

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE ALIMENTOS

Tema: “Elaboración de vino a base de níspero (*Eriobotrya japonica*) y nibs de cacao arriba (*Theobroma cacao L*) mediante el uso de dos variedades de levaduras vínicas”

Trabajo de Integración Curricular previo a la obtención del
título de Ingeniera en Alimentos

AUTORA: Tapia Herrera Angie Veruzca

TUTOR: Ing. Paredes Pita Carlos Arturo, MSc.

Tulcán, 2022

CERTIFICADO DEL TUTOR

Certifico que la estudiante Tapia Herrera Angie Veruzca con el número de cédula 0401593892 respectivamente ha desarrollado el Trabajo de Integración Curricular: "Elaboración de vino a base de níspero (*Eriobotrya japonica*) y nibs de cacao arriba (*Theobroma cacao L*) mediante el uso de dos variedades de levaduras vínicas"

Este trabajo se sujeta a las normas y metodología dispuesta en el Reglamento de la Unidad de Integración Curricular, Titulación e Incorporación de la UPEC, por lo tanto, autorizo la presentación de la sustentación para la calificación respectiva.



Ing. Paredes Pita Carlos Arturo, MSc.

TUTOR

Tulcán, octubre de 2022

AUTORÍA DE TRABAJO

El presente Trabajo de Integración Curricular constituye un requisito previo para la obtención del título de Ingeniera en la Carrera de Alimentos de la Facultad de Industrias Agropecuarias y Ciencias Ambientales

Yo, Tapia Herrera Angie Veruzca con cédula de identidad número 0401593892 respectivamente declaro que la investigación es absolutamente original, auténtica, personal y los resultados y conclusiones a los que he llegado son de mi absoluta responsabilidad.



Tapia Herrera Angie Veruzca

AUTOR

Tulcán, octubre de 2022

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo, Tapia Herrera Angie Veruzca declaro ser autor de los criterios emitidos en el Trabajo de Integración Curricular: "Elaboración de vino a base de níspero (*Eriobotrya japónica*) y nibs de cacao arriba (*Theobroma cacao L*) mediante el uso de dos variedades de levaduras vínicas" y se exime expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes de posibles reclamos o acciones legales.



Tapia Herrera Angie Veruzca

AUTOR

Tulcán, octubre de 2022

AGRADECIMIENTO

A Dios, por ser el inspirador y guiarme a lo largo de mi vida, al ser un apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad.

Gracias a mi abuelita Graciela Rueda y a mis padres Wilson Tapia y Martha Herrera por motivarme a seguir adelante, brindándome un apoyo moral y sabiduría para perseverar y culminar mis metas propuestas.

Gracias a mis amigos y compañeros de carrera por apoyarme con sus conocimientos.

A la Universidad Politécnica Estatal del Carchi por proveerme de noción académica que influenciará en mi vida profesional, y un profundo agradecimiento a mi tutor MSc, Carlos Paredes, por guiarme con sus conocimientos en la ejecución del presente proyecto.

DEDICATORIA

Dedico este proyecto de grado a Dios y a mi familia, quienes son un pilar fundamental en mi vida, aportando siempre su apoyo incondicional en cada uno de mis sueños.

ÍNDICE

CERTIFICADO DEL TUTOR.....	ii
AUTORÍA DE TRABAJO.....	iii
ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
RESUMEN.....	16
ABSTRACT	17
INTRODUCCIÓN	18
I. EL PROBLEMA	19
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	19
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	20
1.3. JUSTIFICACIÓN	20
1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	21
1.4.1. Objetivo General	21
1.4.2. Objetivos Específicos	21
1.4.3. Preguntas de Investigación.....	21
II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	23
2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN.....	23
2.2. MARCO TEÓRICO	25
2.2.1. Cacao arriba (<i>Theobroma cacao L</i>)	25
2.2.2. Variedades del cacao arriba (<i>Theobroma cacao. L</i>)	26
2.2.2.1. Trinitario	26
2.2.2.2. Criollo	26
2.2.2.3. Forastero	26
2.2.2.4. Nacional	27
2.2.3. Nibs de cacao	27

2.2.3.1. Compuestos volátiles de los nibs de cacao.....	27
2.2.3.2. Proceso de obtención de nibs de grano de cacao	28
2.2.3.2.1. Fermentación	28
2.2.3.2.2. Secado	29
2.2.3.2.3. Selección de la materia prima	29
2.2.3.2.4. Almacenamiento.....	29
2.2.3.2.5. Limpieza	30
2.2.3.2.6. Descascarillado y tostado.....	30
2.2.3.2.7. Triturado.....	30
2.2.4. Níspero	30
2.2.4.1. Variedades de níspero de la especie (<i>Eriobotrya japónica</i>).....	33
2.2.5. Etapas de maduración del fruto.....	36
2.2.5.1. Crecimiento.....	36
2.2.5.2. Maduración	36
2.2.5.1.1. Tipos de madurez.....	37
2.2.5.2. Senescencia	37
2.2.6. Requerimientos de calidad en el índice de madurez del níspero.....	38
2.2.7. Vino de frutas	39
2.2.7.1. Requisitos del vino.....	40
2.2.7.3. Mosto	40
2.2.7.4. Macerado.....	41
2.2.7.4.1. Tipos de macerado	42
2.2.7.5. Inoculación y fermentación.....	42
2.2.7.5.1. Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Safoeno CK S102)	43
2.2.7.5.2. Levadura <i>Saccharomyces bayanus</i> (Safoeno BC S103)	44
2.2.7.6. Trasiego y sulfitado	44
2.2.7.7. Clarificación	45
2.2.7.8. Estabilización por frío y filtrado.....	46

2.2.8. Compuestos polifenólicos en vino.....	47
2.2.8.1. Compuestos no flavonoides.....	47
2.2.8.2. Compuestos flavonoides.....	47
2.2.9. Análisis sensorial de los vinos	48
2.2.9.1. Características sensoriales de los vinos.....	48
2.2.9.1.1. Color.....	48
2.2.9.1.2. Sabor	48
2.2.9.1.3. Aroma	49
2.2.9.1.4. Acidez	49
2.2.9.1.5. Amargor.....	49
2.2.9.1.6. Astringencia	50
2.2.10. Balance de aroma en el vino	50
2.2.11. Balance de gusto en el vino	50
III. METODOLOGÍA	52
3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO	52
3.1.1. Enfoque	52
3.1.2. Tipo de investigación	52
3.2. HIPÓTESIS	52
3.2.1. Hipótesis nula	52
3.2.2. Hipótesis alternativa.....	52
3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES.....	53
3.3.1. Definición de las variables.....	53
3.3.1.1. Variable independiente	53
3.3.1.2. Variable dependiente	53
3.3.2. Operacionalización de las variables	54
3.4. MÉTODOS UTILIZADOS	55
3.4.1. Método para la elaboración del vino.....	55
3.4.1.1. Métodos específicos de manejo del experimento	55

3.4.1.2. Descripción del proceso para la obtención del vino de pulpa de níspero y nibs de cacao.....	57
3.4.2. Métodos de análisis de las características fisicoquímicas en la fermentación alcohólica.....	58
3.4.2.1. Grados brix.....	58
3.4.2.2. pH.....	59
3.4.2.3. Temperatura	59
3.4.2.4. Acidez total.....	59
3.4.3. Método para la evaluación sensorial	60
3.4.4. Métodos de análisis fisicoquímico del vino de níspero y nibs de cacao....	61
3.4.4.1. Determinación de grado alcohólico.....	61
3.4.4.2. Determinación de acidez total	61
3.4.4.3. Determinación de anhídrido sulfuroso total	63
3.4.4.4. Determinación de metanol.....	63
3.4.4.5. Determinación de contenido de azúcares	65
3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO	66
3.5.1. Modelo matemático	66
3.5.2. Tratamientos de estudio	67
3.5.3. Factores de estudio	68
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	70
4.1. RESULTADOS.....	70
4.1.1. Caracterización del níspero	70
4.1.2. Características fisicoquímicas de fermentación de los mostos	70
4.1.2.1. Análisis de grados brix.....	70
4.1.2.2. Análisis de concentración de iones de hidrógeno (pH)	71
4.1.2.3. Análisis de acidez total	72
4.1.3. Evaluación sensorial	73
4.1.4. Resultados fisicoquímicos del mejor tratamiento	75

4.2. DISCUSIÓN	75
4.2.1. Caracterización del níspero.....	75
4.2.2. Características fisicoquímicas de fermentación de los mostos.....	76
4.2.2.1. Grados brix	76
4.2.2.2. Concentración de iones de hidrógeno (pH)	76
4.2.2.3. Acidez total	77
4.2.3. Análisis sensorial.....	78
4.2.3.1. Color.....	78
4.2.3.2. Aroma	78
4.2.3.3. Sabor	79
4.2.3.4. Amargor.....	79
4.2.3.5. Astringencia	80
4.2.3.6. Apreciación global	80
4.2.4. Resultados fisicoquímicos del mejor tratamiento.....	81
4.2.4.1. Alcohol, fracción volumétrica.....	81
4.2.4.2. Acidez volátil.....	81
4.2.4.3. Acidez total	82
4.2.4.4. Anhídrido sulfuroso total	82
4.2.4.5. Metanol.....	83
4.2.4.6. Contenido de azúcares	83
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	85
5.1. CONCLUSIONES.....	85
5.2. RECOMENDACIONES	86
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	87
VII. ANEXOS.....	99

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Pesos promedio de las partes del cacao arriba	25
Tabla 2.	Composición del cacao sin tostar.....	26
Tabla 3.	Distribución de compuestos volátiles en una muestra típica de cacao....	28
Tabla 4.	Características del grano de cacao previo a su almacenamiento.....	29
Tabla 5.	Composición química del níspero europeo (<i>Mespilus germánica</i>)	31
Tabla 6.	Composición química del níspero (<i>Eriobotrya japónica</i>)	32
Tabla 7.	Clasificación de vino de frutas.....	39
Tabla 8.	Requisitos fisicoquímicos para vinos de frutas	40
Tabla 9.	Métodos para clarificación de vinos de frutas	45
Tabla 10.	Variables independientes y dependientes	54
Tabla 11.	ANOVA con modelo factorial de dos factores	67
Tabla 12.	Determinación de los tratamientos en cuanto a las variables independientes.....	67
Tabla 13.	Esquema del experimento de porcentaje de variables de mosto.....	68
Tabla 14.	Unidades experimentales	68
Tabla 15.	Formulación de tratamientos del experimento	69
Tabla 16.	Caracterización del níspero utilizado en la investigación en su estado de madurez comercial.....	70
Tabla 17.	Comparación de medias con HSD de Tukey y p- valor de ANOVA en los grados brix.....	71
Tabla 18.	Comparación de medias con HSD de Tukey y p- valor de ANOVA en el pH.....	72
Tabla 19.	Comparación de medias con HSD de Tukey y p- valor de ANOVA de acidez.....	73
Tabla 20.	Nivel de significancia entre los cuatro tratamientos de las características sensoriales de ANOVA	74
Tabla 21.	Medias de comparación de la prueba de HDS de Tukey.....	74

Tabla 22.	Análisis fisicoquímico del tratamiento uno.....	75
Tabla 23.	Caracterización inicial del mosto de níspero	117
Tabla 24.	Comportamiento de grados brix en cuanto a los días de fermentación para la obtención del vino.....	118
Tabla 25.	Comportamiento de pH en cuanto a los días de fermentación para la obtención del vino.....	119
Tabla 26.	Comportamiento de la acidez total expresada en ácido málico en cuanto a los días de fermentación para la obtención del vino.	120
Tabla 27.	Análisis ANOVA de grados brix	121
Tabla 28.	Análisis ANOVA de pH.....	121
Tabla 29.	Análisis ANOVA de acidez total.....	121
Tabla 30.	Análisis ANOVA descriptivo del atributo color.....	122
Tabla 31.	HDS de Tukey por medio de Subconjuntos homogéneos en el tributo color.....	122
Tabla 32.	Análisis ANOVA descriptivo del atributo aroma.....	122
Tabla 33.	HDS de Tukey por medio de Subconjuntos homogéneos en el tributo aroma.....	122
Tabla 34.	Análisis ANOVA descriptivo del atributo sabor.....	123
Tabla 35.	HDS de Tukey por medio de Subconjuntos homogéneos en el tributo sabor.....	123
Tabla 36.	Análisis ANOVA descriptivo del atributo amargor	123
Tabla 37.	HDS de Tukey por medio de Subconjuntos homogéneos en el tributo amargor.....	123
Tabla 38.	Análisis ANOVA descriptivo del atributo astringencia.....	124
Tabla 39.	HDS de Tukey por medio de Subconjuntos homogéneos en el tributo astringencia.....	124
Tabla 40.	Análisis ANOVA descriptivo de la apreciación global.....	124
Tabla 41.	HDS de Tukey por medio de Subconjuntos homogéneos de la apreciación global.....	124

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.	Níspero europeo (<i>Mespilus germánica</i>).....	31
Figura 2.	Níspero (<i>Eriobotrya japónica</i>).....	32
Figura 3.	Etapas entre la formación del fruto y la senescencia	36
Figura 4.	Los 6 estados de madurez del níspero e índices de color.	38
Figura 5.	Transferencia de disolvente al sólido y extracción del soluto	41
Figura 6.	Balance tripartido en vinos	51
Figura 7.	Diagrama de bloques con las corrientes de entrada y salida para la obtención del vino de níspero y nibs de cacao.	56
Figura 8.	Consumo de azúcares durante la fermentación de los cuatro tratamientos.....	71
Figura 9.	Iones de hidrógeno (pH) durante la fermentación de los cuatro tratamientos.....	72
Figura 10.	Acidez total durante la fermentación de los cuatro tratamientos.....	73
Figura 11.	Cosecha de níspero.....	128
Figura 12.	Eliminación de fruta con podredumbre.....	128
Figura 13.	Pasteurización de la fruta seleccionada para eliminación de microorganismos.....	128
Figura 14.	Congelación de la pulpa cortada en trozos	128
Figura 15.	Pesado de la pulpa que se utilizó en la elaboración de mostos.....	129
Figura 16.	Levaduras que se implementaron en el mosto.....	129
Figura 17.	Medición de pH por medio de potenciómetro de pulpa de níspero licuado	129
Figura 18.	Medición de acidez de la pulpa de níspero licuada por medio de titulación.....	129
Figura 19.	Elaboración de los mostos formulados.....	130
Figura 20.	Mostos de níspero formulados.....	130

Figura 21.	Análisis de acidez total de los mostos por medio de titulación con un punto de viraje final rosa pálido.....	130
Figura 22.	Análisis de pH y grados brix de los mostos.....	130
Figura 23.	Maceración de los vinos con nibs de cacao.....	131
Figura 24.	Clarificación de los vinos por medio de gelatina sin sabor.....	131
Figura 25.	Vinos clarificados y trasegados.....	131
Figura 26.	Preparación de muestras para la evaluación sensorial.....	131
Figura 27.	Evaluación sensorial con panelistas no entrenados.....	132
Figura 28.	Destilación de vino para el análisis del grado alcohólico.....	132
Figura 29.	Medición del grado alcohólico del mejor tratamiento por medio de alcoholímetro Gay Lussac.....	132
Figura 30.	Medición de acidez del mejor tratamiento.....	132

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo A.	Acta de sustentación de predefensa de TIC	99
Anexo B.	Certificado de validación del abstract por parte del centro de idiomas.....	100
Anexo C.	Requisitos de vino de frutas establecidos por la norma INEN	102
Anexo D.	Metodología utilizada para los análisis fisicoquímicos y sensoriales	116
Anexo E.	Respuestas Experimentales.....	117
Anexo F.	Análisis estadístico de las características fisicoquímicos	121
Anexo G.	Análisis estadístico del vino de níspero con nibs de cacao.....	122
Anexo H.	Análisis fisicoquímicos del mejor tratamiento	125
Anexo I.	Fotografías	128

RESUMEN

El vino de frutas es proveniente de la fermentación alcohólica del zumo de frutas o bayas maduras. En la presente investigación se elaboró un vino a base de níspero con nibs de cacao arriba, usando levaduras *S. bayanus* y *S. cerevisiae*. La fermentación alcohólica fue controlada mediante las características fisicoquímicas de grados brix, pH y acidez total durante 18 días, y se maceró con nibs de cacao al 5 % durante dos días. En la evaluación sensorial se utilizó la prueba de aceptabilidad considerando características generales como: color, aroma, sabor, astringencia y amargor con una escala hedónica de siete puntos mediante la colaboración de 65 jueces no entrenados. Los resultados fueron evaluados por medio del programa IBM PSS, utilizando un ANOVA y una prueba de rangos de Tukey al 95% de confianza con un diseño factorial 2² donde los factores de estudio fueron el tipo de levadura vínica y la concentración de fruta con dos niveles distintos en cada una. En el análisis de las características fisicoquímicas se determinó que *S. bayanus* tiene una mayor velocidad de consumo de azúcares con 30 % de concentración de pulpa y se generó una disminución del pH en los 4 tratamientos debido a la síntesis de los ácidos del mosto. De acuerdo al análisis sensorial, en la apreciación global se tuvo una mejor aceptabilidad en el tratamiento uno, conformado por *S. bayanus* y 25% pulpa, el mismo cumple con los requisitos fisicoquímicos establecidos en la normativa INEN 374 "Bebidas alcohólicas. Requisitos para vino de frutas".

Palabras clave: Níspero, vino, levadura, nibs, cacao.

