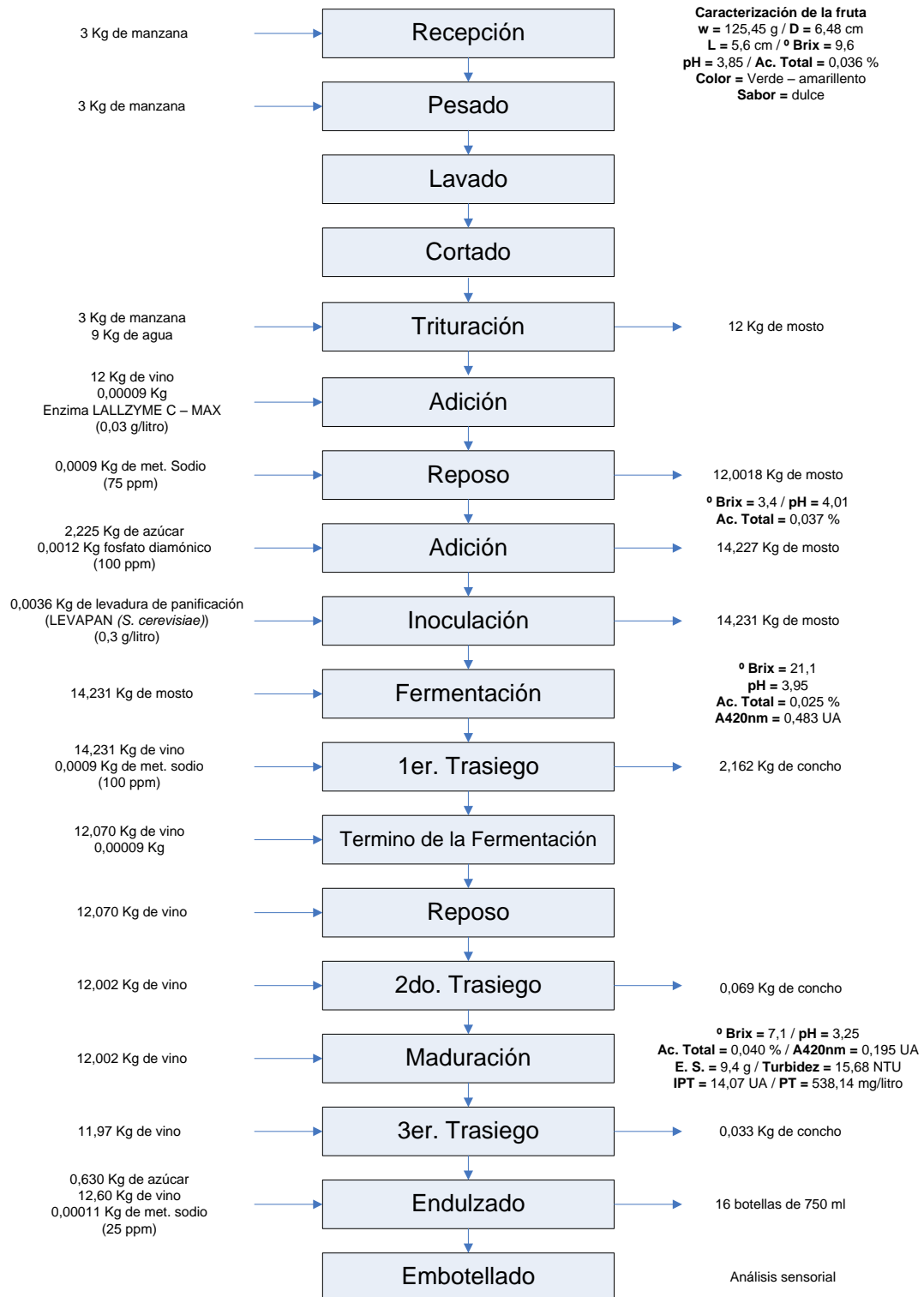


Gráfico D-2. Balance de materiales de la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (Reineta amarilla de Blenheim), tratamiento a₁b₂ levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)-tratamiento enzimático post fermentativo

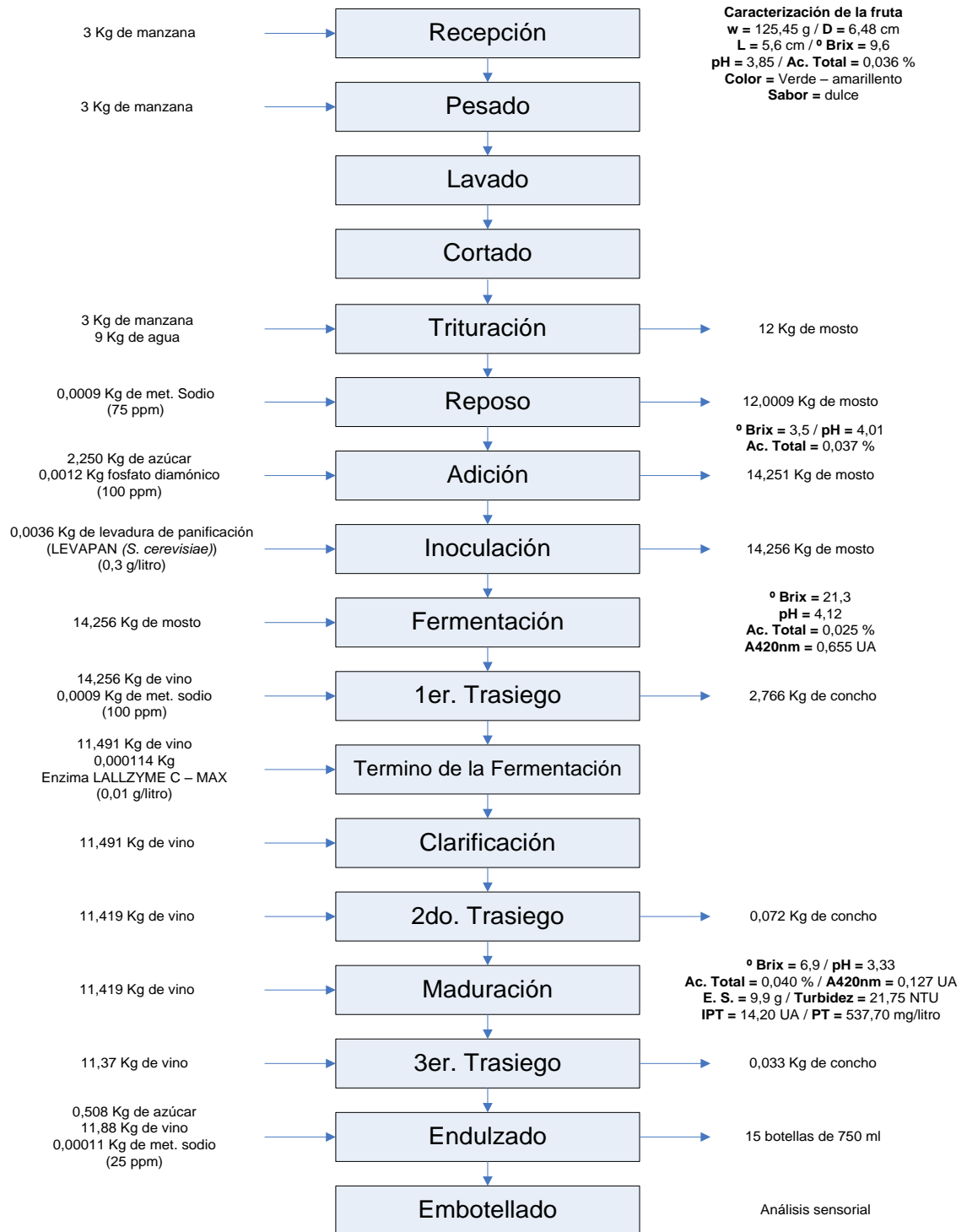


Gráfico D-3. Balance de materiales de la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (Reineta amarilla de Blenheim), tratamiento a₁b₃ levadura de pan Levapan (*S. cerevisiae*)- sin adición de enzima.