ABSTRACT

Fruit wine is derived from the alcoholic fermentation of fruit juice or ripe berries. In the present investigation, a loquat-based wine with cocoa nibs on top was produced, using *S. bayanus* and *S. cerevisiae* yeasts. The alcoholic fermentation was controlled by the physicochemical characteristics of degrees brix, pH and total acidity for 18 days, and was macerated with 5% cocoa nibs for two days. In the sensory evaluation, the acceptability test was used considering general characteristics such as: color, aroma, flavor, astringency and bitterness with a seven-point hedonic scale through the collaboration of 65 untrained judges. The results were evaluated by means of the IBM PSS program, using an ANOVA and a Tukey rank test at 95% confidence with a 2² factorial design where the study factors were the type of wine yeast and the concentration of fruit with two different levels in each one. In the analysis of the physicochemical characteristics, it was determined that *S. bayanus* has a higher consumption of sugars with 30% pulp concentration and the two wine strains had a decrease in pH due to the synthesis of must acids. According to the sensory analysis, in the global appreciation there was a better acceptability in treatment one, made up of *S. bayanus* and 25% pulp, it complies with the physicochemical requirements established in the INEN 374 "Alcoholic beverages. Requirements for fruit wine".

Keywords: Loquat, wine, yeast, nibs, cocoa.

INTRODUCCIÓN

El propósito de la presente investigación es experimentar una nueva forma para elaborar vinos de frutas que proporcionen una nueva experiencia sensorial implementando una maceración con productos semielaborados del Ecuador como los nibs de cacao y la fermentación alcohólica se realizó utilizando níspero, este es un fruto exótico que no es aprovechado para la fabricación industrial de nuevos productos debido a que es una fruta de temporada que se madura en muy poco tiempo, por lo que se aprovechó sus características sensoriales para conservarlas en la elaboración de un vino, el cual tendrá un tiempo de vida útil prolongada.

Gallegos (2008) establece que el vino de frutas es una bebida alcohólica que se disfruta por la armonía que existe entre sabores, colores y aromas peculiares provenientes de las reacciones químicas y bioquímicas de la fermentación alcohólica producida por levaduras vínicas en un mosto de frutas con las condiciones adecuadas para obtener un vino de calidad, el cual puede ser usado como aperitivo en el maridaje con platos para generar una sinergia entre las propiedades sensoriales de estos.

Pozo-Bayón et al. (2016) mencionaron que la importancia existente en las características sensoriales del vino, en los gustos y preferencias de los consumidores produjeron una necesidad para generar varias estrategias que la industria enológica emplea para diversificar su producción, es la elaboración de vinos con características aromáticas distintivas. Entonces en la actualidad se han implementado varios estudios sobre la potencialización del carácter varietal para liberar aromas conjugados, la selección de levaduras como las especies *Saccharomyces* y no *Saccharomyces* que por su potencial enzimático aporten al vino aromas específicos, la selección del tipo de madera de la barrica empleada durante la crianza y el tipo de tostado de la madera, entre otros (pp.139-162).

I. EL PROBLEMA

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Según Ochoa (2019), el Ecuador es uno de los proveedores principales de cacao a nivel mundial debido a que esta materia prima contiene características únicas por las condiciones ambientales que contemplan las regiones costeras ecuatorianas, la producción de las semillas de cacao es destinada en su mayoría como materia prima para la comercialización internacional y a su vez, se implementan para la fabricación de productos semielaborados como licor, nibs y manteca de cacao. Aunque Riveros (2007), considera que existe un bajo aprovechamiento de las características sensoriales que contiene este grano en la elaboración de productos innovadores, donde la fabricación de productos a base de cacao tiene generalmente un rendimiento del 85 % de almendra de cacao.

El níspero es un fruto exótico que ofrece una excelente calidad sensorial y a su vez proporciona beneficios a la salud debido a su composición nutricional. Sierra (2010) registra una producción considerablemente baja en esta especie y su aprovechamiento en la industria no se ha considerado en cuanto a la elaboración de nuevos productos como las bebidas alcohólicas en el Ecuador, debido a la falta de emprendimientos de productos innovadores y a la baja comercialización de esta fruta, por lo que no hay datos registrados sobre la escala estadística de producción y áreas cultivadas de níspero japonés, aunque se menciona que existen pequeños cultivos, para uso privado o comercial en escala mínima en zonas como Pimampiro, Crucita, Loja y en las fincas de los valles de Quito.

Murillo (2022) afirma que las características de equilibrio y profundidad del vino tienen una influencia directa con la armonía entre amargor, astringencia, acidez, alcohol y azúcar, si existe un desbalance entre estos, se generarán vinos poco aceptables. A su vez Ocaña (2012), considera que otro factor influyente en la calidad sensorial son los metabolitos producidos en la fermentación alcohólica que pueden generar sabores y aromas indeseables al seleccionar tipos de levaduras no adecuados o también por las condiciones ambientales no favorables en el mosto.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿El uso de nibs de cacao y níspero para la elaboración de un vino permitirá obtener características sensoriales y fisicoquímicas aceptables?

1.3. JUSTIFICACIÓN

Torres (2019) menciona que el níspero posee: carotenoides 800 μg , potasio 263 μg , carbohidratos (glucosa 2,28 %, fructosa 12,1 % y sacarosa 3,10%) y vitaminas (A 133 μg , C 2 mg y B2 0,05 mg). Los nutrientes provenientes de frutas ricas en carbohidratos y vitaminas permiten un fácil proceso de fermentación al formar parte del sustrato de levaduras para la obtención de alcohol etílico. De acuerdo con Taleno y Morales (2014), la maduración del níspero japonés favorece la concentración de sorbitol, llegando a un 15 % del total de azúcares como consecuencia del aumento de sacarosa a un 37 %, generando sabores semejantes a las cerezas. Por lo cual, aquellas características sensoriales se conservarán y potencializarán por medio de la fermentación alcohólica.

En la investigación efectuada por Anecacao (2015), considera que el Ecuador es un productor destacado de cacao arriba de la variedad nacional con un 63 % de producción mundial debido a su excelente calidad sensorial al distinguirse por su pureza, sabor y fragancia para la elaboración de chocolates selectos y gourmets a nivel internacional siendo calificado como el mejor cacao del mundo. Aunque en el Ecuador el aprovechamiento del cacao arriba se limita en su mayoría a la comercialización como materia prima y productos semielaborados. Gaviria y Medina (2016) señalan que los nibs de cacao son considerados como una fuente de polifenoles como los flavonoides que aportan propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, también contienen nutrientes como magnesio, calcio, hierro, cobre, zinc, potasio y proporcionan una serie de neurotransmisores que actúan como antidepresivos y aumentan la energía debido a sustancias químicas como la phenylethylamina (amina potencialmente aromática), anandamina, triptófano y teobromina.

Vinetur (2022) argumenta que la producción de vino en el mundo ha tenido demandas crecientes en los últimos años, con un volumen de 11.160 millones de litros, el mayor volumen exportado jamás registrado en la historia de las exportaciones

mundiales de vino en 2021, obteniendo un aumento anual del 16%, este incremento se debe a varios factores como: sociales, tradicionales, culturales y económicos. El vino es apreciado por los consumidores no solo por el gusto, sino por sus matices cromáticos en su aspecto y las diferentes notas de aroma que permiten dar una experiencia única. Smith (2021) asume que al consumir moderadamente vino puede traer beneficios a la salud como la mejora de la salud cardíaca, intestinal y cerebral. Esto se debe a su contenido de compuestos como el resveratrol que producen efectos antioxidantes y antiinflamatorios, mejorando los niveles de lípidos en el cuerpo. Por lo expuesto anteriormente, se propone el uso de nibs de cacao en el vino de níspero para potencializar las cualidades tanto sensoriales como fisicoquímicas, con la finalidad de obtener un vino de calidad, abriendo un nuevo mercado de vinos compuestos con sustancias aromáticas que proporcionen una nueva experiencia sensorial con sus diversos matices degustativos.

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General

- Elaborar un vino a base de níspero (*Eriobotrya japonica*) con nibs de cacao arriba (*Theobroma cacao L.*) variedad nacional, mediante el uso de dos variedades de levaduras vínicas.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar las características fisicoquímicas (pH, sólidos solubles, acidez total) de fermentación del mosto.
- Evaluar las características sensoriales de las diferentes formulaciones de vino para la identificación del mejor tratamiento.
- Realizar un análisis fisicoquímico de grado alcohólico, acidez total, acidez volátil, anhídrido sulfuroso total, metanol y contenido de azúcares del mejor tratamiento.

1.4.3. Preguntas de Investigación

- ¿Las distintas formulaciones de mosto de níspero presentarán diferencias entre sí en cuanto a las características fisicoquímicas de fermentación como pH, acidez total y grados brix?

- ¿Cuál de los tratamientos se considerará el mejor en base a las características tomadas en cuenta en la evaluación sensorial?
- ¿Cuál será el nivel de aceptabilidad del mejor tratamiento?
- ¿El mejor tratamiento cumplirá con los requerimientos fisicoquímicos de la normativa INEN 374 en cuanto a grado alcohólico, acidez total, acidez volátil, anhídrido sulfuroso total, metanol y contenido de azúcares?

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Taleno y Morales (2014) en su investigación sobre "Elaboración de un nuevo producto a base de grano de cacao obteniendo como producto final vino". Realizaron dos formulaciones para la elaboración de vino de cacao, la primera consistió en la utilización de grano tostado y molido al 49,97 %, y especias como zumo de naranja al 0,000028%, vainilla al 0,00077%, 49,97% de azúcar y 0,057 % de alcohol para ser llevadas a una maceración en un recipiente hermético por quince días, obteniendo un vino con características sensoriales aceptables, en el segundo experimento se adicionó grano de cacao tostado y molido al 49,48 %, levadura de cerveza al 0,0293 % y azúcar al 49,98%, posteriormente se almacenó por quince días en un recipiente hermético donde se obtuvo un vino con características sensoriales de olor y sabor no aceptables. Se recomendó implementar el grano de cacao tostado después de la fermentación para evitar alteraciones en el proceso metabólico generado por las levaduras (pp. 80-81).

Salazar (2010) previo a la obtención del título de Ingeniería en Alimentos de la Universidad Técnica de Ambato, efectuó una investigación acerca de un "Estudio de la influencia de tres variedades de levaduras vínicas (*Saccharomyces bayanus* (LALVINEC1118), *Saccharomyces bayanus* (LALVIN QA23), *Saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* (LALVIN ICV OPALE)) y levadura de panificación (*Saccharomyces cerevisiae*) en la calidad sensorial del vino de manzana, Variedad Emilia (*Malus communis*-Reineta Amarilla de Blenheim)". Elaboró un diseño experimental A x B, implementando cuatro variedades de levadura y dos tipos de mosto, los vinos se expusieron a un análisis físico químico, espectrofotométrico y sensorial, demostrando que los dos mejores vinos fueron aquellos en los que se usó *Saccharomyces bayanus* (LALVIN QA23) en mosto limpio o con sólidos, y determinó que la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) no aporta los suficientes compuestos aromáticos característicos de los vinos. En los tiempos de estabilidad del vino determinaron que los mejores tratamientos presentaron una oxidación de los pigmentos hidrosolubles

después de 33 días con un grado alcohólico de 15,1 GL. Los factores tales como tiempo, temperatura, concentración de nutrientes y biorreactores artesanales, dificultaron la presencia adecuada de la cinética de fermentación de vinos para los cuales se tomaron parámetros como: grados brix y pH (pp.143-148).

Ocaña (2012) en su investigación sobre "Vino de mora de castilla (*Rubus glucus Benth*) elaborado a tres proporciones distintas de fruta, agua y tres niveles de dulzor". Usó un diseño de bloques incompletos completamente aleatorizado donde se tuvo dos factores, el factor A compuesto por tres niveles de pulpa (20%, 25% y 30%) y tres niveles de agua (80%, 75% y 67%), en el factor B se tomó tres niveles de contenido de azúcar (3,5 y 7 °Brix). Las fermentaciones se realizaron por cuadruplicado y concluyó que el tratamiento con la proporción de 20 % fruta y 80% agua se obtuvo un dulzor de 12 °Brix, siendo este el que tuvo mejores resultados de aceptabilidad en cuanto a sus características sensoriales. En los resultados de los análisis químicos en cuanto al contenido de polifenoles totales de los vinos de mora osciló entre un 602 y 1217 mg/ l, donde los elagitaninos fueron los compuestos fenólicos mayoritarios con valores de 303 a 827 mg/l, antocianos de entre 39,1 y 84,8 mg/l con una actividad antioxidante de entre 3,82 y 9,21 milimoles/l obteniendo así valores inferiores al comparar con otros estudios. Identificó un aumento de los polifenoles totales, elagitaninos y la capacidad antioxidante en cuanto al aumento de la porción de fruta (pp.106-108).

En la tesis doctoral de Villamor (2012), de la Universidad Estatal de Washington realizó una investigación sobre "The impact of wine components on the chemical and sensory properties of wines". Estableció que existe un efecto del etanol sobre el aroma del vino de uva, obteniendo un cambio en los compuestos volátiles aromáticos y un aumento de la intensidad de aromas frutales y florales por consecuencia del etanol, estos compuestos fenólicos ayudan a la liberación del aroma. Concluyó que la astringencia de los vinos de uva aumentaba significativamente a medida que se incrementaba la concentración de taninos, con tendencia a enmascarar la amargura percibida (p. 85).

En el estudio de Bedoya et al. (2005), el cual tiene como tema "Producción de vino de naranja dulce (*Citrus sinensis* Osbeck) por fermentación inducida comparando dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae*". Implementaron un diseño completamente al azar con estructura factorial de 2x3, por lo que utilizaron tres

concentraciones iniciales de 16 °Brix, 29 °Brix y 25 °Brix en los tres mostos y dos cepas de levadura *Saccharomyces cerevisiae* las cuales fueron comercial Fleischman y CECT, y realizaron una evaluación fisicoquímica del proceso de fermentación en cuanto a la acidez, pH, alcohol, °Brix y azúcares reductores. Para la determinación de la influencia de estas dos cepas en la fermentación del mosto controlaron diariamente la producción de alcohol y consumo de sustrato por 12 días, midiendo °Brix, grado de alcohol y acidez en los tres mostos de diferente concentración de azúcar. Por último evaluaron el grado de satisfacción obteniendo una mayor aceptación en el tratamiento con cepa CECT a 25 °Brix. La levadura Fleischman tuvo una mejor aceptación cuando se expuso a 25 °Brix obteniendo una mejor concentración de alcohol (pp. 26-34).

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Cacao arriba (*Theobroma cacao L*)

La zona de siembra y cosecha del cacao ecuatoriano generalmente es de clima templado y la composición del suelo debe tener nutrientes y materia orgánica para generar frutos de excelente calidad. Según Quingaísa y Riveros (2007), el 90 % de siembra de cacao en el Ecuador pertenece a la variedad cacao arriba, obteniendo un 60 % a escala mundial. Este tipo de cacao es considerado como único en el mundo al tener características sensoriales especiales como sabores y aromas florales.

En la tabla 1 se observa que la cascara y mazorca constituyen la mayor parte de la fruta. Aunque la almendra de cacao tiene un contenido bajo por cada kilogramo.

Tabla 1. Pesos promedio de las partes del cacao arriba

Parte constitutiva	Peso Promedio (kg)	Porcentaje (%)
Mazorca	1,06	100
Almendra mucilaginoso	0,22	20,75
Placenta	0,04	3,78
Cáscara	0,80	75,47

Fuente: (Alava, 2020)

En la tabla 2 se muestra la composición del cacao sin tostar, la cual contiene en su mayoría materia grasa, esta generalmente es extraída por medio del tostado para

la elaboración de licor de cacao por lo que se genera una disminución de la cantidad de agua, albúmina, alcaloides (teobromina), entre otros. Según Vázquez et al. (2016), establecieron que “El contenido de los alcaloides durante las fases del procesamiento primario se ve disminuido, dando a los productos tostados el balance adecuado de amargor deseable en cacaos finos”.

Tabla 2. Composición del cacao sin tostar

Componente	Cantidad (g/100g)
Materia grasa	48 - 50
Albúmina	20 - 21
Teobromina	2 - 4
Almidón	10 - 1
Celulosa	3 - 4
Minerales	3 - 4
Agua	10 - 12

Fuente: (Chóez, 2017)

2.2.2. Variedades del cacao arriba (*Theobroma cacao. L*)

2.2.2.1. Trinitario

Quingaísa y Riveros (2007) establecieron que la variedad trinitaria es una mezcla entre criollo y forastero, tiene un perfil de cata con sabores frutales muy concentrados semejantes a manzanas o heno, en su cultivo tienden a ser más resistentes y productivos que el cacao criollo, aunque su calidad sensorial es inferior.

2.2.2.2. Criollo

Esta variedad es considerada de buena calidad a nivel mundial, aunque tiene susceptibilidad a enfermedades al momento de la siembra hace que su producción general sea considerablemente baja. “Existe una alta demanda de esta variedad de cacao en las empresas que elaboran chocolates finos, pues su perfil de cata describe aromas sutiles con sabores ácidos y frutales semejantes a los cítricos, aunque posee un amargor delicado”. (Quingaísa y Riveros, 2007)

2.2.2.3. Forastero

Quingaísa y Riveros (2007) definieron a esta variedad con un perfil de cata con sabores fuertes y amargos, alta astringencia con una ligera acidez, no contiene

aromas predominantes, por lo que los chocolates elaborados con este tipo de materia prima son considerados de baja calidad sensorial. Su producción es muy buena y es resistente a enfermedades.

2.2.2.4. Nacional

Para Quingaísa y Riveros (2007), la variedad nacional es única a nivel mundial, al tener un perfil sensorial reconocido por su aroma y sabor especial, estudios morfológicos han determinado que este tipo de cacao es diferente a las demás variedades ya mencionadas, ya que su existencia en Ecuador se data mucho antes de la conquista española.

2.2.3. Nibs de cacao

Son pequeños trozos de grano tostado que se obtienen a partir de la semilla del cacao. Se caracterizan por tener un sabor intenso a chocolate puro con notas ligeramente amargas. De acuerdo con Portillo et al. (2011) "El tostado conduce a la disminución de la humedad de los granos desde 7 % a 2,5 %, generando una eliminación parcial del ácido acético y el desarrollo de los compuestos aromáticos".

2.2.3.1. Compuestos volátiles de los nibs de cacao

Alvarado et al. (2014) establece que las diferencias de composición química entre las variedades de cacao arriba son influidas generalmente por el genotipo, variedad y tratamiento poscosecha.

Se debe tomar en cuenta que la calidad aromática del grano de cacao es influenciada por la etapa de fermentación y secado. Vázquez et al. (2016) menciona que el tostado confiere una mayor cuantificación de fracción volátil en cuanto a la cantidad de compuestos de la familia de los ésteres, aldehídos, pirazinas, alcoholes, cetonas y ácidos, como se observa en la tabla 3. Los ésteres y aldehídos aportan aromas florales en los nibs de cacao, en cuanto a las pirazinas proveen sabores afrutados.

Tabla 3. Distribución de compuestos volátiles en una muestra típica de cacao

Familias	Cacao fresco	Cacao tostado
Aldehídos	8	11
Alcoholes	15	13
Ácidos	14	12
Cetonas	9	13
Esteres	22	26
Hidrocarburos	3	3
Pirazinas	3	15
Misceláneos	3	3
Pirroles	1	4
Furanos	6	7
Azufres	1	2
Terpenos	3	3
Fenoles	4	6
Oxazoles	0	1
Total	92	119

Fuente: (Vázquez et al., 2016)

2.2.3.2. Proceso de obtención de nibs de grano de cacao

2.2.3.2.1. Fermentación

Una gran parte de productores de cacao ecuatoriano no realizan la fermentación del grano debido a la falta de información para contar con una metodología adecuada que tenga la finalidad de generar características de sabor y aroma que ayudarían a la mejora de la calidad de la clase de cacao. Según Erazo (2019), en esta etapa se descompone el embrión por la fermentación microbiana aerobia de levaduras que generan ácido acético por medio de la oxidación del alcohol producido en la fermentación anaerobia de los azúcares del mucilago que cubren los granos, por lo cual se obtendrán reacciones bioquímicas dentro de los cotiledones, reduciendo en cierto grado el sabor astringente y amargo de los granos de cacao.

Gaviria y Medina (2016) afirman que la fermentación del grano de cacao depende de la remoción, esta se debe hacer cada 24 horas para obtener una fermentación completa por medio de las levaduras propias del grano, se recomienda el uso de cajones de madera para evitar la contaminación con olores desagradables.

2.2.3.2.2. Secado

Como señalan Gaviria y Medina (2016), este proceso consiste en la exposición solar de los granos de cacao hasta obtener una reducción de humedad en un periodo de tiempo de siete a diez días, exponiendo los granos al sol por tres horas en la mañana y tres horas en la tarde en cuanto al primer día, para el segundo día solamente cuatro horas en la mañana y el resto de días se debe dejar en la intemperie para generar un secado adecuado. También se suele hacer uso de secadores a gas con temperaturas menores a los 60 °C. Después del secado se producen cambios en su estructura haciendo que este sea quebradizo y tenga aromas y sabores florales.

2.2.3.2.3. Selección de la materia prima

Gaviria y Medina (2016) recomiendan que el grano de cacao debe cumplir las siguientes características con la finalidad de asegurar su calidad por medio del control de las condiciones específicas del grano y su porcentaje de humedad, como se indica en tabla 4.

Tabla 4. Características del grano de cacao previo a su almacenamiento

Características	Porcentaje de humedad
Almendra de cacao fermentada y seca	7 % - 8%
Grano bien fermentado	Mínimo de 80 %
Granos regularmente fermentados	Máximo de 20 %
Granos pizarrosos o grano sin fermentado	Máximo de 1 %
Granos mohosos	Máximo de 0 %
Granos germinados e infestados por insectos	Máximo de 1 %.

Fuente: (Gaviria y Medina, 2016)

2.2.3.2.4. Almacenamiento

Para el correcto almacenamiento se debe clasificar los costales de granos de cacao por medio de lotes para la verificación por fecha o código de productor. Quingaísa y Riveros (2007) manifiestan que "esta etapa se la realiza de manera natural exponiendo los granos a temperaturas de almacenamiento favorables para este tipo de producto, las temperaturas deben ser inferiores a los 20 °C, donde su humedad relativa ideal debe ser menor al 70 %".

2.2.3.2.5. Limpieza

“Consiste en eliminar completamente los cuerpos extraños como: piedras, polvo, insectos, entre otros”. (Liendo, 2005). Por medio del tamizado se puede extraer los cuerpos extraños ya mencionados, aunque en esta operación es posible encontrar residuos que se pueden excluir de forma manual.

2.2.3.2.6. Descascarillado y tostado

Liendo (2005) afirma que “este proceso consiste en la extracción de la cascarilla (cubierta exterior de la semilla de cacao) por medio de la exposición a temperaturas de entre 130 y 140 °C por 20 minutos en una estufa de secado”. Por lo cual se obtendrá una reacción de Maillard al exponer el grano al proceso de tostado, generando la formación de compuestos aromáticos que favorecerán cualitativamente en sus propiedades aromáticas.

2.2.3.2.7. Triturado

Una vez que estén las semillas de cacao tostadas y limpias se procede a triturar mediante las fuerzas de fricción y compresión por medio de un molino de piedra o de discos, obteniendo un trozado de grano que cuente con un tamaño de partícula de cuatro a doce milímetros.

2.2.4. Níspero

Existen dos especies de níspero, y estas son:

- Níspero Europeo (*Mespilus germánica*): Es un fruto del árbol procedente de la familia de las Rosáceas. La productividad es de gran abundancia en cada árbol entre los meses de octubre a noviembre en climas cálidos costeros (Gisbert et al., 2015). Se caracteriza por tener una coloración marrón oscura en su cáscara y pulpa marrón clara como se aprecia en la figura 1, a su vez se caracteriza por tener un sabor dulce, no muy agradable cuando se encuentra en un estado de maduración de consumo.



Figura 1. Níspero europeo (*Mespilus germánica*)

Fuente: Ruiz de Angulo (2014)

En la composición química de la especie europea tiene un mayor contenido de agua, grasa y minerales a comparación del níspero japonés, como se observa en la tabla 5.

Tabla 5. Composición química del níspero europeo (*Mespilus germánica*)

Composición	Cantidad
Agua	74,5 g
Proteínas	0,57 g
Fibra	2,22 g
Hidratos de carbono	10,6 g
Vitamina A	14 UI por 100 g
Vitamina B2	0,05 mg
Vitamina C	2 mg
Calcio	30 mg
Fósforo	28,48 mg
Potasio	38 mg
Magnesio	11 mg
Grasa	8 g
Cenizas	0,9 g

Fuente: (Luck., 2000 como se citó en Torres L., 2019)

- Níspero Japonés (*Eriobotrya japónica*): Es un fruto de árbol perteneciente a la familia de las Rosáceas, se caracteriza por tener un color amarillo o anaranjado en la cascara y pulpa, como se muestra en la figura 2. La pulpa es de sabor dulce y con una ligera acidez. Se cultiva todos los meses del año, considerando que su producción es alta en los meses de febrero a octubre y tiene una baja producción de noviembre a enero (Galarza y Aguilar, 2010).

Esta fruta se considera climatérica al aumentar su velocidad respiratoria en cuanto a los cambios de maduración, produciendo una liberación de CO₂.



Figura 2. Níspero (*Eriobotrya japonica*)

Fuente: (Martínez et al., 2000)

La composición química de la especie japónica de la tabla 6, demuestra que tiene una mayor cantidad de hidratos de carbono y vitaminas a comparación de la especie europea. A su vez se evidencia que tiene un contenido mínimo de grasa.

Tabla 6. Composición química del níspero (*Eriobotrya japonica*)

Composición	Cantidad
Agua	68 g
Proteínas	0,5 g
Fibra	2,62 g
Lípidos	0,4 g
Hidratos de carbono	18 g
Vitamina A	270 UI por 100 g
Vitamina B1	0,4 mg
Vitamina B2	0,5 mg
Vitamina C	10 mg
Potasio	210 mg
Grasa	0,29 g
Cenizas	2,54 g

Fuente: (Galarza y Aguilar, 2010)

Galarza y Aguilar (2010) consideran a esta fruta como semiácida al tener un índice de pH de 4.5 a 5, al no estar en un estado de maduración completa. Si alcanza una mayor maduración se tiene un sabor dulce y agradable, con un valor de 8 a 17 de sólidos solubles y 25 % de carbohidratos según su peso en estado fresco.

2.2.4.1. Variedades de níspero de la especie (*Eriobotrya japonica*)

Martínez et al. (2000) clasifican las variedades de níspero según sus características físicas y químicas en su estado de madurez de consumo, como se indica a continuación:

- Moggi: Es un fruto de piel y pulpa de una coloración amarilla clara, con una forma ovalada. Presenta un valor de 12,10 °Brix y una acidez de 10,32 g/l ácido málico.
- Magdal: Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo- anaranjado, con una forma ovalada- alargada. Presenta un valor de 10,6 °Brix y una acidez de 12,28 g/l ácido málico.
- Cardona: Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo- anaranjado, con una forma redondeada- alargada. Presenta un valor de 11,73 °Brix y una acidez de 13,90 g/l ácido málico.
- Saval temprano: Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalado – alargado. Presenta un valor de 11, 40 °Brix y una acidez de 11,35 g/l ácido málico.
- Saval moreno: Es un fruto de pulpa de coloración amarillenta clara y piel amarillo - anaranjado, de forma ovalada. Presenta un valor de 10,25 °Brix y una acidez de 10,11 g /l ácido málico.
- Magdal Carne blanca: Es un fruto de pulpa de coloración blanca y de piel amarillo- anaranjado, de forma ovalado. Presenta un valor de 10,15° Brix y una acidez de 7,17 g / l ácido málico.
- Saval-1: Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma redondeada. Presenta un valor de 9,50 °Brix y una acidez de 5,44 g /l ácido málico.
- Italiano-1: Es un fruto de piel y pulpa de coloración naranja, de forma achatada. Presenta un valor de 12,10 °Brix y una acidez de 7,77 g/l ácido málico.
- Saval nerviado: Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo- anaranjado con una forma redondeada- alargada. Presenta un valor de 11,66 °Brix y una acidez de 12,12 g /l ácido málico.

- **Algerie:** Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo- anaranjado, de forma redondeada- alargada. Presenta un valor de 10,86 °Brix y una acidez de 13,35 g /l ácido málico.
- **Ismael:** Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalado. Presenta un valor de 8,20 °Brix y una acidez de 12,33 g /l ácido málico.
- **Golden Nugget:** Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalado. Presenta un valor de 10,96 °Brix y una acidez de 3,95 g /l ácido málico.
- **Buenet:** Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma redondeada- alargada. Presenta un valor de 11,03 °Brix y una acidez de 15,64 g/l ácido málico.
- **Bétera-1:** Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalada. Presenta un valor de 9,70 °Brix y una acidez de 9,38 g/ l ácido málico.
- **Crisanto Amadeo:** Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma redondeada- alargada. Presenta un valor de 11,10 °Brix y una acidez de 5,09 g/l ácido málico.
- **Saval-2:** Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma redondeada. Presenta un valor de 9,9 °Brix y una acidez de 5,85 g/l ácido málico.
- **Borde:** Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalada. Presenta un valor de 12,8 °Brix y una acidez de 13,47 g/l ácido málico.
- **Marc:** Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalada-alargada. Presenta un valor de 11,20 °Brix y una acidez de 7,81 g/l ácido málico.
- **Vertichiara:** Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalada. Presenta un valor de 10,30 °Brix y una acidez de 15,54 g/l ácido málico.
- **Peluche:** Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalada-alargada. Presenta un valor de 11,63 °Brix y una acidez de 6,07 g/l ácido málico.

- Ullera: Es un fruto de piel de coloración amarillo – anaranjado y pulpa color naranja, con una forma ovalada-alargada. Presenta un valor de 10,96 °Brix y una acidez de 6,83 g/l ácido málico.
- Algerie: Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma redondeada-alargada. Presenta un valor de 10,36 °Brix y una acidez de 11,75 g/l ácido málico.
- Moggi Wasse: Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalada-alargada. Presenta un valor de 10,85 °Brix y una acidez de 8,17 g/l ácido málico.
- M.Aixara: Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalada. Presenta un valor de 13,50 °Brix y una acidez de 10,05 g/l ácido málico.
- Javierín: Es un fruto de piel de coloración amarillo – anaranjado y pulpa color naranja, con una forma ovalada. Presenta un valor de 13,50 °Brix y una acidez de 7,02 g/l ácido málico.
- Bianco: Es un fruto de piel de coloración amarillo y pulpa color blanco, con una forma redondeada-alargada. Presenta un valor de 12,8 °Brix y una acidez de 10,60 g/l ácido málico.
- Orlanza: Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma redondeada. Presenta un valor de 11 °Brix y una acidez de 16,01 g/l ácido málico.
- Dulce Pera: Es un fruto de piel de coloración amarillo y pulpa color blanco, con una forma ovalada-alargada. Presenta un valor de 13,50 °Brix y una acidez de 7,02 g/l ácido málico.
- J Saval (Brasil): Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma redondeada. Presenta un valor de 11 °Brix y una acidez de 16,01 g/l ácido málico.
- Ottaviani: Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalada. Presenta un valor de 10,30 °Brix y una acidez de 15,54 g/l ácido málico.
- Tanaka: Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalada. Presenta un valor de 8,26 °Brix y una acidez de 10,90 g/l ácido málico.

- San Filipparo: Es un fruto de piel y pulpa de coloración amarillo – anaranjado, con una forma ovalada-alargada. Presenta un valor de 11,3 °Brix y una acidez de 17,24 g/l ácido málico. (p.30-97)

2.2.5. Etapas de maduración del fruto

En la figura 3 se observa el sistema progresivo que tienen las etapas de maduración de los frutos.

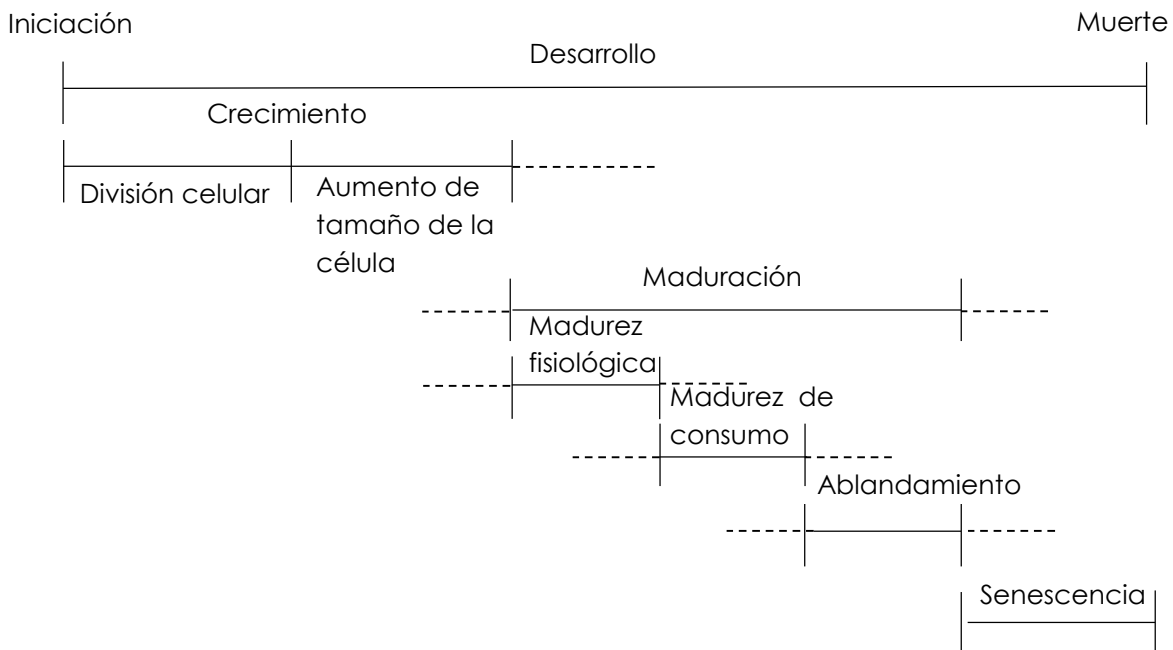


Figura 3. Etapas entre la formación del fruto y la senescencia

Fuente: (Watada et al., 1984)

2.2.5.1. Crecimiento

La producción de hormonas como el etileno controlan el crecimiento y desarrollo del fruto. En el momento en que el fruto entra en la etapa de crecimiento ocurre un aumento de tamaño de la célula al aparecer las vacuolas. Esta etapa se caracteriza por el aumento de volumen del fruto, madurando aún adherido a la planta. (Dos Santos et al., 2015)

2.2.5.2. Maduración

En la maduración se genera una modificación de la textura debido a enzimas como la celulosa y poligalacturonasa. Para distinguir la maduración de un fruto se debe tomar en cuenta lo siguiente: floración, tamaño, peso, densidad, dureza, color de

la piel, pulpa y semillas. Se recomienda la determinación de los índices químicos de madurez, midiendo el contenido de acidez y azúcares. (Romojaro, 2006)

2.2.5.1.1. Tipos de madurez

Se debe distinguir los estados de madurez de la fruta para establecer si se encuentra en condiciones para ser comercializada y considerarla apta para el consumo humano. Dos Santos et al. (2015) dividen a la maduración de la fruta en tres etapas, las cuales son:

- La madurez fisiológica se identifica cuando el fruto alcanza su máximo tamaño y mayor vigor de las semillas. Esta etapa ocurre antes del desarrollo completo del fruto, donde después de su cosecha tiene que sobrevivir con sus propios sustratos acumulados.
- La madurez hortícola o de cosecha presenta cualidades cuantitativas y cualitativas para su correspondiente comercialización, generalmente se identifica este estado como madurez fisiológica en varios frutos, pero se denota fácilmente en hortalizas de hoja, inflorescencia o desarrollo parcial del fruto.
- En la madurez de consumo se produce una modificación de la tonalidad del fruto por medio de la alteración en el contenido de clorofilas, carotenoides (licopeno, β -caroteno y xantofilas) y la acumulación de flavonoides, realizando una modificación de azúcares, ácidos orgánicos y compuestos volátiles que afectan la calidad nutricional, el sabor y aroma del fruto. El fruto adquiere su máximo potencial sensorial en cuanto a las características de aroma, sabor y color, por lo cual se vuelve comestible. Las actividades bioquímicas y fisiológicas causan el ablandamiento de su textura, cambios en la firmeza y velocidad de respiración. El ablandamiento se genera cuando, un rango de enzimas y proteínas modifican la pared celular, tales como la poligalacturonasa. (78-88)

2.2.5.2. Senescencia

Dos Santos et al. (2015) establecen que en la etapa de senescencia se deteriora la membrana, generando la muerte celular. Por lo cual, la síntesis de carbohidratos finaliza y es reemplazada por la degradación de las proteínas, clorofilas, lípidos y

ácidos nucleicos, que requieren la síntesis de enzimas hidrolíticas, carotenoides y compuestos antioxidantes.