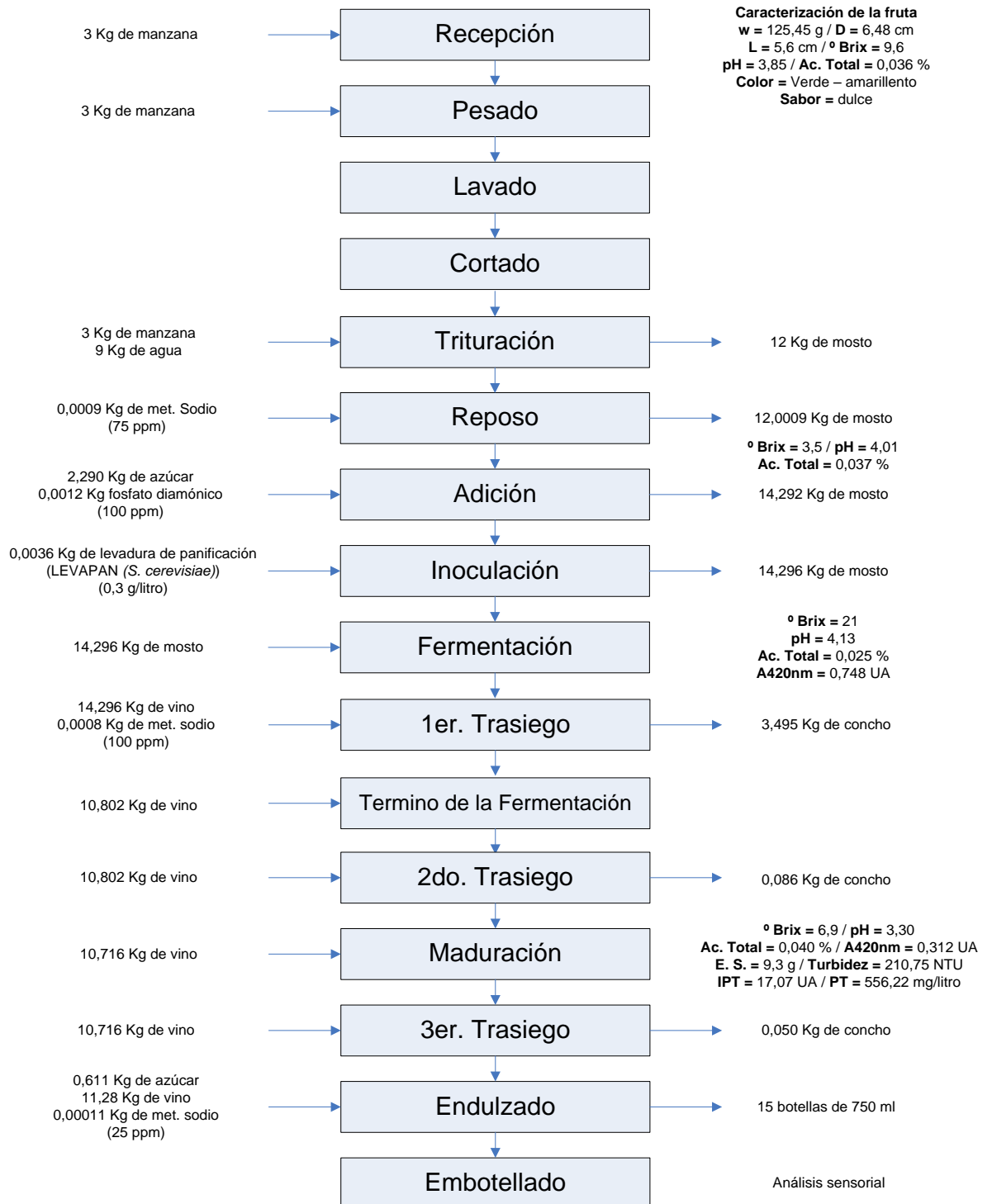


Gráfico D-4. Balance de materiales de la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (Reineta amarilla de Blenheim), tratamiento a₂b₁ levadura vínica Lalvin EC 1118 (S. bayanus)- tratamiento enzimático prefermentativo.

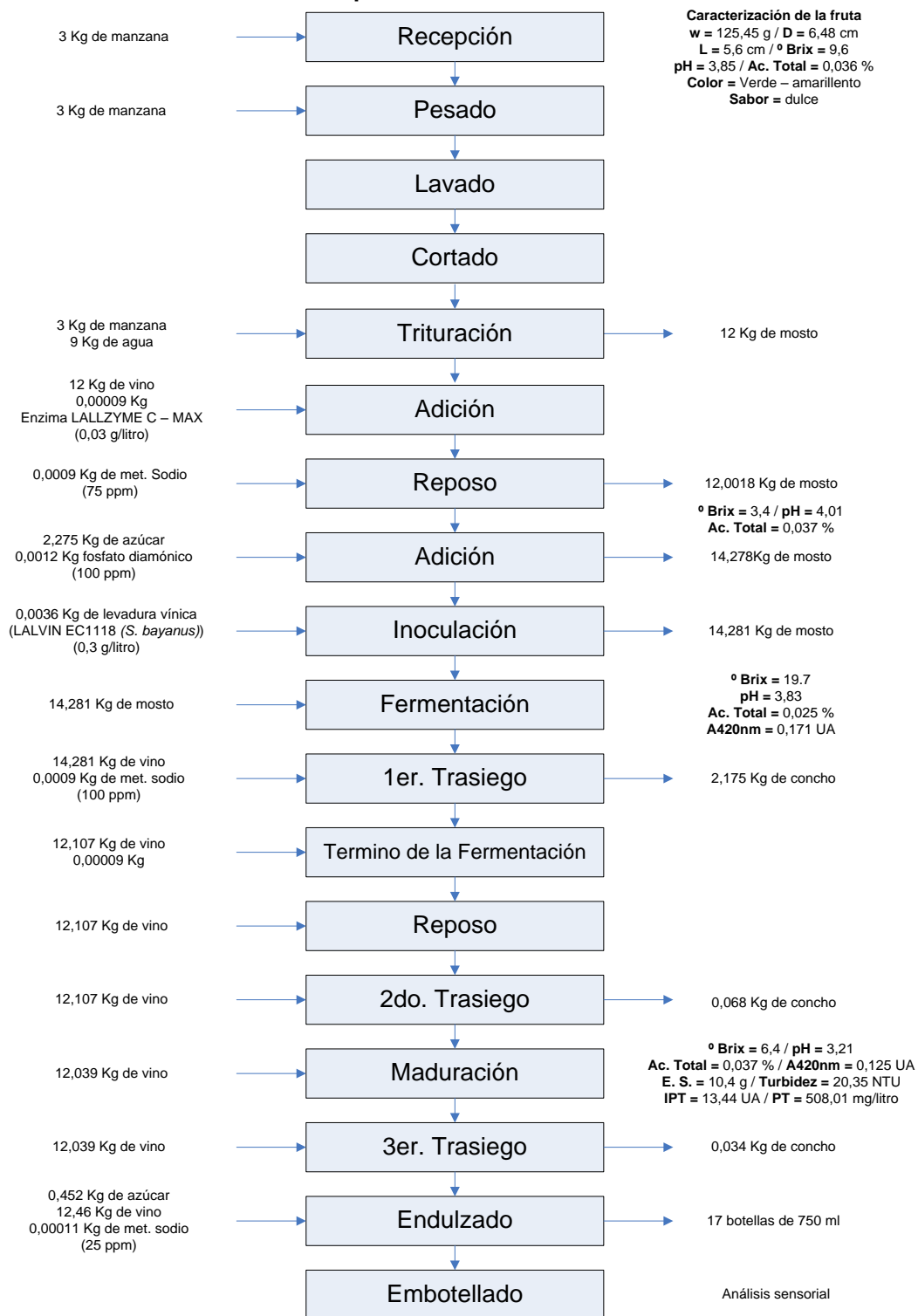


Gráfico D-5. Balance de materiales de la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (Reineta amarilla de Blenheim), tratamiento a₂b₂ levadura vínica Lalvin EC 1118 (S. bayanus)- tratamiento enzimático post fermentativo.

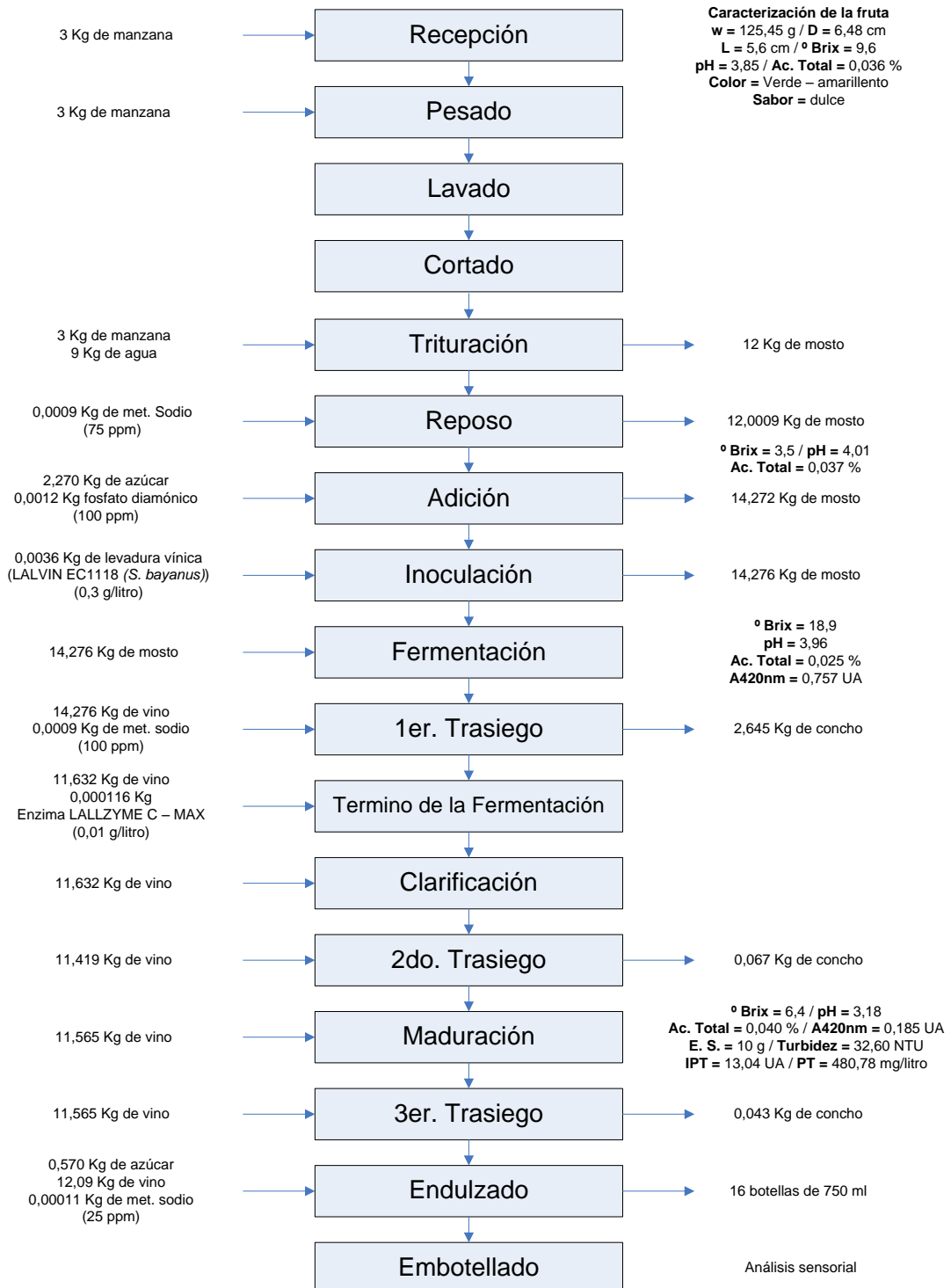
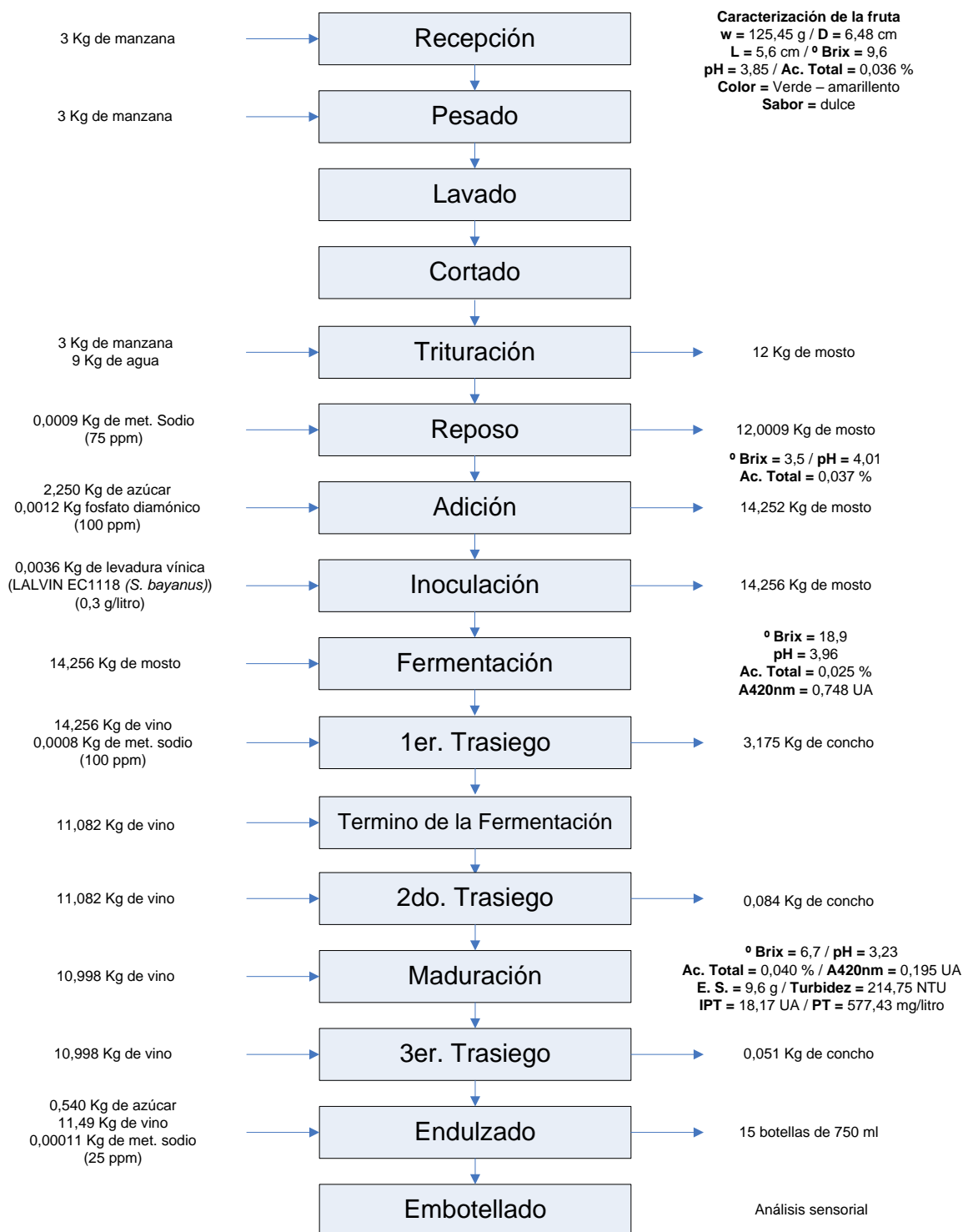