2.2.6. Requerimientos de calidad en el índice de madurez del níspero

Según Cantwell y Suslow (2002) para la determinación del índice de madurez del níspero se toma en cuenta la coloración de la piel. En la figura 4 se identifica que en los tres primeros estados de maduración el níspero tiene una coloración verde o semi-amarilla por lo que se considera que el fruto se encuentra en una madurez de cosecha, si el fruto tiene una coloración amarillo o anaranjado como se aprecia en los tres últimos estados de maduración, se considera como madurez de consumo.

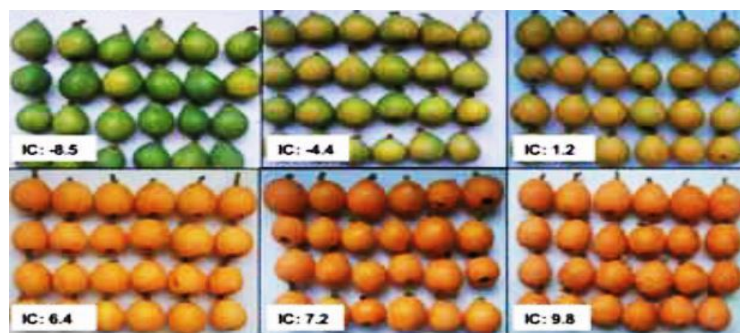


Figura 4. Los 6 estados de madurez del níspero e índices de color

Fuente: (Gil, Navarro y Besada, 2016)

Cantwell y Suslow (2002) recomiendan evaluar las siguientes características en el níspero japonés con la finalidad de tener un mayor grado de aceptabilidad por parte de los consumidores:

- Tamaño de la fruta.
- Uniformidad e intensidad de color amarillo a anaranjado.
- Firmeza y ausencia de defectos y pudriciones.
- Los nísperos completamente maduros son susceptibles a daño físico, por lo que se requiere un manejo cuidadoso.
- El potencial de almacenamiento es de dos a cuatro semanas dependiendo del cultivar y estado de madurez.
- Sólidos solubles mayores a 10 °Brix.
- Acidez total de entre 7,4 a 12 g/L de ácido málico. (p.3-4)

2.2.7. Vino de frutas

Según NTE INEN 371 (1987) “El vino de frutas es un tipo de bebida obtenida a partir de la fermentación alcohólica completa, parcial o del jugo concentrado de frutas”, por lo cual existen variedades de vinos que se distinguen por su tipo de elaboración y uso de distintas materias primas, como se menciona en la tabla 7.

Tabla 7. Clasificación de vino de frutas

Clasificación	Definición
Color	Para generar su característica coloración, el vino blanco debe ser procedente de una fermentación de mosto de uvas blancas sin orujos.
	El vino tinto proviene de la fermentación de un mosto de uvas tintas y blancas con orujos.
	Para la obtención de un vino rosa se tiene que mezclar uvas tintas y blancas eliminando los orujos de la fermentación del mosto.
Contenido de azúcar	El vino seco se caracteriza por contener un máximo de 5 gramos de azúcar por litro.
	El vino semiseco está constituido por 5 a 30 gramos de azúcar por litro.
	El vino dulce generalmente tienen un grado alcohólico alto con 30 a 160 gramos de azúcar por litro.
Grado alcohólico	El vino de mesa contiene un grado alcohólico menor a los 12 °GL.
	El vino licoroso está constituido por un grado alcohólico de 12 a 15 °GL.
	El vino extra licoroso se caracteriza por tener un grado alcohólico de 15 a 23 ° GL
	El vino compuesto de frutas está conformado por un valor mínimo de 75% (v/v) de vino, con o sin la adición de alcohol vínico o alcohol etílico rectificado
Vinos especiales	El vino espumoso es aquel que contiene anhídrido carbónico generado por una segunda fermentación alcohólica.
	El vino gasificado contiene anhídrido carbónico puro después de su elaboración.
	La sidra es una bebida alcohólica elaborada con zumo de manzana, esta puede presentarse con gasificación.
	El vino regional se destaca por el uso de variedades de uva para su fermentación alcohólica.
	El vino aromatizado está compuesto por un vino base y sustancias vegetales aromáticas, amargas o estimulantes y de sus extractos o esencias, con adición o no de mosto, mistela, vino licoroso y alcohol vínico.
	El aperitivo vínico está compuesto por sustancias vegetales que permiten estimular la apetencia.
El biter-vino es un aperitivo vínico compuesto por su sabor y aroma característico de vegetales como la genciana.	

Fuente: (NTE INEN 371, 1987)

2.2.7.1. Requisitos del vino

Según la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 374 (1987), se debe cumplir con los límites de las características fisicoquímicas presentes en los vinos de frutas como se muestra a continuación en la Tabla 8.

Tabla 8. Requisitos fisicoquímicos para vinos de frutas

Requisitos	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Grado alcohólico 20 °C	° GL	6	-	NTE INEN 360
Acidez volátil, como ácido acético	g/L	-	1,5	INEN 341
Acidez total, como ácido tartárico	g/L	3,5	-	INEN 341
Anhídrido sulfuroso total	mg/L	-	400,0	NTE INEN 356
Metanol	mg/L		1000,0	NTE INEN 347
Contenido de azúcares				OIV-MA-AS311-01A
- Vino seco	g/ L		25,0	
- Vino semidulce			50,0	
- Vino dulce		25,1		
		50,1		

Fuente: (INEN 374, 1987)

2.2.7.2. Elaboración del vino

Ramos (2008) describe a la vinificación como un proceso de fermentación discontinua tipo batch. El mosto esta conformado por azúcares, ácidos orgánicos, compuestos nitrogenados, polifenoles, sales minerales y lípidos. El componente que predomina en el mosto es el azúcar, con una concentración total de entre 170 y 220 g/l, aunque en mostos con más de 200 g/l se observa una ralentización, con una inhibición del crecimiento cuando se tiene una concentración por encima de los 250 g/l. El ácido tartárico y málico predominan en el mosto, representando un 90 % de la acidez fija.

2.2.7.3. Mosto

De acuerdo con Bastidas (2011), para preparar la pulpa se debe verificar que la fruta esté madura o sobre madurada sin daños físicos, químicos o biológicos. Se realiza un pelado de la cáscara y se eliminan las semillas, con la finalidad de obtener

un mosto más estable, después se tiene que cortar en trozos la fruta para adicionar agua en la proporción de un litro por cada litro de pulpa, agregando una solución de bisulfuro de sodio al 0,1 % por litro de agua.

“La presencia de vitaminas como el inositol, tiamina y biotina en el mosto generalmente produce una fermentación adecuada, aunque en algunos casos cuando los mostos se encuentran muy sulfitados, se producen paradas fermentativas debido a la deficiencia en tiamina”. (Castino, 1994). Por lo que se requiere dosificar los sulfitos según las normativas establecidas y controlar los parámetros ambientales de los mostos.

2.2.7.4. Macerado

Bastidas (2011) describe a la maceración como un proceso que permite la obtención de sabores y aromas procedentes de vegetales, frutas y plantas medicinales. Se utilizan recipientes de madera para obtener mejores sabores donde el tiempo de macerado depende de la materia prima a macerar y de las partículas extraídas, las cuales pueden quedarse en suspensión con el disolvente después de pasar el tiempo necesario se debe filtrar la preparación para obtener solo el líquido. La maceración permite obtener una transferencia del volumen del disolvente hacia la superficie de la matriz sólida y después el disolvente penetra el sólido, ocasionando así, la migración de los solutos que se encuentran en la superficie de la fase sólida hacia la fase líquida generando un equilibrio en el medio como se observa en la figura 5.

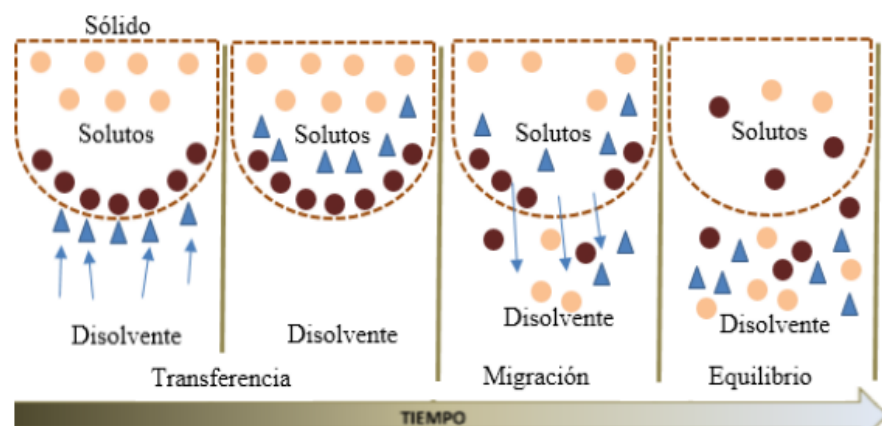


Figura 5. Transferencia de disolvente al sólido y extracción del soluto

Fuente: (Bastidas, 2011)

2.2.7.4.1. Tipos de macerado

- Maceración en frío: Como plantean Catania y Avagnina (2007), al exponer los sólidos a una temperatura que puede variar de 5 a 10 °C se obtiene un aumento de la extracción e hidrólisis de los precursores de aroma como los compuestos fenólicos. En vinos se recomienda el uso de maceración en frío debido a que se evitarían procesos de fermentación.
- Maceración en calor: Catania y Avagnina (2007) describen que "Consiste en calentar al vino a temperaturas cercanas a los 40 o 50 °C, al finalizar la fermentación alcohólica y antes que comience la fermentación malo láctica, enfriando luego a 18 °C o a la temperatura ambiente". Este proceso destruye la pared celular provocando una rápida extracción de los solutos y posiblemente una destrucción de enzimas, por lo que no suele ser muy recomendado debido a que se produce una liberación de aromas intensos no agradables al gusto.

2.2.7.5. Inoculación y fermentación

Naranjo (2019) argumenta que previo a la fermentación se emplea nutrientes con la finalidad de obtener un aumento de producción de etileno. Para la incorporación de la levadura se debe activar usando un recipiente de plástico, colocando agua hervida a una temperatura de 35 °C, media taza de mosto, cuatro cucharadas de azúcar y un gramo de levadura por litro de mosto. Después se dejará mezclar bien y se cubrirá para dejar en reposo por 20 minutos donde la presencia de espuma indicará que la levadura ya está activada, y será agregada al mosto mezclando lentamente, dejando en reposo por 20 días. El envase que contendrá al mosto debe tener un agujero en el centro donde pasa una manguera que va desde la superficie del mosto hasta una botella de agua. Ciertas bebidas alcohólicas son el resultado de la fermentación producida por levaduras de la especie *Saccharomyces cerevisiae*, al alimentarse de los carbohidratos como los azúcares, transformándolos en etanol y gas carbónico por medio de una reacción exotérmica.

Ramos (2008) considera a las levaduras vínicas como variedades específicas de cepas de *Saccharomyces* que permiten obtener una fermentación completa del mosto de uva o de otros sustratos, produciendo etileno con aromas y gustos agradables. *S. cerevisiae* es un organismo anaerobio facultativo, capaz de producir

un metabolismo oxidativo cuando se exponen a la presencia de oxígeno y desarrollan un metabolismo fermentativo en ausencia de oxígeno. Estas levaduras presentan el fenómeno de represión catabólica que suele ser influenciada por la presencia de glucosa o fructuosa que reprimen los genes necesarios para la respiración.

Cuando se inocula con 10^6 células/ml, la fermentación se genera rápidamente, donde *S. cerevisiae* tiene un ciclo típico que consiste en tres etapas. La primera es la fase de crecimiento limitada que dura entre dos a cinco días, produciendo un aumento de la población de 10^7 a 10^8 células / ml, después se llega a una fase cuasi-estacionaria que dura 8 días aunque las células siguen metabólicamente activas con una velocidad de fermentación constante y finalmente se llega a una fase de muerte donde el número de células viables decrece, ocasionando una autodegradación enzimática de los constituyentes celulares, a este proceso se le conoce como autólisis. La fermentación se considera completa cuando *S. cerevisiae* produce de 8 a 15 % (v/v) de etanol y otros compuestos como el glicerol de 6 a 8 g/l, ácidos orgánicos (acetato, succinato y piruvato), alcoholes superiores y ésteres.

Tipos de Cepas de *S. cerevisiae*

- Cepas haploides de laboratorio.
- Cepas diploides de laboratorio.
- Cepas vínicas.

2.2.7.5.1. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Safoeno CK S102)

Esta levadura vínica está especializada para destacar el perfil aromático de vinos blancos en mostos que presenten condiciones difíciles de vinificación. Según Fermentis (2015), esta levadura tiene un agente emulsionante E491 (monoesterato de sorbitán), sus características fermentativas son:

- Fermentación rápida en 10 días a 5 °C como temperatura óptima para lograr una fase de latencia corta, aunque produce una fermentación a partir de los 8 °C.
- Tiene una excelente fuerza de implantación en el mosto debido a su fenotipo Killer.

- Tiene una alta demanda de nitrógeno, por lo que requiere de dos aportes de nitrógeno, uno de 20 g/ hl de DAP y otro de 20 g/hl de Springferm™ previo a la inoculación, aunque preferencialmente se opte agregar 20 g/hl de DAP o Springferm™ entre el primer tercio y la mitad de la fermentación para evitar desviaciones sensoriales.
- En cuanto al rendimiento de azúcar y alcohol, se puede obtener como valor máximo 16,3 g/l por grado alcohólico (vol/vol).
- Produce una elevada cantidad de ésteres y una baja cantidad de acidez volátil generalmente inferior a los 0,24 g/l.
- Las temperaturas de fermentación influyen en los aromas finales del vino, por lo tanto, cuando se exponen a temperaturas de entre 10 y 12 °C se producen aromas a frutas tropicales, en temperaturas de entre 16 y 18 °C se producen aromas cítricos. (p.1-2)

2.2.7.5.2. Levadura *Saccharomyces bayanus* (Safoeno BC S103)

Esta levadura vínica se caracteriza por presentar excelentes propiedades fermentativas y buena resistencia en condiciones de vinificación extremas, en todo tipo de mostos como aquellos que pueden presentar un alto contenido alcohólico o SO₂, demasiado clarificados, etc. Fermentis (2015) establece que esta levadura tiene un agente emulsionante E491 (monoesterato de sorbitán), sus características fermentativas son:

- Tiene un amplio rango de temperatura de fermentación de entre 10 °C a 35 °C con una buena asimilación de carbohidratos como la fructosa.
- Tiene bajos requerimientos de nitrógeno.
- Cuando se tiene un buen rendimiento entre azúcar y alcohol se puede llegar a obtener 16, 2 g/l por grado alcohólico (vol/vol).
- Tiene una baja producción de espuma, alcoholes superiores, acidez volátil y no produce compuestos azufrados. (p.1-2)

2.2.7.6. Trasiego y sulfitado

Pszczólkowski (2014) recomienda que después de fermentar se procede a realizar el descube con el fin de separar el vino de fruta de los sólidos precipitados que se encuentran en el fondo del recipiente. Se prepara otro recipiente esterilizado y sobre este se debe colocar un lienzo para filtrar y retirar las partículas que se encuentren

en suspensión sin apoyar la manguera en el fondo, el sobrante se puede utilizar para la elaboración de vinagre. El vino sin residuos se devuelve al envase original y se deja en reposo por un tiempo para ejecutar el primer trasiego que consiste en pasar el líquido de consistencia turbia a través de un filtro de algodón a otro recipiente limpio, y luego se agrega bentonita al 0,1 % para clarificar. Se deja en reposo por un mes y después de este tiempo se efectúa un segundo trasiego evaluando su consistencia, si aún tiene turbidez se deberá clarificar nuevamente.

2.2.7.7. Clarificación

El proceso de clarificación tiene como objetivo aumentar la brillantez de los vinos por lo cual existen varios métodos como se aprecia en la tabla 9.

Tabla 9. Métodos para clarificación de vinos de frutas

Métodos	Tipos	Principio	
Físicos	Centrifugación	La centrifugación es un proceso que permite acelerar la decantación del sedimento al rotar a altas velocidades en un eje. Se realiza generalmente a una velocidad de 3000 rpm por 5 minutos, este proceso se lo realiza en vinos muy turbios.	
	Filtración	La filtración consiste en separar un sólido en suspensión de un líquido por medio de un filtro de capa porosa que impida el paso a partículas sólidas.	
Uso de sustancias clarificadoras	Clarificantes minerales	Tierras	Para implementar este método se debe utilizar agua para someter a una maceración de 12 horas, se decantará el agua para luego utilizar la papilla restante en el vino en dosis de 200 a 300 gramos por hectolitro de vino.
		Clarificantes	
		Bentonitas	Las bentonitas de buena calidad tienen una capacidad de absorción de 10 a 12 veces su peso en agua. Para agregar bentonitas en el vino primeramente se debe esparcir suavemente sobre un tamiz y agitar para disolver este agente. Las dosis recomendadas de bentonita suelen ser menores a los 100 gramos por hectolitro de vino.
		Tierras activadas	Con este agente se eliminará materias proteicas y hierro en vinos, donde se deberá utilizar una dosis de 1 a 10 gramos por litro complementando con una filtración.