Gráfico D-6. Balance de materiales de la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (Reineta amarilla de Blenheim), tratamiento a₂b₃ levadura vínica Lalvin EC 1118 (S. bayanus)- sin adición de enzima.



ANEXO E

ESTABILIDAD DEL VINO

Tabla E-1. Cambios en la absorbancia a 420nm (UA) registrados a temperatura constante (40° C) en el vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta Amarilla de Blenheim*) en el mejor tratamiento para levadura de pan y levadura vínica. (a₁b₃(Levadura de pan-Sin tratamiento enzimático); y, a₂b₃ (Lalvin EC 1118-Sin tratamiento Enzimático).

Tratamiento	Tiempo (días)																	
	1	3	6	8	10	13	15	17	20	22	24	27	29	31	34	36	38	41
a ₁ b ₃ R ₁	0,308	0,150	0,168	0,268	0,270	0,272	0,249	0,287	0,299	0,304	0,312	0,309	0,309	0,330	0,335	0,347	0,362	0,363
a ₁ b ₃ R ₂	0,090	0,220	0,187	0,115	0,105	0,109	0,111	0,116	0,138	0,135	0,134	0,142	0,144	0,152	0,142	0,156	0,174	0,176
Promedio	0,199	0,185	0,178	0,192	0,188	0,191	0,180	0,202	0,219	0,220	0,223	0,226	0,227	0,241	0,239	0,252	0,268	0,270
a ₂ b ₃ R ₁	0,201	0,107	0,189	0,223	0,211	0,237	0,205	0,242	0,263	0,271	0,273	0,282	0,297	0,310	0,304	0,329	0,346	0,382
a ₂ b ₃ R ₂	0,134	0,271	0,216	0,159	0,156	0,159	0,166	0,171	0,185	0,140	0,151	0,192	0,182	0,203	0,211	0,238	0,247	0,249
Promedio	0,168	0,189	0,203	0,191	0,184	0,198	0,186	0,207	0,224	0,206	0,212	0,237	0,240	0,257	0,258	0,284	0,297	0,316

Fuente: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

Elaboración: María José Andrade Albán.

a₁ Levadura de Pan Levapan (*S. cerevisae*)
a₂ Levadura Vínica Lalvin EC 1118 (*S. bayanus*)
b₃ Sin tratamiento enzimático
R₁ Réplica 1
R₂ Réplica 2

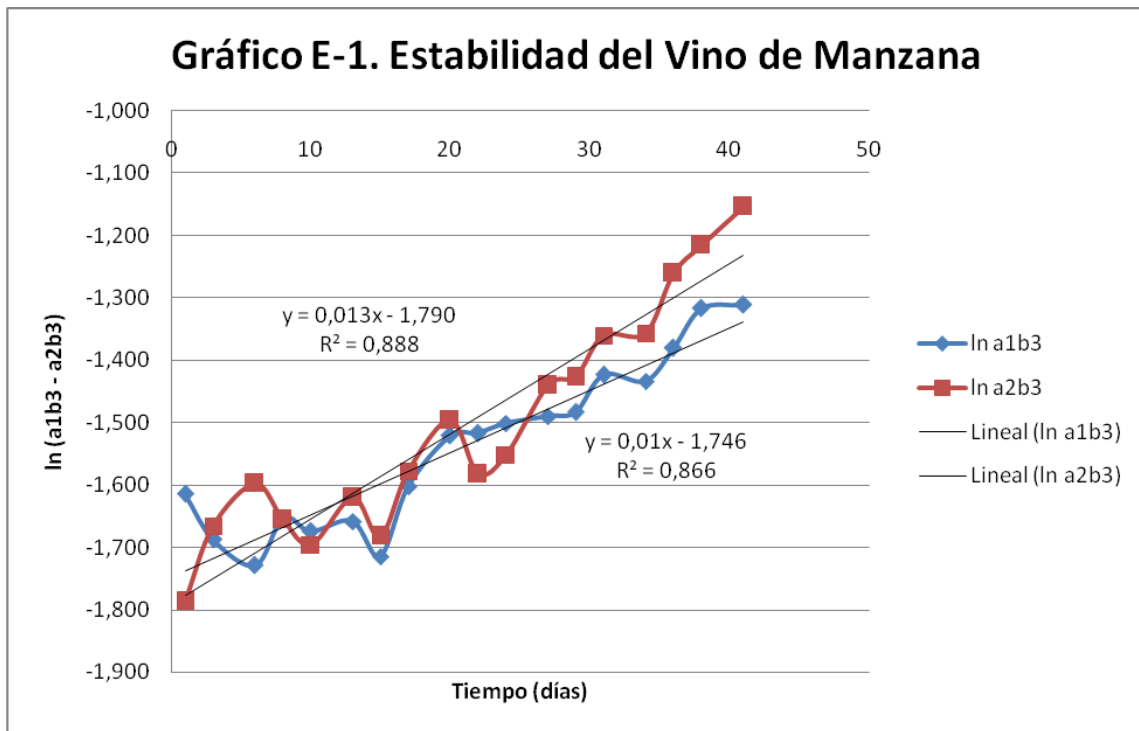
Tabla E-2. Cálculo del tiempo de estabilidad de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) en base a los promedios de absorbancia (UA) a una longitud de onda de 420 nm de los dos mejores tratamientos durante 40 días a temperatura constante (40° C).