Clarificantes orgánicos	Albúmina de sangre	de	Al emplear sangre fresca se deberá solo emplear el suero por su alto contenido de albúmina excluyendo por completo el líquido amarillo, para luego ser agregado al vino en una cantidad menor a los 10 gramos por hectolitro y finalmente se agita con una varita.
	Clara de huevo		Se utiliza generalmente en vino tinto y permite mejorar las características sensoriales del vino blanco. Al accionar el tanino y el alcohol se produce la clarificación del vino. Se recomienda utilizar 2 a 3 gramos por hectolitro en estado de punto de nieve.
	Caseína		Para implementar la caseína en el vino se debe verificar que esta sea purificada y seca para que se produzca una reacción de coagulación en el vino por la presencia de ácidos. Se recomienda usar 6 a 50 gramos por hectólitro.
	Osteocola o Gelatina	o	La coagulación se producirá por medio de la reacción entre la glutina de la gelatina y los taninos en el vino, Al incorporar la gelatina en el vino se producirán cambios en el pH, grado alcohólico, entre otros. Se recomienda incorporar una dosis de 8 a 14 gramos por hectólitro de vino, previamente se debe dejar remojar por un tiempo en agua para producir un hinchamiento.

Fuente: Mariño (1955). *Clarificación de vinos*. Ministerio de Agricultura, Publicaciones de Capacitación Agrícola.

2.2.7.8. Estabilización por frío y filtrado

Pszczólkowski (2014) define que "la estabilización por frío es un proceso que consiste en someter al vino a un previo enfriado para obtener un precipitado de sales propio de los ácidos presentes en las frutas". La finalidad del filtrado es la obtención de un vino limpio por medio de la eliminación total de los sedimentos generados en la clarificación.

2.2.8. Compuestos polifenólicos en vino

Los compuestos polifenólicos tienen un papel importante en la calidad del vino debido a que definen el color, astringencia y amargor. Estos compuestos son de gran interés en el ámbito nutricional y farmacológico.

2.2.8.1. Compuestos no flavonoides

Los compuestos no flavonoides provienen de la pulpa de las frutas, su concentración influye directamente con la calidad del vino. Fanzone (2012) menciona que estos compuestos se encuentran principalmente en los vinos blancos, donde el principal compuesto no flavonoide es el ácido hidroxicinámico y establece que los tipos de compuestos no flavonoides son:

- Ácidos fenoles: Permiten dar color a los vinos, pues tienen una gran capacidad oxidativa, estos suelen ser incoloros.
- Estilbenos: Se encuentran en una baja concentración en los vinos y se caracterizan por tener una alta capacidad antioxidante y antimicrobiana. (p.17-18)

2.2.8.2. Compuestos flavonoides

Los flavonoides se encuentran en mayor concentración en el epicarpio o cáscara de la fruta. Según Fanzone (2012) estos compuestos se caracterizan por presentar seis carbonos unidos por un heterociclo central de tres carbonos (C6-C3-C6). Existen tres tipos de compuestos flavonoides en el vino:

- Antocianos: Son aquellos que aportan colores rojos al vino de uvas tintas, se encuentran presentes en la piel de las frutas.
- Flavones: Son aquellos responsables del color amarillo en los vinos y tienen un efecto antioxidante. Los principales flavones en el vino encontrados son: la quercetina, miricetina y kaemferol.
- Taninos condensados: Presentan una base formada por (+) catequina y (-) epicatequina, proporcionando astringencia en el vino con una alta capacidad para mantener el color. Estos compuestos se encuentran generalmente en las semillas y piel de las frutas, presentando una relación inversa con la concentración de amargor y astringencia a medida que

aumenta el tamaño de (+) catequina y (-) epicatequina, disminuyendo el amargor en los taninos de mayor tamaño, pero aumentando su astringencia hasta dejar de ser solubles. (p.18-25)

2.2.9. Análisis sensorial de los vinos

El análisis sensorial forma parte de un conjunto de técnicas que permiten obtener resultados confiables en cuanto a las cualidades de un vino mediante los sentidos de la vista, olfato, gusto y tacto bucal. Rankine (2000) señala que para llevar a cabo la cata de los vinos, se debe tener una serie de condiciones, las cuales son:

- Debe estar en relajación.
- Debe tener conocimiento de lo que se va a realizar.
- Hacer un esquema mental de lo que debemos catar en el vino. (p.5-6)

Rankine (2000) afirma que en la industria del vino determinan la calidad final del producto por medio de enólogos expertos, debido a que sus decisiones dependen de la experiencia y de una serie de datos de tipo analítico, como la identificación de la composición química y propiedades físicas solo probando una pequeña muestra. (p.156-334)

2.2.9.1. Características sensoriales de los vinos

2.2.9.1.1. Color

El color en los vinos es una cualidad que se la puede percibir a primera vista, pueden variar sus matices según la adición de orujos y tipo de flavonoides (antiocinas y flavonoles) predominantes de la fruta en el mosto. Para Rankine (2000) algunos enólogos toman en cuenta que el análisis sensorial se debe llevar a cabo en condiciones lo más cercanas posibles a las instrumentales para obtener resultados cercanos a los recogidos en el laboratorio.

2.2.9.1.2. Sabor

El sabor contempla la impresión que se percibe a través del gusto y el olfato al dar un sorbo de vino. "En la determinación del sabor se debe probar con sorbos del mismo volumen cada vez, sin que la bebida alcohólica permanezca más de cinco

segundos en la boca, de preferencia se sugiere no ingerir para evitar falsas captaciones de sabor". (Rankine, 2000)

2.2.9.1.3. Aroma

Según Peynaud (1996) el aroma del vino está conformado por compuestos volátiles como alcoholes, esterres, aldehídos, cetonas e hidrocarburos, por lo cual estos aromas se clasifican en:

- Varietal: Conformado por sustancias químicas propias de la fruta y no de la fermentación de levaduras.
- Pre fermentativo: Son formados a partir de procesos bioquímicos de hidrólisis y oxidación durante las etapas de extracción y maceración.
- Fermentativo: Estos aromas son formados por la fermentación alcohólica de las levaduras, donde producirán alcoholes, ácidos, esterres, compuestos carbonilados y azufrados.
- Post fermentativo: Se producen aromas por medio de reacciones químicas y enzimáticas en la etapa de maduración del vino. (p. 50-65)

2.2.9.1.4. Acidez

Para Peynaud (1996) el nivel de acidez se usa como un indicador de la calidad en cuanto a una relación de picante en el gusto influida por la presencia de frutas ácidas, por lo que estas sensaciones generalmente son provocadas por los ácidos tartárico y málico del vino. Se considera que al obtener una acidez equilibrada es aceptable al gusto y mejora la dureza en los vinos blancos.

2.2.9.1.5. Amargor

El nivel de amargor depende de la concentración de taninos en el vino, su intensidad puede ser percibida como desagradable. Peynaud (1996) define que según el tipo de vino se puede apreciar si es aceptable percibir esta sensación de amargor, por lo que en vinos con características de dureza o los que se utilizan como aperitivo el amargor puede ser apreciado como aceptable.

2.2.9.1.6. Astringencia

Peynaud (1996) en su estudio describe a esta sensación como áspera y seca debido al alto contenido de taninos procedentes de las pieles y semillas que incrementan significativamente los compuestos fenólicos totales de la astringencia, algunas veces esta cualidad indica la longevidad del vino.

2.2.10. Balance de aroma en el vino

Existen sustancias fragantes que se enmascaran o neutralizan al mezclarse con un olor de mayor concentración. Goldner (2008) argumenta que los aromas tienen un sistema sinérgico donde el umbral de aroma puede ser bajo al detectar variaciones distintas de aromas particulares combinados. La identificación y combinación de olores pueden detectarse por separado si existe una combinación de olores similares en carácter, pero diferentes en intensidad. Dependiendo del grado de alcohol se puede producir un efecto intensificador de aromas, obteniendo así un balance entre aromas frutales y los aromas formados en la maceración.

2.2.11. Balance de gusto en el vino

Goldner (2008) menciona que la maceración en contacto con el epicarpio y endocarpio de la fruta, produce una migración de taninos que influirán directamente en la concentración de la astringencia y amargor.

En la figura 6 se representa el equilibrio de sabores, en donde se destaca que en la parte superior de la línea punteada se representan las características de un vino suave, al tener un nivel elevado de dulzor se produce una reducción de la cantidad de astringencia, amargor y acidez en el vino. Las características representadas en la parte inferior de la línea punteada son propias de un vino seco con una impresión de dureza al tener un alto nivel de amargor, acidez y astringencia con un bajo contenido de dulzor. También se observa que se puede llegar a un buen equilibrio si la astringencia es mayor y la acidez menor.

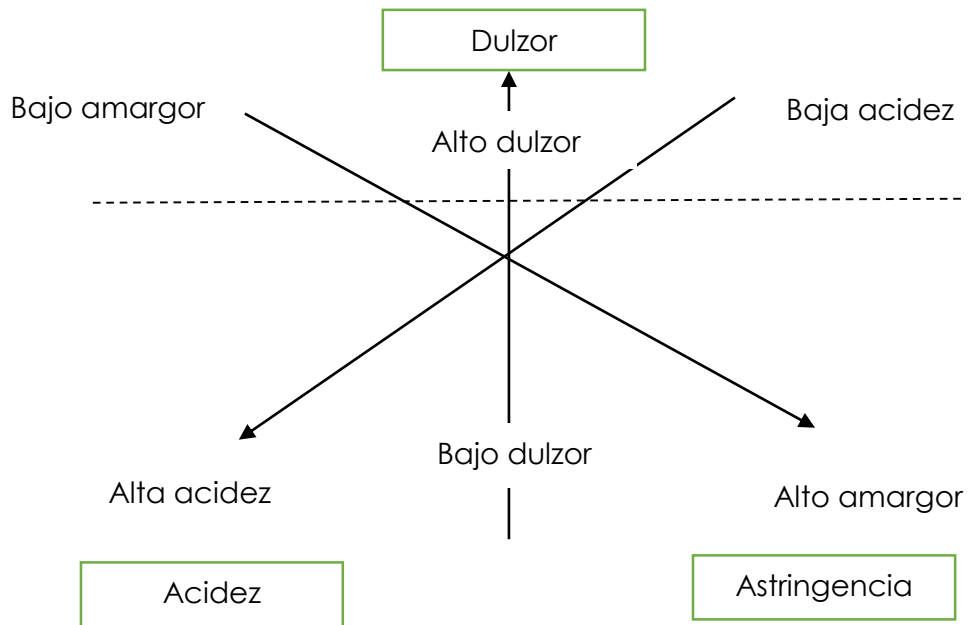


Figura 6. Balance tripartido en vinos

Fuente: Peynaud (1996)

III. METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

3.1.1. Enfoque

Esta investigación tiene un enfoque cuantitativo, debido a que se procedió a realizar un análisis de los valores en cuanto a las características fisicoquímicas y también se tuvo un enfoque cualitativo, ya que se evaluaron las características sensoriales de los vinos.

3.1.2. Tipo de investigación

- Investigación experimental: En la presente investigación se implementó un diseño experimental 2^2 , obteniendo 12 tratamientos como objeto de estudio, con la finalidad de evaluar la fermentación alcohólica del vino por medio de las variables dependientes, que son los análisis fisicoquímicos y sensoriales.

3.2. HIPÓTESIS

3.2.1. Hipótesis nula

H_0 : La variación de concentración de fruta y tipo de levadura no influirán en las características fisicoquímicas y sensoriales del vino.

3.2.2. Hipótesis alternativa

H_a : La variación de concentración de fruta y tipo de levadura influirán en las características fisicoquímicas y sensoriales del vino.

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

3.3.1. Definición de las variables

- Variable independiente: Concentración de fruta y tipo de levadura.
- Variable dependiente: Características sensoriales y fisicoquímicas.

3.3.1.1. Variable independiente

Concentración de fruta

- Níspero al 25 %
- Níspero al 30 %

Tipo de levadura

- Levadura *Saccharomyces bayanus* (Safoeno BC S103).
- Levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Safoeno CK S102).

3.3.1.2. Variable dependiente

- Análisis de las características fisicoquímicas de fermentación (grados brix, pH y acidez total).
- Análisis de las características sensorial (color, aroma, sabor, astringencia y amargor).
- Análisis fisicoquímico del mejor vino (grado alcohólico, acidez volátil, acidez total, anhídrido sulfuroso total, metanol y contenido de azúcares).

3.3.2. Operacionalización de las variables

Tabla 10. Variables independientes y dependientes

Tipo de variable	Dimensión	Indicadores	Técnicas	Instrumentos
Variable independiente				
Concentración de pulpa	Porcentaje	<ul style="list-style-type: none"> • 25% pulpa • 30 % pulpa 	Gravimetría	(AOAC 968.30, 2009) (Ocaña, 2012)
Tipos de levadura	Tipo	<ul style="list-style-type: none"> • <i>S. bayanus</i> (Safoeno BC S103) • <i>S. cerevisiae</i> (Safoeno CK S102) 	Descriptivo	Ficha Técnica
Variable dependiente				
Calidad del vino	Análisis de las características fisicoquímicas de fermentación	<ul style="list-style-type: none"> • Grados brix • pH • Temperatura • Acidez total 	Refractometría Conductimetría Termometría Método de titulación	(AOAC 932.14, 1932) (A.O.A.C 10.041/84, 2005) (NTE INEN 340, 2014) (A.O.A.C. 31.231/84, 942.15/90., 1998)
	Análisis de las características sensoriales	<ul style="list-style-type: none"> • Color • Aroma • Sabor • Astringencia • Amargor 	Prueba hedónica de aceptabilidad	(NTE INEN 350, 1978)
Fisicoquímico del mejor vino	Análisis Fisicoquímico del mejor vino	• Grado alcohólico	Método de alcoholímetro de vidrio	(NTE INEN 340, 2016)
		• Acidez volátil	Método volumétrico	(NTE INEN 341, 1978)
		• Acidez total	Método volumétrico	(NTE INEN 341, 1978)
		• Anhídrido sulfuroso total	Método de incineración de sólidos totales	(NTE INEN 356, 1978)
		• Metanol	Método de titulación	(NTE INEN 347, 2015)
• Contenido de azúcares	Método cromatográfico	(OIV-MA-AS311-03, 2016)		

En la tabla 10 se muestra la clasificación de las variables independientes y dependientes con sus respectivos elementos.

3.4. MÉTODOS UTILIZADOS

3.4.1. Método para la elaboración del vino

Ingredientes

- Níspero
- Nibs de cacao
- Agua
- Azúcar
- Metabisulfito potásico
- Gelatina sin sabor
- Sorbato de potasio
- Levadura *Saccharomyces bayanus* (Safoeno BC S103)
- Levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Safoeno CK S102)

Materiales

- Cuchillo
- Cocina industrial
- Ollas y jarras volumétricas
- Botellas plásticas o de vidrio
- Paletas para batido

Instrumentos

- Balanza
- Refractómetro
- Potenciómetro
- Termómetro

3.4.1.1. Métodos específicos de manejo del experimento

En la figura 7 se evidencia la secuencia del proceso para la obtención de un vino de níspero con nibs de cacao.

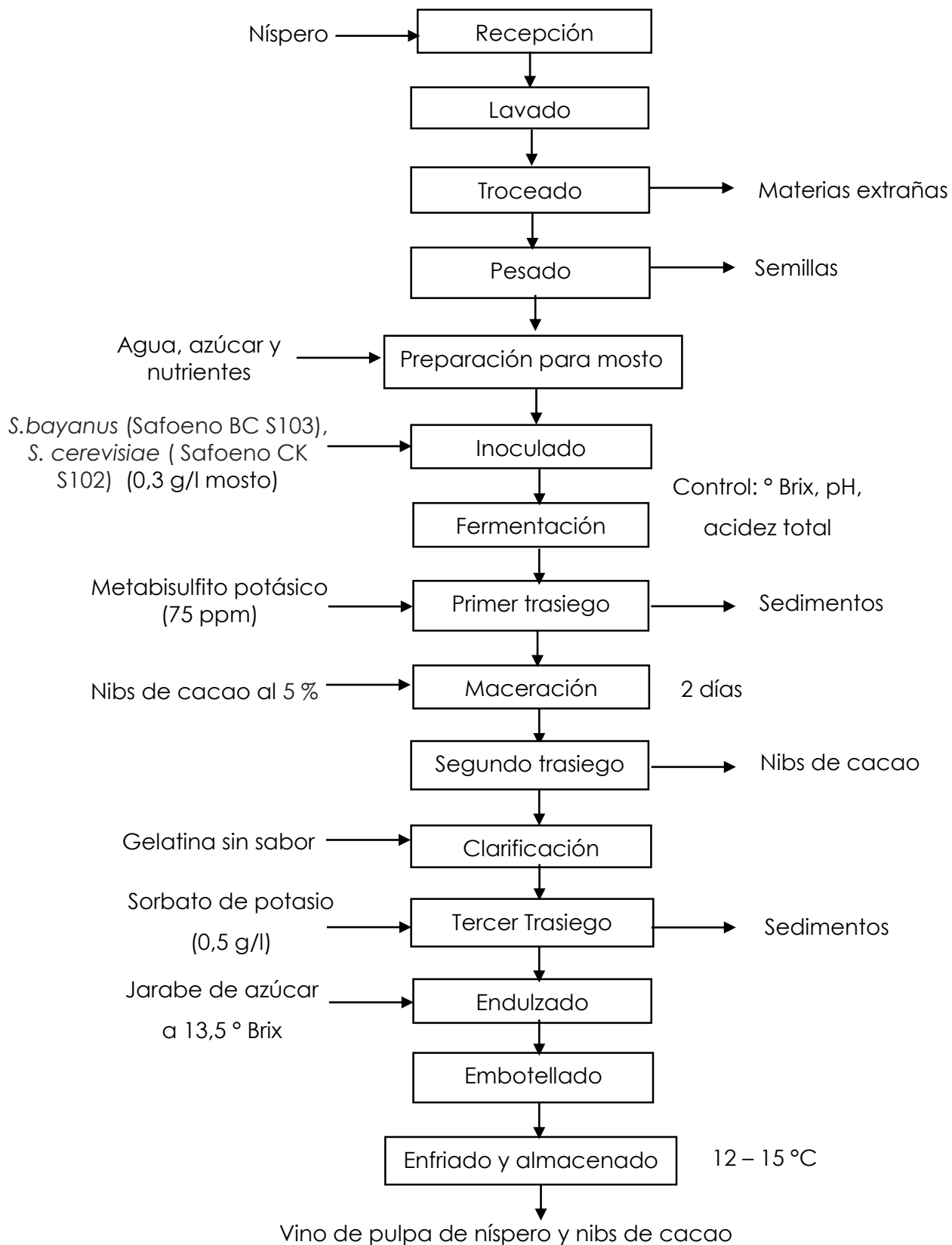


Figura 7. Diagrama de bloques con las corrientes de entrada y salida para la obtención del vino de nispero y nibs de cacao.

3.4.1.2. Descripción del proceso para la obtención del vino de pulpa de níspero y nibs de cacao

- Recepción: La selección del fruto se realizó según los parámetros de calidad como: grado de madurez y tamaño del fruto. Se eliminó aquellos que se encuentren verdes o en estado de putrefacción.
- Lavado: Se requirió un lavado para la eliminación de sustancias contaminantes por medio de agua clorada para sumergirlos y agitarlos simultáneamente. Luego se realizó una pasteurización a 60 °C por tres minutos para eliminar la carga microbiana y evitar cambios sensoriales en la fruta.
- Troceado: Se utilizó un cuchillo para cortar el fruto, empezando desde el pedúnculo hasta el ápice, eliminando todas las semillas.
- Pesado: Se pesó la cantidad de níspero y azúcar de acuerdo a las formulaciones planteadas por medio de una balanza electrónica.
- Preparación para mosto: Para la obtención del mosto primero se añadió la cantidad de agua y níspero según las formulaciones establecidas y se procedió a medir la cantidad de sólidos solubles para establecer la cantidad de azúcar a adicionar. Se ajustó la concentración de los mostos a 22°Brix, implementando azúcar de caña y se enriqueció los mostos con la adición de 100 ppm de fosfato de amonio.
- Inoculación: En esta etapa se adicionó las dos diferentes cepas de levadura de acuerdo a las formulaciones planteadas donde se empleó 0,3 gramos por litro de mosto, colocando en dos vasos de 250 ml, un volumen de agua 10 veces el peso de cada levadura en cada vaso a una temperatura de 30 °C, esparciendo suavemente las levaduras hasta formar una capa fina y homogénea dejando en reposo por 20 minutos y posteriormente se agregó mosto hasta duplicar el volumen contenido y se dejó en reposo por 10 minutos para agregar la mezcla en el reactor de fermentación que contiene el mosto. Finalmente, se agitó con el objetivo de obtener una aireación adecuada para la activación de las levaduras en todo el mosto.
- Fermentación: Para iniciar la fermentación se usó recipientes de plástico desechables en donde se realizó un orificio para la salida del CO₂ y toma de muestras para controlar grados brix, temperatura, pH y acidez total.

- Primer trasiego: Después de la fermentación, los mostos pasaron por un trasegado a otro recipiente por medio de una manguera esterilizada, en seguida se añadió 0,075 g/l de metabisulfuro potásico para evitar la oxidación y la proliferación de bacterias acéticas y lácticas.
- Maceración: Se agregó la cantidad formulada de nibs de cacao para su posterior reposo con la finalidad de desarrollar aromas y sabores agradables durante dos días al 5 %.
- Segundo trasiego: En esta operación se eliminaron los nibs de cacao y sedimentos con la finalidad de evitar una migración excesiva de taninos que pueden hacer que el vino tenga sabores desagradables.
- Clarificación: Se realizó una mezcla de gelatina sin sabor con agua, dejando en reposo por cinco horas para posteriormente exponer la mezcla a una temperatura de 40 °C, colocando en cada tratamiento según los litros contenidos para luego dejar en reposo por cuatro días.
- Tercer trasiego: Para la obtención de un vino limpio, se verificó que no existan partículas en suspensión y que todos los residuos se encuentren en la parte inferior del envase. Se agregó 0,5 g/L de sorbato de potasio como conservante.
- Endulzado: Se formuló un jarabe de azúcar para añadir en cada tratamiento.
- Embotellado: Para el respectivo envasado se utilizó envases de vidrio esterilizados para evitar alteraciones en su sabor y se selló para evitar contaminaciones.
- Enfriado y almacenado: El vino se almacenó a una temperatura ambiente de 15 a 18 °C.

3.4.2. Métodos de análisis de las características fisicoquímicas en la fermentación alcohólica

3.4.2.1. Grados brix

Para la determinación de grados brix en el mosto se implementó un refractómetro de escala de 0 a 32 %, extrayendo 5 ml de muestra de mosto. Se utilizó la metodología de la AOAC 932.14 (1932), la cual establece que los grados brix es el porcentaje de sólidos disueltos y menciona que se puede obtener el valor del grado alcohólico

probable por medio del refractómetro con el método de referencia con el siguiente cálculo:

$$^{\circ}\text{Brix } 20^{\circ}\text{C} = ^{\circ}\text{Brix } t + c$$

$$\text{Grado alcohólico probable, \% vol} = (0,6757 \times ^{\circ}\text{Brix}) - 2,0839$$

3.4.2.2. pH

Se registró el pH siguiendo la metodología A.O.A.C 10.041/84 (2005), por lo que se calibró previamente el potenciómetro con las soluciones patrón de pH 4, 7 y 10. Después se procedió a medir sumergiendo el electrodo en una muestra de mosto, realizando dos determinaciones en la misma muestra y obteniendo una media aritmética entre los dos valores. Se tuvo como referencia un pH de entre 2,8 y 3,8 dependiendo de la concentración de los ácidos tartárico y málico de la fruta.

3.4.2.3. Temperatura

La temperatura se midió por medio de un termómetro de alcohol para controlar la estabilidad de la fermentación alcohólica. Se usó la normativa INEN 340 (2014), en donde se implementó las tablas propuestas, tomando en cuenta la relación de la temperatura con la producción de alcohol etílico.

3.4.2.4. Acidez total

Es la suma de los ácidos valorables del vino y mosto cuando se lleva a un pH de 7,0 añadiendo una solución de hidróxido de sodio, aunque se recomienda un pH de 8,2 en lugar de 7,0 al ser una valoración de ácidos débiles con una base fuerte.

En la acidez total del mosto se utilizó la normativa A.O.A.C. 31.231/84, 942.15/90 (1998), por lo que se realizó la preparación de la solución de NaOH al 0,1 N, usando cuatro gramos de hidróxido de sodio en donde se disolvió con agua destilada hasta la marca de aforo del matraz de 1000 ml. Después se valoró el hidróxido de sodio por medio de la titulación de 10 ml de ácido clorhídrico con dos gotas de fenolftaleína y se utilizó la siguiente fórmula para la determinación de la concentración exacta de NaOH:

$$C_1 \cdot V_1 = C_2 \cdot V_2$$

En donde:

C₁= Normalidad de ácido clorhídrico

V₁= Volumen de ácido clorhídrico

C₂ (N)= Concentración de moles consumidos en la valoración

V₂= Volumen del gasto de hidróxido de sodio

Se procedió a poner la muestra de mosto en un vaso de precipitado de 100 ml con agua destilada y dos gotas de fenolftaleína al 1 % de pH de 8,1, y se agitó la mezcla para la titulación con NaOH hasta obtener una coloración rosácea pálida y finalmente se anotó el valor del gasto según el volumen del menisco tomando en cuenta si es cóncavo o convexo. La acidez total se calculó por medio de la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Acidez total} = \frac{V * N * F}{P}$$

En donde:

V= Volumen consumido de hidróxido de sodio (NaOH)

N= Concentración de moles consumidos en la valoración (normalidad)

F= Peso equivalente del ácido predominante en el mosto o vino (ácido tartárico =75, ácido málico = 67, ácido cítrico =64, ácido acético =41)

P= Volumen o peso de la muestra

3.4.3. Método para la evaluación sensorial

La evaluación sensorial se realizó en base a la normativa ecuatoriana NTE INEN 350 (1978), por lo cual se procedió a rotular las cuatro muestras con las codificaciones arbitrarias correspondientes a cada tratamiento. Se agregó en cada muestra, una tercera parte de la capacidad de una copa a una temperatura ambiente de entre 15 a 18 °C. Se entregó la hoja de cata para evaluar la aceptabilidad del producto por medio de una escala hedónica de siete puntos en cuanto a los atributos de color, aroma, sabor, amargor y astringencia.

Escala estructurada de siete puntos para la evaluación de aceptabilidad:

- Me disgusta extremadamente: 1
- Me disgusta mucho: 2

- Me disgusta ligeramente: 3
- Ni me gusta ni me disgusta: 4
- Me gusta un poco: 5
- Me gusta mucho: 6
- Me gusta extremadamente: 7

3.4.4. Métodos de análisis fisicoquímico del vino de níspero y nibs de cacao

3.4.4.1. Determinación de grado alcohólico

Para el grado alcohólico del mejor tratamiento se utilizó el método de alcoholímetro de vidrio establecido por la normativa técnica ecuatoriana NTE INEN 340 (2016). Se usó 250 ml de vino en un matraz de fondo plano y se expuso a un baño maría a 20 °C por 20 minutos. Después se instaló el equipo de destilación y se expuso la muestra a una temperatura de 78 °C para que solamente se volatilice el etanol contenido en el vino por medio del refrigerante de Liebing, regulando su flujo de entrada de agua a temperatura ambiente. Cuando se completó la condensación de la muestra, se procedió a estabilizar la muestra en un baño de agua a una temperatura de 20 °C durante 20 minutos y se añadió agua hasta completar el volumen de 250 cm³ homogeneizando.

Se llenó la probeta con la muestra destilada hasta unos 5 cm por debajo de su borde, identificando la temperatura de la muestra destilada con el termómetro de alcohol. Para el uso del alcoholímetro de vidrio volumétrico se realizó un lavado y secado para evitar alteraciones en los valores de lectura. Se tuvo que esperar a que el alcoholímetro de vidrio se estabilice y flote para leer el valor indicado en la base del menisco en el vástago que coincida con la línea de flotación. Se utilizó la tabla indicada en la normativa para determinar el valor exacto según la temperatura de la muestra.

3.4.4.2. Determinación de acidez total

De acuerdo al método de titulación establecido por la norma técnica ecuatoriana INEN 341 (1978). Se realizó un procedimiento por duplicado, donde se colocó 250 cm³ de agua destilada hervida previamente y neutralizada en un matraz de Erlenmeyer de 500 cm³. Después se añadió 25 cm³ de la muestra con cinco gotas de la solución

de fenolftaleína. Y finalmente se procedió a titular, utilizando la bureta con una solución de 0,1 N de hidróxido de sodio.

La acidez total en bebidas alcohólicas se determinó con la siguiente fórmula:

$$AT = 2,4 \frac{V_1}{G}$$

En donde:

AT= Acidez total expresada como ácido acético en gramos por 100 cm³ de alcohol anhidrido

V₁= Volumen de solución 0,1 N de hidrógeno de sodio en centímetros cúbicos

G= Grado alcohólico de la muestra

En la determinación de la acidez fija, se puso la muestra de 25 ml en un crisol de porcelana sobre un baño de vapor, colocando el crisol y su contenido en la estufa a 100 °C por 30 minutos. Después se procedió a disolver el residuo seco con alcohol neutro en una cantidad de 25 ml a un matraz Erlenmeyer con 250 ml de agua destilada previamente hervida y se neutralizó. Se adicionó cinco gotas de fenolftaleína y se tituló con la solución de 0,1 N de hidróxido de sodio.

La acidez fija en bebidas alcohólicas se determinó con la siguiente fórmula:

$$AT = 2,4 \frac{V_2}{G}$$

En donde:

AT= Acidez fija, expresada como ácido málico en gramos por 100 cm³ de alcohol anhidrido

V₂= Volumen de solución 0,1 N de hidróxido de sodio en centímetros cúbicos

G= Grado alcohólico de la muestra

Acidez volátil

La acidez volátil en bebidas alcohólicas se determinó con la siguiente fórmula:

$$AV = AT - AF$$

En donde:

AV= Acidez volátil

AT= Acidez total

AF= Acidez fija

3.4.4.3. Determinación de anhídrido sulfuroso total

Se dispuso la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 356 (1978) para el análisis de anhídrido sulfuroso total del mejor tratamiento mediante el método de incineración de sólidos totales. Previo al análisis se expulsó el aire del aparato de destilación mediante el ingreso de una corriente de anhídrido carbónico y luego se colocó 50 cm³ de solución 0,02 N de yodo en un matraz de 250 cm³. Después se añadió 100 cm³ de muestra usando la pipeta en el embudo de separación y se agregó 5 cm³ de ácido fosfórico tapando el embudo. Se calentó para la destilación hasta reducir a la mitad el volumen de la muestra, este destilado se recibió en un matraz con un contenido de 0,02 N de yodo. Posteriormente, se retiró el matraz de 250 cm³ del apartado de destilado y se colocó sobre el reverbero eléctrico para eliminar el excedente de yodo, después de enfriar se procedió a acidificar con gotas de ácido clorhídrico, adicionando 5 cm³ de solución al 10 % de cloruro de bario para precipitar sulfato de bario. Por último, se dejó en reposo por tres horas y el precipitado retenido en el papel filtro se limpió con alcohol etílico, transfiriendo el papel filtro con el precipitado a un crisol para su posterior calcinación por medio de una mufla a 550 °C enfriando en el desecador y pesando al 0,1 mg. (NTE INEN 356, 1978)

Cálculos:

$$AST = 2,7455 \times m$$

En donde:

AST = contenido de anhídrido sulfuroso total, en gramos por 1000 cm³

m = masa de sulfato de bario calcinado, en gramos

3.4.4.4. Determinación de metanol

Por medio del método de titulación establecido por la norma técnica ecuatoriana NTE INEN 347 (2015) se determinó el metanol en el mejor tratamiento. Para la

preparación de la muestra se enjuagó el matraz de fondo plano con una porción de muestra de bebida alcohólica y se llenó hasta sobrepasar la marca de 250 ml, cubriendo el matraz para luego colocar el matraz en baño de agua a una temperatura de 15 °C durante 20 minutos, retirando el excedente de la bebida alcohólica por medio de una pipeta hasta obtener un volumen de 250 ml. Después se transfirió el contenido al matraz de fondo redondo en el destilador previamente enjuagando con 10 ml de agua destilada y añadiendo los núcleos de ebullición. Se destiló la muestra recogiendo el condensado en un matraz volumétrico de 250 ml, añadiendo 10 ml de agua destilada hasta obtener 220 ml. Se colocó el matraz en baño de agua a una temperatura de 15 °C durante 20 minutos, añadiendo agua destilada a una temperatura de 15 °C hasta completar el volumen de 250 ml homogeneizando. Por último, se diluyó la muestra a una concentración alcohólica de entre 5 y 6%.

Se utilizó 2 ml de solución de permanganato de potasio en un matraz de 50 ml y se dejó enfriar con hielo en baño maría. Después se colocó una porción de bisulfito de sodio seco para luego añadir 1 ml de solución de ácido cromotrópico y 15 ml de ácido sulfúrico, procediendo a agitar cuidadosamente para luego colocar en baño maría a temperatura de 60 a 75 °C por 15 minutos. Por último, se enfrió el contenido y se agregó agua destilada hasta llegar a los 50 ml a temperatura ambiente. Para verificar el resultado final se tomó en cuenta la intensidad de color de la muestra, midiendo por medio del espectrofotómetro con una absorbancia de 575 nm por medio de soluciones estándar de 2,5 ml; 5 ml; 10 ml; 15 ml; 20 ml y 25 ml de la solución de metanol al 0,025%, completando la marca con alcohol etílico al 5,5%.

Cálculos:

$$M = 0,025 \frac{A}{A_1} \times f$$

En donde:

M= Es el contenido de metanol en la muestra, en porcentaje de volumen

0,025= Es la concentración de la solución patrón de metanol utilizado

A= Es la absorbancia correspondiente a la muestra

A₁= Es la absorbancia correspondiente a la solución patrón de metanol

F= Es el factor de disolución de la muestra

3.4.4.5. Determinación de contenido de azúcares

Se aplicó el método de dosificación de azúcares en mostos y vinos por cromatografía líquida de alta resolución de la OIV-MA-AS311-03 (2016). Se agregó una disolución de glicerol (15 g/L) y sacarosa (40 g/L) hasta dosificarse. Los azúcares y el glicerol se separaron por HPLC detectada por refractometría. En las soluciones reactivas se agregó agua desmineralizada filtrada a través de una membrana de celulosa de 0,45 µm junto con el eluyente que fue el acetonitrilo y agua en una proporción de 80/20. Para la preparación de la muestra se realizó una disolución en el vino que contenga más de 20 g/L hasta alcanzar el rango de calibración. Se filtró las muestras a través de una membrana de 0,45 µm antes del análisis y se calibraron a 10 g/L de glicerol, fructosa, glucosa y sacarosa. Para el cálculo de factores de respuesta en la calibración externa utilizada para análisis es:

$$RF_i = \frac{\text{área}}{C_i}$$

En donde:

área= área del pico del producto en la solución de calibración,

C_i= cantidad del producto presente en la solución de calibración.

Expresión de resultados y cálculo de concentraciones.

$$C_e = \frac{\text{superficie}}{RF_i}$$

En donde:

Superficie= Área del pico del producto presente en la muestra.