Tiempo (días)	Promedio a1b3	Promedio a2b3	ln a1b3	ln a2b3
1	0,199	0,168	-1,614	-1,787
3	0,185	0,189	-1,687	-1,666
6	0,178	0,203	-1,729	-1,597
8	0,192	0,191	-1,653	-1,655
10	0,188	0,184	-1,674	-1,696
13	0,191	0,198	-1,658	-1,619
15	0,180	0,186	-1,715	-1,682
17	0,202	0,207	-1,602	-1,577
20	0,219	0,224	-1,521	-1,496
22	0,220	0,206	-1,516	-1,582
24	0,223	0,212	-1,501	-1,551
27	0,226	0,237	-1,489	-1,440
29	0,227	0,240	-1,483	-1,427
31	0,241	0,257	-1,423	-1,361
34	0,239	0,258	-1,433	-1,357
36	0,252	0,284	-1,380	-1,261
38	0,268	0,297	-1,317	-1,216
41	0,270	0,316	-1,311	-1,154

Fuente: Unidad Operativa de Investigación en Tecnología de Alimentos (UOITA). FCIAL-UTA. Ambato-Ecuador.

Elaboración: María José Andrade Albán.

a₁ Levadura de Pan Levapan (*S. cerevisiae*)
a₂ Levadura Vínica Lalvin EC 1118 (*S. bayanus*)
b₃ Sin tratamiento enzimático



Elaboración: María José Andrade Albán.

$A_{420nm} = 0,259$ (YILDIRIM, 2006)

a1b3

$\ln C = 0,01 t - 1,7467$

$\ln (0,259) = 0,01 t - 1,7467$

$t = ((\ln (0,259) + 1,7467) / 0,01)$

t = 40 días

a2b3

$\ln C = 0,0136 t - 1,7901$

$\ln (0,259) = 0,0136 t - 1,7901$

$t = ((\ln (0,259) + 1,7901) / 0,0136)$

t = 32 días

ANEXO F

ESTIMACIÓN ECONÓMICA

Tabla F-1. Estimación económica de la materia prima utilizada para la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) utilizando levadura vínica LALVIN EC 1118. (*S. bayanus*)

Materiales	Unidad	Cantidad	Valor Unitario (\$)	Valor Total(\$)
Manzanas	kg	6,00	0,80	4,80
Metabisulfito de sodio	kg	0,00075	10,00	0,01
Fosfato de amonio	kg	0,0002	40,00	0,01
Azúcar	kg	6,00	1,20	7,20
Levadura LALVIN EC1118	kg	0,0072	46,83	0,34
Enzima LALLZYME C-MAX	kg	0,0000	248,88	0,00
Envases (750 ml)	u	22,00	0,25	5,50
			Total	17,85

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán.

Tabla F-2. Estimación económica de los equipos utilizados para la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) utilizando levadura vínica LALVIN EC 1118. (*S. bayanus*)

Equipos	Costo	H. utilizadas	Vida útil	C. Anual	C. Día	C. Hora	Total
Balanza de Precisión Electronica	590,0	0,5	10	59,0	0,24	0,03	0,015
Balanza Mecánica	250,0	2	5	50,0	0,20	0,03	0,050
Licuada Industrial	600,0	0,15	10	60,0	0,24	0,03	0,005
Estufa	1400,0	3	10	140,0	0,56	0,07	0,210
pH - metro	1500,0	0,5	10	150,0	0,60	0,08	0,038
Centrifuga	1500,0	0,25	10	150,0	0,60	0,08	0,019
Termómetro	70,0	0,25	10	7,0	0,03	0,00	0,001
Brixómetro	200,0	0,25	10	20,0	0,08	0,01	0,003
Espectofotómetro	1200,0	0,25	10	120,0	0,48	0,06	0,015
Mesa de acero inoxidable	800,0	1,5	10	80,0	0,32	0,04	0,060
Recipientes para fermentación y mangueras	400,0	8	5	80,0	0,32	0,04	0,320
Utensilios	150,0	2	5	30,0	0,12	0,02	0,030
						Total	0,76

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán.

Tabla F-3. Estimación económica de los servicios utilizados para la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) utilizando levadura vínica LALVIN EC 1118. (*S. bayanus*)

Servicios	Consumo	Tiempo	Precio unitario	Total
Energía (Kw/h)	15	8	0,15	18,00
Agua (m3)	1	por parada	0,20	0,20
			Total	18,20

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán.

Tabla F-4. Estimación económica del personal utilizado para La elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) utilizando levadura vínica LALVIN EC 1118. (*S. bayanus*)

Personal	Sueldo	Días laborables	Horas	C. día	C. unitario	Total
2	480	20	8	24,00	3,00	24,00

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán.

Tabla F-5. Estimación económica de los valores totales del estudio en dólares utilizados para la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) utilizando levadura vínica LALVIN EC 1118. (*S. bayanus*)

Costo Total	60,82
Costo Unitario	2,76
La utilidad de la parada (43,13%)	49,18
Utilidad de cada botella	2,24
Costo de venta (30% de utilidad)	3,59

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán.

Tabla F-6. Estimación económica de la materia prima utilizada para la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) utilizando levadura de pan. LEVAPAN (*S. cerevisiae*)

Materiales	Unidad	Cantidad	Valor Unitario (\$)	Valor Total(\$)
Manzanas	kg	6,00	0,80	4,80
Metabisulfito de sodio	kg	0,00075	10,00	0,01
Fosfato de amonio	kg	0,0002	40,00	0,01
Azúcar	kg	6,00	1,20	7,20
Levadura LEVAPAN	kg	0,0072	6,80	0,05
Enzima LALLZYME C-MAX	kg	0,0000	248,88	0,00
Envases (750 ml)	u	22,00	0,25	5,50
Total				17,56

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán.