RF_i= Factor de respuesta

Límites:

- Glucosa (niveles ≥ 3 g/L)
- Fructosa (niveles ≥ 2 g/L)
- Glucosa + fructosa (niveles ≥ 5 g/L)

3.5 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

En la presente investigación se utilizó un diseño experimental factorial 2^2 constituido por dos factores, dos niveles y tres repeticiones en cada uno, por lo que se tiene como primer factor la concentración de níspero y como segundo factor la variación de cepas de levadura.

Para analizar los datos obtenidos en el diseño experimental se empleó una prueba de ANOVA y Tukey al 95 % de confianza entre las diferentes significancias de cada formulación en cuanto a las características fisicoquímicas en la fermentación del mosto y las características sensoriales de los vinos.

Software: IBM SPSS Statistics 21

3.5.1. Modelo matemático

$$y_{ijkl} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \epsilon_{IJK}$$

En donde:

y_{ijkl} = Valor estimado de la variable

μ = Media general

A_i = Efecto de concentración de pulpa

B_j = Efecto del tipo de levadura

$(AB)_{ik}$ = Efecto de la concentración de pulpa y tipo de levadura

ϵ_{IJK} = Efecto del error experimental

En la tabla 11 se encuentra el modelo experimental para la obtención del valor-p de la presente investigación.

Tabla 11. ANOVA con modelo factorial de dos factores

Fuente de variación (F.V)	Suma de cuadrados (S.C)	Grados de libertad (G.L)	Cuadrados Medios (C.M)	F exp	Valor - p
Factor A (pulpa de níspero)	SCA	$a - 1$	CMA	CMA/CMR	$P(F > F_0^A)$
Factor B (tipo de levadura)	SCB	$b - 1$	CMB	CMB/CMR	$P(F > F_0^B)$
Factor A B	SC (AB)	$(a - 1) (b - 1)$	CM (AB)	CM(AB)/CMR	$P(F > F_0^{AB})$
Residual	SCR	$ab (n - 1)$	CMR		
Total	SCT	$nab - 1$			

3.5.2. Tratamientos de estudio

La distribución en cuanto a los factores de estudio y los niveles establecidos permitieron obtener en total cuatro tratamientos, como se observa en la tabla 12.

Tabla 12. Determinación de los tratamientos en cuanto a las variables independientes

Variable	Descripción	Número de variable	Definición	Tratamientos
A	Concentración de níspero	A1	25 %	A1B1
		A2	30 %	A1B2
B	Tipo de levadura	B1	<i>Saccharomyces bayanus</i> (Safoeno BC S103).	A2B1
		B2	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (Safoeno CK S102).	A2B2

En la tabla 13 se especifica el orden del modelo en cuanto a porcentajes y valores de cada tratamiento de la presente investigación.

Tabla 13. Esquema del experimento de porcentaje de variables de mosto

Tratamiento	Código	Nibs de cacao arriba (%)	Azúcar (Grados brix)	Pulpa de Níspero (%) (A)	Tipo de levadura (B)
T1	A1B1	5	22	25	<i>S. bayanus</i> (Safoeno BC S103) (0,3 g/l mosto)
T2	A1B2	5	22	25	<i>S. cerevisiae</i> (Safoeno CK S102). (0,3 g/l mosto)
T3	A2B1	5	22	30	<i>S. bayanus</i> (Safoeno BC S103) (0,3 g/l mosto)
T4	A2B2	5	22	30	<i>S. cerevisiae</i> (Safoeno CK S102).(0,3 g/l mosto)

Los tratamientos fueron elaborados por triplicado, como se observa en la tabla 14.

Tabla 14. Unidades experimentales

Tratamientos	Repeticiones		
	R1	R2	R3
T1	A1B1C1-R1	A1B1C1-R2	A1B1C1-R3
T2	A1B1C2-R1	A1B1C2-R2	A1B1C2-R3
T3	A1B2C1-R1	A1B2C1-R2	A1B2C1-R3
T4	A1B2C2-R1	A1B2C2-R2	A1B2C2-R3
T5	A2B1C1-R1	A2B1C1-R2	A2B1C1-R3

3.5.3. Factores de estudio

Según Ocaña (2012) menciona que las formulaciones de su investigación estuvieron en los siguientes rangos: pulpa (20 – 30%), agua (55- 60%), azúcar (12- 22%) debido a que estas cantidades para la elaboración de vinos permiten cumplir con los límites legales NTE INEN 374. En la elaboración de vino de níspero y nibs de cacao se establecieron el volumen y peso de los ingredientes de acuerdo a los porcentajes planteados, como se encuentran en detalle en la tabla 15.

Tabla 15. Formulación de tratamientos del experimento

Código	Esquema del experimento	R	TUE
A1B1	127,5 g nibs de cacao + 885 g de níspero+ + 743 g de azúcar + 2123 ml de agua + 1,1 g de levadura <i>S. bayanus</i> (Safoeno BC S103)	3	3,75 L
A1B2	127,5 g de nibs de cacao + 885 g de níspero+ + 743 g de azúcar + 2123 ml de agua + 1,1 g de levadura <i>S. cerevisiae</i> (Safoeno CK S102).	3	3,75 L
A2B1	127,5 g de nibs de cacao + 1014 g de níspero+ + 710 g de azúcar + 2027 ml de agua + 1,1 g de levadura <i>S. bayanus</i> (Safoeno BC S103)	3	3,75 L
A2B2	127,5 g de nibs de cacao + 1014 g de níspero+ + 710 g de azúcar + 2455 ml de agua + 1,1 g de levadura <i>S. cerevisiae</i> (Safoeno CK S102).	3	3,75 L

Nota. TUE: Tamaño de unidad experimental; R: Repeticiones

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

4.1.1. Caracterización del níspero

La variedad de níspero utilizada en la investigación es de la especie *Eriobotrya japónica* de la variedad Moggi Wasse, presentando las siguientes características a continuación en la tabla 16.

Tabla 16. Caracterización del níspero utilizado en la investigación en su estado de madurez comercial.

Parámetro	Valor
Sólidos Solubles (°Brix)	11,4
pH	3,56
Acidez (Ac. Málico)	8,6 g/L
Sabor	Agridulce

4.1.2. Características fisicoquímicas de fermentación de los mostos

Para la toma de muestras en cada tratamiento se implementó la norma de muestreo de bebidas alcohólicas. (NTE INEN 339, 1994)

4.1.2.1. Análisis de grados brix

En la tabla 17 se encuentran rangos de vinos de entre 5,93 a 7,27 °Brix, por lo cual se obtuvieron diferencias significativas en el análisis ANOVA con un p-valor de 0,007. Para el proceso de fermentación inicial se estandarizaron los sólidos solubles en cada tratamiento a 22 °Brix. En la figura 8 se observa un descenso progresivo entre los días uno a tres, generando un consumo de azúcares estable. En los días tres a seis se observa un estado de latencia parcial y en los días posteriores se muestra un consumo de azúcares progresivo.

Tabla 17. Comparación de medias con HSD de Tukey y p- valor de ANOVA en los grados brix

Tratamientos	N	Medias	Subconjuntos	p-valor
3	3	5,93	a	0,007
4	3	6,80	b	
1	3	6,90	b	
2	3	7,27	b	

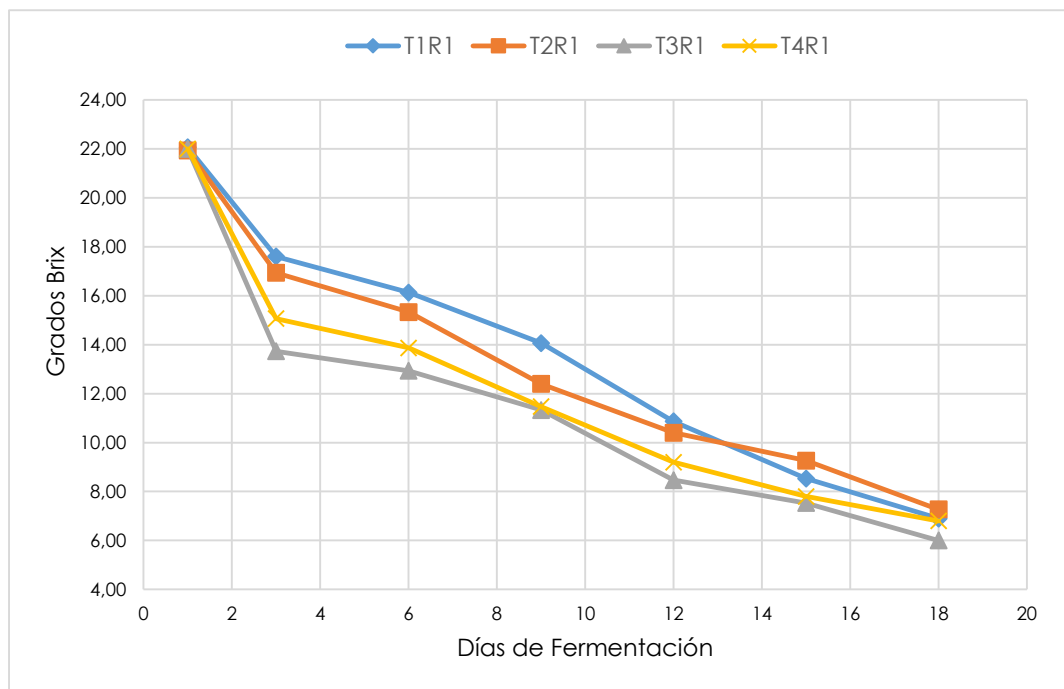


Figura 8. Consumo de azúcares durante la fermentación de los cuatro tratamientos

4.1.2.2. Análisis de concentración de iones de hidrógeno (pH)

En la tabla 18 se aprecia que entre la comparación de medias con la prueba de Tukey se obtuvieron vinos con valores de 3,52 a 3,58 y en la prueba de ANOVA, se determinó que no existen diferencias significativas entre los vinos con un p-valor de 0,925. En la figura 9 se observa que, a medida que transcurren los días en el proceso de fermentación, se reduce el pH en los cuatro tratamientos, y entre los días 12 al 15 se reportaron valores constantes.

Tabla 18. Comparación de medias con HSD de Tukey y p- valor de ANOVA en el pH

Tratamientos	N	Medias	Subconjuntos	p-valor
1	3	3,52	a	0,925
2	3	3,57	a	
3	3	3,58	a	
4	3	3,58	a	

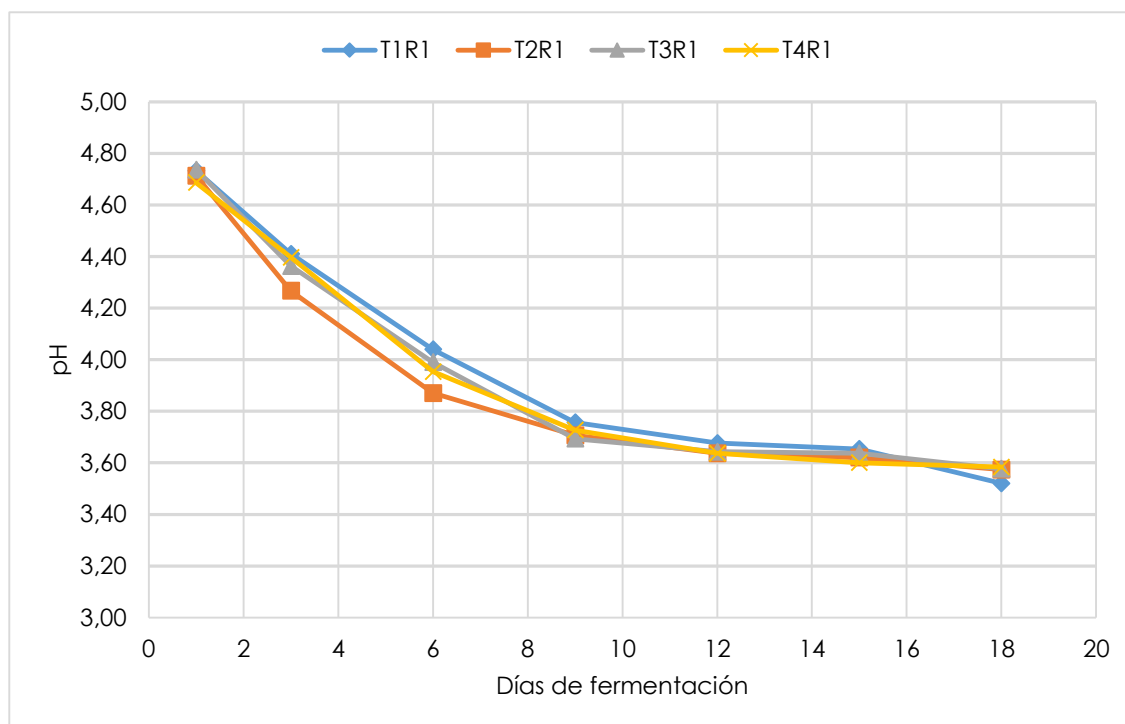


Figura 9. Iones de hidrógeno (pH) durante la fermentación de los cuatro tratamientos

4.1.2.3. Análisis de acidez total

En la tabla 19 por medio de la prueba ANOVA se observó que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, presentando un valor p de 0,612. En la figura 10 se puede observar que, al inicio de la fermentación se tuvieron valores de 2,56 a 1,54 g/L y al finalizar se incrementó la cantidad de ácidos con valores de 8,15 a 8,81, por lo que se determinó que existe una producción de ácidos en el transcurso del tiempo.

Tabla 19. Comparación de medias con HSD de Tukey y p- valor de ANOVA de acidez.

Tratamientos	N	Medias	Subconjuntos	p-valor
4	3	8,15	a	0,612
1	3	8,35	a	
3	3	8,58	a	
2	3	8,81	a	

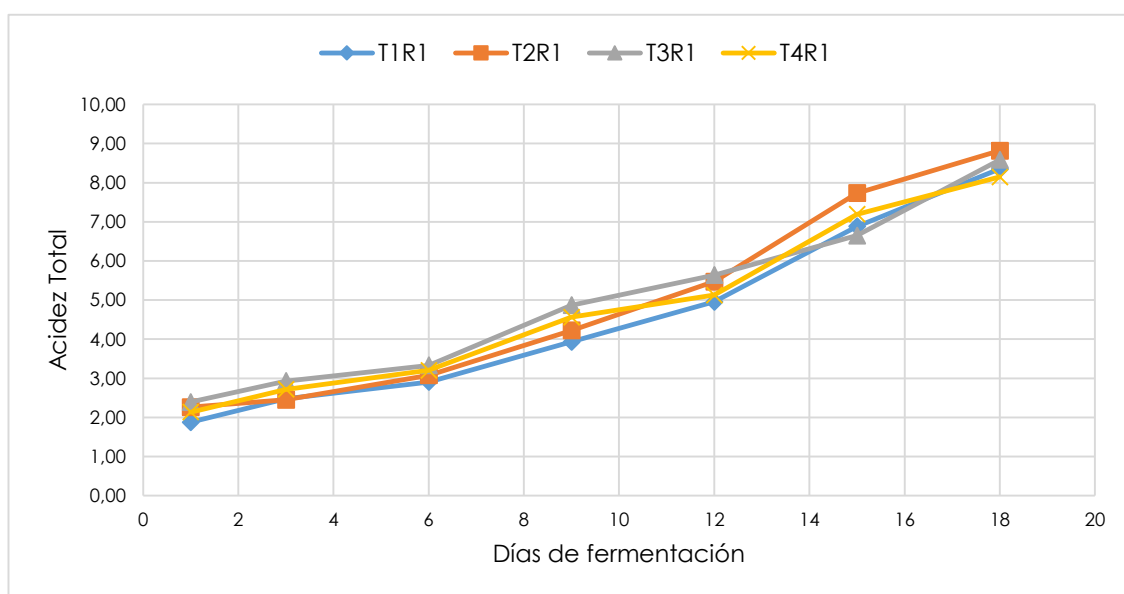


Figura 10. Acidez total durante la fermentación de los cuatro tratamientos

4.1.3. Evaluación sensorial

En la evaluación sensorial se tomaron en cuenta las características en cuanto a color, aroma, sabor, amargor y astringencia por medio de una escala hedónica de siete puntos con la finalidad de determinar la aceptabilidad de los cuatro tratamientos a un panel no entrenado de 65 personas con edades de entre 19 a 40 años. Para determinar el mejor tratamiento se utilizó la prueba ANOVA y la prueba de HDS Tukey, debido a que se cuenta con más de dos muestras independientes con las que se desea obtener una comparación estadística paramétrica con la finalidad de determinar si al menos un tratamiento es diferente.

En la tabla 20 se aprecia que los valores obtenidos en la prueba ANOVA del análisis de color, sabor, amargor, astringencia y apreciación global tienen un nivel de significancia mayor a 0,05 por lo que se determinó que no se encontraron diferencias

significativas en estas características sensoriales. En el aroma se identificó que existen diferencias significativas al tener un p-valor de 0,001, lo cual significa que los factores de estudio inciden en esta característica sensorial.

Tabla 20. Nivel de significancia entre los cuatro tratamientos de las características sensoriales de ANOVA

Características sensoriales	p-valor
Color	0,057
Aroma	0,001
Sabor	0,473
Amargor	0,392
Astringencia	0,722
Apreciación Global	0,057

En la tabla 21 se observan los resultados de la evaluación sensorial de las medias de comparación de la prueba de HDS de Tukey, por lo que se identificó que en el color, sabor, amargor y astringencia de los cuatro tratamientos se tuvo una calificación de cinco, equivalente a “me gusta un poco”. En el aroma se identificó que el tratamiento tres tuvo una calificación de cuatro equivalente a “ni me gusta ni me disgusta”, esta es considerada como la valoración más baja a comparación de los demás tratamientos. En el color, aroma, sabor, amargor y astringencia del tratamiento uno se tuvo una calificación de cinco equivalente a “me gusta un poco” y en la apreciación global se tuvo una calificación de seis, equivalente a “me gusta mucho”, esta valoración es mayor en comparación de los demás tratamientos, por lo que se asume que el mejor tratamiento es el uno conformado por 25 % níspero y levadura *S. bayanus*.