Tabla F-7. Estimación económica de los equipos utilizados para la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) utilizando levadura de pan. LEVAPAN (*S. cerevisiae*)

Equipos	Costo	H. utilizadas	Vida Útil	C. Anual	C. Día	C. Hora	Total
Balanza de Precisión							
Electronica	590,0	0,5	10	59,0	0,24	0,03	0,015
Balanza Mecánica	250,0	2	5	50,0	0,20	0,03	0,050
Licuada Industrial	600,0	0,15	10	60,0	0,24	0,03	0,005
Estufa	1400,0	3	10	140,0	0,56	0,07	0,210
pH - metro	1500,0	0,5	10	150,0	0,60	0,08	0,038
Centrifuga	1500,0	0,25	10	150,0	0,60	0,08	0,019
Termómetro	70,00	0,25	10	7,0	0,03	0,00	0,001
Brixómetro	200,0	0,25	10	20,0	0,08	0,01	0,003
Espectofotómetro	1200,0	0,25	10	120,0	0,48	0,06	0,015
Mesa de acero inoxidable	800,0	1,5	10	80,0	0,32	0,04	0,060
Recipientes para fermentación y mangueras	400,0	8	5	80,0	0,32	0,04	0,320
Utensilios	150,0	2	5	30,0	0,12	0,02	0,030
						Total	0,76

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán.

Tabla F-8. Estimación económica de los servicios utilizados para la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) utilizando levadura de pan. LEVAPAN (*S. cerevisiae*)

Servicios	Consumo	Tiempo	Precio unitario	Total
Energía (Kw/h)	15	8	0,15	18,00
Agua (m3)	1	por parada	0,20	0,20
Total				18,20

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán.

Tabla F-9. Estimación económica del personal utilizado para la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) utilizando levadura de pan. LEVAPAN (*S. cerevisiae*)

Personal	Sueldo	Días laborables	Horas	C. día	C. unitario	Total
2	480	20	8	24,00	3,00	24,00

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán.

Tabla F-10. Estimación económica de los valores totales del estudio en dólares utilizados para la elaboración de vino de manzana, variedad Emilia (*Reineta amarilla de Blenheim*) utilizando levadura de pan. LEVAPAN (*S. cerevisiae*)

Costo Total	60,53
Costo Unitario	2,75
La utilidad de la parada (43,13%)	49,47
Utilidad de cada botella	2,25
Costo de venta (30% de utilidad)	3,58

ELABORACIÓN: María José Andrade Albán.

ANEXO G

MÉTODOS UTILIZADOS PARA LOS ANÁLISIS

ANEXO G – 1.

DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES

Fundamento:

Los sólidos solubles de los vinos frutales dulces comprenden principalmente el contenido de azúcares de las frutas, midiendo el índice de refracción del mosto y vino.

Materiales y equipos:

Refractómetro (Brixómetro)

Agua destilada

Procedimiento:

La muestra del mosto se enfrenta a la cara del prisma del refractómetro se ilumina y se observa la escala interior que va desde 0 a 30 ° Brix; el campo de visión se dividirá en una zona iluminada y otra oscura y la unión de ambas zonas cruzará la escala en un punto que representará el ° Brix del mosto.

Referencia:

Comelius Ough, (1996) Tratado básico de enología.

ANEXO G – 2

DETERMINACIÓN DE pH

Fundamento:

El pH se obtuvo a través de la medida realizada entre dos electrodos sumergidos en el líquido que se estudia para la medida de la diferencia de potencial; y está relacionado con la resistencia a enfermedades, con el tinte o matiz de color, sabor. Porcentaje del total de dióxido de azufre en estado libre, susceptibilidad al enturbiamiento por fosfato de hierro, etc.

Materiales y equipos:

pH metro graduado

Soluciones buffer pH 4.00 y 7.00

Agua destilada

Procedimiento:

Se coloca la muestra del vino en un vaso de precipitación entre 25 y 30 ml de muestra.

Se coloca el pHmetro con solución buffer 4.00 y 7.00

Se introduce el electrodo en la muestra analizada cuya temperatura debe estar programada entre 20 – 25 °C y se lee el valor del pH.

De cada muestra se efectúa dos determinaciones de lectura

Expresión del resultado, el pH del vino se expresa con dos decimales.

Referencia:

Cornelius Ough, (1996) Tratado básico de enología y legislación vigente sobre los métodos oficiales de análisis de vinos.

ANEXO G – 3

DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TOTAL

Fundamento:

La acidez total está considerada como la suma total de los ácidos valorables obtenida cuando se lleva la bebida alcohólica a neutralidad (pH 7.00), por adición de una solución alcalina.

Materiales y equipos:

Pipeta de 20 ml

Vaso de precipitación de 100 ml

Bureta de 50 ml

pHmetro

Solución de hidróxido de sodio 0.1 N

Solución buffer de 4.00 y 7.00

Procedimiento:

Se calibra el pHmetro con solución buffer de 4.00 y 7.00. Se procede a tomar 10 ml de vino con ayuda de la pipeta y se coloca en el vaso de precipitación, añadimos paulatinamente hidróxido de sodio 0.1 N hasta que el pH se encuentre entre 8.2 y 8.4, leemos el volumen gastado de hidróxido de sodio y reportamos el valor final.

Cálculos:

Se debe calcular la acidez total expresada en g/100 ml expresado como ácido málico, con una aproximación de 0.1 g/100 ml expresado en ácido málico.

$$\text{g ácido málico} / 100 \text{ ml vino} = \text{ml NaOH} \times f$$

Donde:

ml NaOH = volumen gastado de NaOH en la titulación.

f = 0.067 (factor de dilución del ácido málico)

Referencia: Commercial Winemaking and Controls by Richard P. Vine, 1981.
Pp 365.

ANEXO G – 4

DETERMINACIÓN DE ABSORBANCIA A 420 nm

Fundamento:

El color se define mediante una serie de términos, que se pueden basar en medidas de radiación, en la energía luminosa recogida por el ojo o en la sensación de color que se forma en la mente. Se limita a una simple medida de la absorbancia de una muestra a 420nm. En el intervalo de 400 – 440nm se detecta fácilmente cualquier aumento en el color pardo de los vinos blancos.

Materiales y equipos:

Espectrofotómetro para medida en espectro visible

Cubetas de plástico (1 cm de paso)

Reactivos:

Agua destilada

Procedimiento:

Si el vino no esta limpio centrifugar previamente. Eliminar el gas carbónico, si es necesario, por agitación con vacío parcial. Realizamos una dilución de 1ml de vino en un balón de 50 ml y aforamos. Utilizar agua destilada como líquido de referencia. La longitud de onda utilizada fue de 420 nanómetros por barrido en el espectro para obtener mejores resultados.

Referencia: Association of Oficial Analytical Chemists, Método 11.003, Métodos Oficiales de Análisis, método 3 (b).

DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES – INDICE DE FOLIN-CIOCALTEU

Fundamento:

Método desarrollado por Singleton y Rossi (1965), se fundamenta en el empleo del reactivo de Follin-Ciocalteu, que mezcla ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico, que se reduce para oxidar a los fenoles, en una mezcla de óxido de tungsteno y molibdeno, que transforma la solución a color azul. Esta coloración presenta su absorción máxima alrededor de los 750 nm y es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos en la muestra de vino.

Es un método universal y muy habitual que permite obtener una buena estimación de la riqueza global en compuestos fenólicos en vinos, bebidas y extractos vegetales.

Materiales y equipos:

Reactivo de Folin-Ciocalteu

Disolución de Na_2CO_3 al 20% (peso:volumen), disolver la cantidad requerida de Na_2CO_3 en agua en ebullición. Dejar enfriar a temperatura ambiente, ajustar el volumen y filtrar si es necesario.

Espectrofotómetro para medida en espectro visible

Cubetas de 1vm de paso

Muestra:

Puede ser necesario diluir la muestra para que las medidas espectrofotométricas estén dentro de un rango adecuado. Los vinos tintos de uva se suelen diluir 1 a 5.

Procedimiento:

Se coloca 1 ml de vino (diluido al 50%) con 50 ml de agua

Se añaden 5 ml de reactivo de Folin-Ciocalteu, agitar y dejar reposar 2-3 minutos.

Se añaden 20 ml de la solución de Na_2CO_3 al 20 %

Se afora a 100 ml con agua destilada. Se agita para homogenizar. Tras 30 minutos en los que la reacción concluye y se estabiliza, se mide la Absorbancia a una longitud de onda de 750 nm en cubeta de 1 cm, empleando agua destilada como referencia.

Se determina el contenido en polifenoles totales a través de una recta patrón, teniendo en cuenta la dilución realizada.

Los resultados se expresan en: mg ácido gálico/litro. Se obtiene a partir de una recta patrón hecha con ácido gálico:

$$A_{750} = 0,00112 \cdot \text{Concentración (mg/l)} + 0,01253.$$

El valor de concentración obtenido se debe multiplicar por el factor de dilución, es decir, por 2.

Referencia:

* El método para determinar polifenoles totales – Índice de Folin-Ciocalteu, fue realizado por el Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Pública de Navarra ubicada en España.

ÍNDICE DE POLIFENOLES TOTALES – IPT

Fundamento:

Todos los compuestos fenólicos presentan un máximo de absorción en el espectro ultravioleta, hacia los 280 nm.

La Absorbancia a 280 nm o IPT aporta una idea estimativa de la riqueza en polifenoles totales del vino, mosto o extracto que se esté analizando.

Para su medición hay que diluir adecuadamente la muestra para obtener un valor de Absorbancia medible. En los vinos tintos de uva se suelen diluir de 1:50 a 1:1000. En el caso de la mora y sobretodo de la manzana, el factor dilución será menor.

Las lecturas deben realizarse en cubetas de cuarzo de 1 cm de paso óptico (el plástico y el vidrio no son válidos porque no son “transparentes” a la radiación ultravioleta). Para obtener el IPT habrá que multiplicar la lectura espectrofotométrica por el factor de dilución).

Materiales y equipos:

Espectrofotómetro para medida en espectro visible

Cubetas de 1 cm de paso

Agua destilada

Procedimiento:

Se diluye 51 veces (0,1 ml de vino en 5 ml de agua) la muestra de vino.

Se mide la Absorbancia a 280 nm, en cubetas de cuarzo de 1 cm. El valor obtenido se multiplica por el factor de dilución.

Referencia:

* El método para determinar el Índice de Polifenoles totales – IPT, fue realizado por el Departamento de Tecnología de Alimentos de la Universidad Pública de Navarra ubicada en España.

ANEXO G – 5

DETERMINACIÓN DE EXTRACTO SECO

Fundamento:

Extracto seco es la masa correspondiente a las substancia que no se volatilizan en las condiciones ensayo establecido en la presente norma.

Materiales y equipos:

Balanza analítica, sensible a 0.1 mg.

Desecador

Baño de vapor

Vaso de precipitación

Estufa

Pipeta volumétrica

Procedimiento:

Se coloca en el vaso de precipitación, perfectamente limpio y seco, en la estufa a 90 °C, mínimo durante dos horas; luego se traslada al desecador hasta obtener una temperatura ambiente y pesar con aproximación a 0,1 mg.

Se toma con la pipeta un volumen de muestra de 50 ml y se coloca en el vaso de precipitación.

Se coloca el vaso de precipitación en el baño de vapor y se evapora hasta la sequedad.

Se retira el vaso de precipitación del baño de vapor, se seca exteriormente y se coloca en la estufa calentada a 90°C, durante una hora y se lleva al desecador por 15 minutos para el enfriamiento.

Se pesa el vaso de precipitación y su contenido inmediatamente, con aproximación al 0,1 mg.

Cálculos:

El extracto seco en bebidas alcohólicas destiladas, se determina mediante la ecuación siguiente:

$$E = 20 (m_2 - m_1)$$

Donde:

E = extracto seco, en g/1000 ml de muestra

m_1 = masa del vaso de precipitación tarado, antes de efectuar el ensayo en g.

m_2 = masa del vaso de precipitación con el residuo seco, en g.

Referencia:

Norma INEN N°346, 1978-03 (AL 04.02-307)

ANEXO G – 6

DETERMINACIÓN DE GRADO ALCOHÓLICO

Fundamento:

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

Materiales y equipos:

Aparato de destilación compuesto por: matraz de destilación, de 1000 cm³ de capacidad, con fondo redondo; disco de amianto, con un orificio de 8 cm de diámetro para apoyar el balón; columna de rectificación de 20 cm de longitud que se ajusta a la boca del balón; refrigerante de Liebig, de longitud igual o mayor a 400 mm; tubo de vidrio apropiado para conducir el destilado al fondo del matraz volumétrico; baño de agua, con hielo, en el cual debe sumergirse el matraz volumétrico; tubo de vidrio delgado, de aproximadamente 6 mm de diámetro interno y de dimensiones: 100 mm x 300 mm x 100 mm; y, 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 al 0.1 mg

Reactivos:

Suspensión de hidróxido de calcio, que contenga 120 g de óxido de calcio por litro

Solución al 1% de fenolftaleína, en alcohol de 95%

Solución al 1% de ácido sulfúrico

Solución al 1% de silicona

Agua destilada

Solución sulfocrómica

Etanol

Éter etílico

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:

La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra. Determinar y anotar la temperatura a la que se encuentra la muestra que debe analizarse. Transferir 200 cm³ de muestra al matraz de destilación y colocar núcleos de ebullición. Agregar la suspensión de hidróxido de calcio para alcalinizar el medio, lo que puede comprobarse mediante el uso de la solución de fenolftaleína. Destilar la muestra, 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; recoger hasta obtener un volumen aproximadamente igual a tres cuartas partes del volumen inicial de muestra. 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.

Añadir 1 cm³ de la solución al 10% de ácido sulfúrico y colocar núcleos de ebullición; armar el aparato. 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. Agitar y llevar a volumen con agua destilada, a la misma temperatura con la que se midió la muestra inicial, con una tolerancia de $\pm 2^\circ \text{C}$; homogeneizar. 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. Dejar escurrir el picnómetro y secarlo perfectamente, tanto por dentro como por fuera; taparlo.

Pesar el picnómetro limpio y seco con aproximación al 0.1 mg. Colocar cuidadosamente la muestra destilada en el picnómetro hasta la marca, evitando la formación de burbujas de aire, y luego taparlo. 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. Retirar el picnómetro del baño, secar exteriormente con papel filtro y pesar con aproximación al 0,1 mg. Vaciar el picnómetro y limpiar como se indica anteriormente; secarlo perfectamente y poner en él agua destilada hasta la marca respectiva, evitando la formación de burbujas de aire; tapar el picnómetro. Determinar la densidad relativa de acuerdo a lo indicado en los cálculos a continuación. Establecer el

grado alcohólico, basándose en la densidad calculada y utilizando las tablas correspondientes.

Cálculos:

La densidad relativa se determina mediante la ecuación siguiente:

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

Donde:

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 NTE INEN 360, 1978-04 (AL 04.02-321)

ANEXO G – 7

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS ANAEROBIOS TOTALES, COLIFORMES TOTALES, MOHOS Y LEVADURAS.

Fundamento:

Hay una serie de razones que justifican la necesidad de analizar los alimentos para determinar cualitativa o cuantitativamente sus microorganismos, el principal objetivo del análisis microbiológico son asegurar que el alimento cumple ciertas normas estatutarias; que se ajusten a normas exigidas por productor, fabricante y consumidor.

Los microorganismos responsables de la alteración del vino son fundamentalmente levaduras salvajes y bacterias, aunque algunos defectos no son de origen microbiano.

Entre las levaduras alterantes de interés citaremos *Candida*, *Pichia* y varias *Saccharomyces* que al crecer originan velos o películas en la superficie del vino. Ciertas levaduras que son convenientes en algunos vinos, resultan perjudiciales para otros en los que se desea que haya algo de azúcar residual.

Las bacterias alterantes del vino son principalmente los acetobacter y las bacterias lácticas. Las primeras originan acidez mientras que las últimas representadas por los géneros *Lactobacillus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*; producen ácido láctico y acético a partir de los azúcares; la producción de estos

ácidos se acompaña corrientemente de la turbidez. De aromas extraños y posiblemente de emisión de dióxido de carbono.

Materiales y equipos:

Placas petrifilm (3M) para recuento de aerobios totales	Tubos bacteriológicos
Agua peptonada	Homogenizador de tubos
Cámara de flujo laminar	Incubadora
Pipetor electrónico	Cuenta colonias

Procedimiento:

Se prepara una dilución de la muestra a 1:10 o superior. Se pipetea la muestra en un tubo bacteriológico estéril.

Se añade una cantidad adecuada de diluyente (agua peptonada)

Se mezcla y se homogeniza la muestra mediante los métodos usuales.

Se coloca la placa Petrifilm en un superficie plana. Se levanta el film superior, con una pipeta perpendicular a la placa Petrifilm se coloca 1 ml de muestra en el centro del film inferior.

Se baja el film superior, y se deja que caiga. No deslizarlo hacia abajo.

Con la cara lisa hacia arriba, se coloca el aplicador en el film superior sobre el inóculo.

Con cuidado se ejerce una presión sobre el aplicador para repartir el inóculo sobre el área circular. No se debe girar ni deslizar el aplicador.

Se levanta el aplicador. Se debe esperar un minuto a que solidifique el gel.

Incubar las placas Petrifilm cara arriba en pilas de hasta 20 placas. Las temperaturas de incubación son las siguientes: aerobios totales (30 °C durante 48 horas), coliformes totales (32 - 35 °C durante 24 horas) y para mohos y levaduras (25 °C ± 1 °C durante 3 – 5 días).

Leer las placas Petrifilm en un contador de colonias estándar con aumento.

Referencia:

FORSYTHE, S.J. (1999). Higiene de los Alimentos, microbiología y HACCP; Guía de Interpretación 3M Petrifilm. Microbiology Products-Laboratoires 3M Santé.

ANEXO G-8

ANÁLISIS SENSORIAL

Fundamento:

El análisis sensorial puede ser definido como el método experimental mediante el cual los jueces perciben y califica, caracterizado y/o medido, las propiedades sensoriales de muestras adecuadamente presentadas bajo condiciones ambientales preestablecidas y bajo un patrón de evaluación acorde al posterior análisis estadístico.

Materiales y equipos:

Copas de vidrio

Vasos

Bandejas

Agua

Galletas de sal

Fichas para la evaluación

Estación de cata

Procedimiento:

Se empleó un diseño Látxice balanceado (3*4) con la finalidad de distribuir cierto número de muestras a distintos catadores, de forma que se tenían 12 muestras

de vinos, las cuales fueron distribuidas entre 4 catadores de manera que se disminuye el impacto de la fatiga que se genera en los catadores cuando deben evaluar muchos tratamientos en la misma sesión de cata, el número de catadores utilizados fue de 36 personas y se obtuvo 9 respuestas por muestra de vino.

El grupo de catadores semi-entrenados empleados pertenecen a la Facultad de Ciencia e Ingeniería de los Alimentos, a los mismos que se les hizo evaluar: color, aroma, dulzor, acidez, astringencia y apreciación global, utilizando la ficha de catación (Anexo D-1), el ensayo se realizó por duplicado

Posteriormente a la evaluación sensorial del vino de manzana variedad Emilia (*Reineta amarilla de blenheím*), se encontró el mejor tratamiento para realizar un estudio microbiológico, económico y de estabilidad.

Referencia:

Análisis sensorial mediante prueba de escala hedónica de 7 puntos (Norma ISO 412:1987); Análisis Sensorial: Centro de formación Saber de Vinos, mayo del 2000. Valencia España; COCHRAN, William (1990). "Diseños Experimentales".

ANEXO H

FICHA TÉCNICA DE ANÁLISIS SENSORIAL



**UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
HOJA DE CATACIÓN**



Nombre del catador(a):.....
Sexo:
Edad:
Fecha:

INSTRUCCIONES: En el orden que se solicite deguste y marque a su parecer una de las alternativas de acuerdo a la escala hedónica establecida a continuación.

Escala Hedónica:

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

**EVALUACIÓN SENSORIAL DE CALIDAD Y ACEPTABILIDAD DE
VINO DE MANZANA VARIEDAD EMILIA
(Reineta amarilla de Blenheim)**

Atributo	MUESTRA No.		

Color			
Aroma			
Dulzor			
Acidez			
Astringencia			
Apreciación Global			

Comentarios.....

Gracias por su colaboración

ANEXO I

FOTOGRAFÍAS



Fotografía I-1. Materia prima: manzana, variedad Emilia
(*Reineta amarilla de Blenheim*)



Fotografía I-2. Lavado de la materia prima



Fotografía I-3. Troceado de la manzana



Fotografía I-4. Pesado de la materia prima



Fotografía I-5. Preparación del mosto



Fotografía I-6. Corrección del mosto



Fotografía I-7. Adición de nutrientes



Fotografía I-8. Activación de las levaduras vínicas y de panificación



Fotografía I-9. Fermentación de los mostos



Fotografías I-10 a I-13. Análisis de grados brix, pH, acidez total (% Ac. Málico) y absorbancia a una longitud de 420 nm en los mostos durante la fermentación



Fotografía I-14. Vino de manzana, variedad Emilia
(*Reineta amarilla de Blenheim*)



241

Fotografías I-15 y I-16. Evaluación sensorial del Vino de manzana, variedad Emilia
(*Reineta amarilla de Blenheim*)