Tabla 21. Medias de comparación de la prueba de HDS de Tukey

	Color	Aroma	Sabor	Amargor	Astringencia	Apreciación Global
Tratamiento 1	5 (b)	5 (b)	5 (b)	5 (b)	5 (b)	6 (a)
Tratamiento 2	5 (b)	5 (b)	5 (b)	5 (b)	5 (b)	5 (b)
Tratamiento 3	5 (b)	4 (c)	5 (b)	5 (b)	5 (b)	5 (b)
Tratamiento 4	5 (b)	5 (b)	5 (b)	5 (b)	5 (b)	5 (b)

4.1.4. Resultados fisicoquímicos del mejor tratamiento

En la tabla 22 se encuentran los resultados fisicoquímicos del mejor tratamiento conformado por 25 % níspero y levadura *S. bayanus*. Estos resultados fueron obtenidos realizando dos repeticiones como lo establece la normativa INEN 374 con el objetivo de establecer diferencias o desviaciones del valor real.

Tabla 22. Análisis fisicoquímico del tratamiento unoun

Grado Alcohólico	Acidez total expresada en ácido málico	Acidez volátil expresada en ácido acético	Anhídrido sulfuroso total	Metanol	Contenido de Azúcares
11,7 GL	3,84 g/L	0,64 g/L	128,89 mg/L	57,44 mg/L	78,94 g/L

4.2. DISCUSIÓN

4.2.1. Caracterización del níspero

Para determinar la variedad de níspero japonés según la especie se obtuvieron datos de su procedencia, como la fecha de floración que se da a principios y mediados de noviembre. Se midieron las características físicas y químicas, por lo que se determinó que el níspero utilizado en la investigación es de la variedad *Moggi Wasse* al presentar similitudes en las características generales del estudio de Martínez et al. (2000) al tener esta variedad en su estado de madurez un valor de 10,85 °Brix y una acidez de 8,17 g/L ácido málico, su aspecto es de piel y pulpa de coloración amarillo-anaranjado, con una forma ovalada-alargada. A su vez, los resultados obtenidos tienen similitud con la investigación de Undurraga et al. (2011) en el estudio de la evolución del patrón etileno, enzimático y respiratorio en níspero (*Erobotry japónica*) en las cuatro etapas de maduración, donde se determinó que los frutos de coloración amarillo-anaranjado presentaron un valor de 11,8 °Brix con una acidez de 8,05 g/L, por lo que se consideró que estos valores se asemejan a los obtenidos en esta investigación y son propios de un fruto en estado de madurez de consumo.

4.2.2. Características fisicoquímicas de fermentación de los mostos

4.2.2.1. Grados brix

Los mostos de níspero tuvieron una fermentación alcohólica a una temperatura ambiental que se encontró en un rango de 7 a 16 °C, por lo que el consumo de azúcares tuvo un retraso parcial y finalizó a los 18 días. Suárez et al. (2016) afirman que la velocidad de consumo de azúcares en un mosto será progresivo y estable a una temperatura de entre 18 a 20 °C, ocasionando una disminución de la biomasa y, en temperaturas inferiores a este rango se genera un estado de latencia en la célula que produce la inactivación de la actividad metabólica produciendo un consumo lento de azúcares.

En el consumo final de azúcares del proceso fermentativo se encontraron diferencias significativas en el tratamiento tres (*S. bayanus* y 30% pulpa) al tener un mayor consumo de azúcares a comparación de los otros tratamientos. Este resultado tiene relación con el estudio de Cabrera et al. (2012) sobre el efecto de la proporción de pulpa en el mosto para la elaboración de una bebida alcohólica de guayaba, donde se determinó que el ensayo con mayor contenido de pulpa utilizando Uvaferm BC (*Saccharomyces cerevisiae* sp. *bayanus*), tuvo un consumo de sustrato ligeramente más rápido, debido a un mayor aporte nutricional de la pulpa de la fruta y un menor descenso en el pH, lo cual es favorable para la actividad de las levaduras, obteniendo una fase de crecimiento exponencial positiva en la fermentación. Por lo que se tomó en cuenta que la fermentación del tratamiento tres tuvo un consumo rápido debido a los aportes nutricionales del níspero, el cual posee, por cada 100 g, 18 g de hidratos de carbono (fructuosa, glucosa, sacarosa, etc.) siendo favorables como sustrato.

4.2.2.2. Concentración de iones de hidrógeno (pH)

Los valores finales de fermentación en cuanto al pH tuvieron un descenso en el transcurso de los días de fermentación, por lo cual se obtuvieron vinos de entre 3,34 a 3,74 de pH. Los resultados obtenidos tienen relación con la investigación de Tapia (2016) en la elaboración de un vino de manzana con diferentes concentraciones de fruta y grados de dulzor en la elaboración de un vino de manzana, determinando que el pH descendió de 4 a 3,3 en donde no existieron diferencias significativas en los tratamientos. Según Sroka y Tuszyński (2007) esta disminución de pH se da como

consecuencia del aumento de la acidez total, por lo cual la reducción de pH en una bebida alcohólica se debe a la síntesis de los ácidos acético y succínico realizado por las levaduras y la variación del pH dependerá del tipo de sustrato. Por lo que, en el mosto de níspero, al tener un sustrato igual en todos los tratamientos con dos tipos de levaduras que hacen el mismo proceso de síntesis de ácidos, no se identificaron diferencias entre los tratamientos en cuanto al pH.

Se identificó que el pH de los mostos tiene un valor constante desde el día 12 al 15. Para Serrano (2006) cuando no se genera una variación de pH en la fermentación del mosto, se debe a una estabilización del medio al encontrarse el mosto en un rango de 3 a 3,6 donde las levaduras procederán a efectuar una homeostasis de pH intracelular o un sistema de regulación génica capaz de controlar la síntesis de enzimas extracelulares, permeasas y metabolitos debido a que en este medio dominan la fermentación por la capacidad de adaptación que tienen estas cepas vínicas a cambios en el pH extracelular.

4.2.2.3. Acidez total

En el proceso de fermentación de vino de níspero no se identificaron diferencias significativas entre los tratamientos y se obtuvo un valor final en los cuatro vinos de entre 8,15 a 8,81 g/L (exp. en ácido málico). Este resultado tiene relación con la investigación de Tapia (2016) en la elaboración de un vino de manzana con diferentes concentraciones de fruta y grados de dulzor, donde realizó un estudio de la acidez total expresada en ácido málico en el proceso fermentativo y se reportó en un análisis de varianza en el que no existen diferencias significativas en los tratamientos durante el proceso de fermentación debido a que la acidez total expresada en ácido málico aumenta relativamente a medida que transcurre el tiempo de fermentación obteniendo vinos finales de entre 6,6 g/L y 9,10 g/L. De igual manera en el estudio de Huang (2014) sobre la construcción de la cepa de levadura de desacidificación en la elaboración de un vino de níspero, se reportó que el ácido málico no se puede degradar durante la fermentación del vino de níspero por las cepas de *Saccharomyces*, obteniendo como resultado un alto nivel de acidez total que se expresó en ácido málico, por consecuente generó un sabor agrio y astringente, que afectó el índice de equilibrio de sabor y calidad sensorial.

La acidez total de los cuatro tratamientos se tuvo un aumento progresivo similar entre sí en cuanto a los días de fermentación. Este comportamiento tiene relación con el estudio de Yéramian et al. (2007), en cuanto a la producción de ácido málico, las cepas *S. cerevisiae* y *S. bayanus* pueden producir cantidades moderadas a través de la vía del ácido fumárico catalizada por la fumarasa citosólica o a través del ácido oxaloacético catalizado por el malato deshidrogenasa.

4.2.3. Análisis sensorial

4.2.3.1. Color

De acuerdo al análisis ANOVA se identificó que no existen diferencias significativas en el color de los cuatro tratamientos. Estos resultados tienen relación con la investigación de Peña (2006) quien determinó que cuando los pigmentos hidrosolubles de la fruta son deficientes, se puede observar una coloración ocasionada por los flavonoides, generando pigmentaciones tenues o pálidas en el vino, a su vez menciona que los pigmentos varían de acuerdo al pH del vino. Por lo cual el níspero es una fruta que contiene flavonoides responsables de su característica tonalidad amarilla y al estar expuestos estos pigmentos a una fermentación vínica con pH similares entre los cuatro tratamientos, no produjo variaciones tan notorias en la pigmentación entre estos.

Aunque el tratamiento uno es el más aceptado por los panelistas en comparación del tratamiento tres, estos resultados tienen relación con la investigación de Peña (2006) estableciendo que la aceptabilidad de la coloración del vino depende del estado de madurez de la fruta, presentando una mayor cantidad de flavonoides al iniciar el proceso fermentativo del mosto. Por lo que se determinó que el tratamiento uno tuvo mayor aceptabilidad por su concentración y estado de madurez de la pulpa, lo cual produjo una coloración amarillo-ámbar.

4.2.3.2. Aroma

Por medio del ANOVA se determinó que existen diferencias significativas en cuanto al tratamiento tres conformado por 30% pulpa y *S. bayanus*, al tener una menor valoración en comparación de los demás tratamientos con una calificación de "ni me gusta ni me disgusta". Este resultado se asemeja a la investigación de Ocaña (2012) mencionando en su estudio de tres niveles de dulzor y tres niveles de

concentración de fruta y agua en la elaboración de un vino de mora, que la mejor formulación tuvo una excelente calidad de aroma en la proporción 20% fruta y una menor aceptación en vinos elaborados con 33 % de fruta, entonces al tener un mayor porcentaje de fruta se enmascaran aromas agradables de la etapa varietal, generando varios aromas particulares provenientes del proceso post-fermentativo de los vinos. Según Catania y Avagnina (2007) si efectuamos una maceración prolongada se obtendrá un aumento de taninos, antocianas y los aromas provenientes de las levaduras y se enmascaran los aromas varietales propios de la fruta, pero al controlar los días de maceración se obtendrá un equilibrio entre los componentes aromáticos expuestos en este proceso, aunque lleguen a suceder casos en donde existan distintos umbrales de concentración sensorial. Este estudio explica lo sucedido con el tratamiento tres donde se percibieron aromas no agradables provenientes de la etapa post-fermentativa.

4.2.3.3. Sabor

Se determinó mediante el ANOVA que no existen diferencias significativas en cuanto al sabor de los cuatro tratamientos. Estos resultados se asemejan a la investigación de Torija (2002) quien menciona que las levaduras de cepas vínicas como *S. bayanus* y *S. cerevisiae*, están diseñadas para tener un desarrollo completo en cuanto a sus propiedades fermentativas cuando son expuestas a niveles elevados de los ácidos propios de la uva (ácido tartárico y ácido cítrico), los cuales intervienen en la vía glicolítica, así como en los ciclos de Krebs y del glioxilato, donde son consumidos en el proceso de fermentación formando sabores particulares en base a los ácidos predominantes de la uva. Por lo que, la ruta metabólica en la fermentación del mosto de níspero no produjo sabores distintivos en los cuatro tratamientos, al no tener suficiente cantidad de ácidos asimilables para estas levaduras, las cuales son especializadas para producir sabores particulares en vinos elaborados a base de uvas.

4.2.3.4. Amargor

En el análisis del ANOVA no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos en cuanto al amargor. La investigación de García (2017) menciona que las semillas liberan mayormente (+)-catequina y (-)-epicatequina y galatos de flavan-3-oles de monómeros que suelen ser la causa del sabor amargo que se atribuye a los

vinos. Si existe una mayor cantidad de cáscaras y semillas se producirá una migración de sustancias tánicas que generarán una mayor sensación de amargor en el vino final, al implementar una maceración del mosto en una menor cantidad, no se producirán con notoriedad variaciones en el amargor.

4.2.3.5. Astringencia

Por medio de la prueba ANOVA se identificó que en la astringencia no existen diferencias significativas entre los tratamientos. La investigación de Goldner (2008) tiene relación con los resultados obtenidos, definiendo que al tener un nivel elevado de dulzor se produce una reducción de la cantidad de astringencia, por lo que no se perciben diferencias significativas para los catadores en este atributo, debido a que este fue neutralizado en todos los tratamientos por medio del jarabe para endulzar en 13,5 grados brix.

4.2.3.6. Apreciación global

La apreciación global es un parámetro que permite identificar cuál es el mejor vino en cuanto a la valoración de los catadores al tomar en cuenta sus características generales para dar la calificación final. No se identificaron diferencias significativas entre los cuatro tratamientos y se aprecia que, entre las medias de comparación, se destaca el tratamiento uno con una calificación seis de "me gusta mucho", esta valoración es mayor a comparación de los tratamientos restantes, por lo que se determinó que este es el mejor tratamiento conformado por *S. bayanus* y 25 % pulpa. Según Fermentis (2015) *S. bayanus* aporta las mejores propiedades fermentativas en condiciones no favorables para su síntesis, por lo que este tratamiento destaca en sus cualidades sensoriales, en cambio, *S. cerevisiae* está especializada para la fermentación de uvas en mostos frescos y limpios, donde la calidad fermentativa depende de controles específicos como su alta demanda de nitrógeno y controles de temperatura. En la investigación de Torija (2002), al comparar *S. bayanus* con *S. cerevisiae* se identificó que la principal diferencia entre estas dos especies se encuentra en las características fisicoquímicas, donde la concentración de glicerol tiene un nivel de varianza significativo en comparación de los análisis sensoriales en donde no se encontraron diferencias.

Se acepta la hipótesis alternativa de la influencia de las variables, tipo de levadura (*S. bayanus* y *S. cerevisiae*) y concentración de pulpa (25% y 30%) en la característica

fisicoquímica de grados brix y en la característica sensorial de aroma en el vino de níspero con nibs de cacao.

4.2.4. Resultados fisicoquímicos del mejor tratamiento

4.2.4.1. Alcohol, fracción volumétrica

El grado alcohólico del mejor tratamiento es de 11,7° GL, que se encuentra dentro de los límites establecidos en la normativa de "Bebidas alcohólicas, requisitos para vino de frutas" INEN 374, la cual establece que el vino de frutas debe tener un grado alcohólico mayor a 6 ° GL, también se determinó que el vino obtenido es considerado como vino de mesa al tener un valor menor a los 12 ° GL según la normativa de "Bebidas alcohólicas, clasificación y definiciones de vinos" NTE INEN 371. En la investigación de Ruiz (2011) se obtuvo un vino de mortiño de 12° GL, siendo este valor similar a los grados alcohólicos del vino de níspero, debido a que en la adición de azúcar para la fermentación del mosto de mortiño se estandarizó a 22 °Brix y en la elaboración del mosto de níspero se estandarizó igualmente a 22 °Brix.

4.2.4.2. Acidez volátil

La acidez volátil en vinos está conformada por ácidos grasos de la serie acética, sean estos libres o combinados formando sales. Son excluidos de la acidez volátil los ácidos láctico y succínico, y de igual forma el ácido carbónico y el anhídrido sulfuroso libre y combinado. Si el valor de la acidez volátil supera el límite establecido por la normativa vigente, se obtendrá vinos con olores desagradables denominado "picado", lo cual se debe al incremento del ácido acético y acetato de etilo. (Capell, 1954)

La acidez volátil del mejor tratamiento es de 0,64 g/L expresada en ácido acético, que cumple con los límites establecidos por la norma de "Bebidas alcohólicas. Requisitos para vino de frutas" INEN 374, la cual menciona que el vino apto para el consumo humano debe tener como máximo 1,5 g/L de acidez volátil debido a que, si sobrepasa este límite establecido, se consideraría al vino como avinagrado y enfermo. Los resultados obtenidos tienen relación con la investigación de Salazar (2010) en donde sus mejores tratamientos fueron con *S. bayanus* en el vino de manzana, obteniendo un valor de 0,6 g/L de acidez volátil expresado en ácido acético.

4.2.4.3. Acidez total

La acidez total de un vino es la suma de los ácidos valorables, donde la acidez total de un vino es más baja que la del mosto del que procede, ya que el ácido tartárico precipita en forma de bitartrato de potasio y tartrato de calcio. Esta precipitación es provocada por la disminución de la solubilidad al aumentar el porcentaje de alcohol y disminuir la temperatura, lo cual se considera como estabilización por frío. (Cazorla et al., 2005)

La acidez total del tratamiento uno fue determinada por medio del método de titulación, en donde el valor de la acidez total fue de 3,84 g/L expresado como ácido málico. Según la norma de "Bebidas alcohólicas. Requisitos para vino de frutas" INEN 374, se determinó que el valor obtenido se encuentra dentro de los límites establecidos, que son de 3 g/L como mínimo, también se consideró que el valor obtenido es menor en relación con la acidez total del vino de níspero de la investigación de Fonseca et al. (2014) quienes obtuvieron 8,2 g/L en la acidez final, este valor es similar al obtenido en el último día de fermentación del vino de níspero, donde se tuvo una acidez de 8,81 g/L en el tratamiento uno, pero este disminuyó cuando se realizó la maceración con nibs de cacao y se dejó en añejamiento por más tiempo. Según Catania y Avagnina (2007) la maceración de vino prolongada, que suelen ser mayor a 21 días, permite un aumento de la migración de polifenoles propios de semillas. Los compuestos tánicos producen una disminución del ácido málico sin la formación de ácido láctico y con formación de etanol y ácido succínico.

4.2.4.4. Anhídrido sulfuroso total

El anhídrido sulfuroso total está constituido por la suma del anhídrido sulfuroso libre y el combinado, este se obtiene a partir de la oxidación de azufre y es utilizado como conservante para mantener la calidad en vinos, sin embargo un exceso en la adición de este aditivo puede provocar alteraciones en el aroma y sabor en el vino e incluso puede ser nociva para la salud del consumidor. (Guerrero et al., 2015)

El valor del anhídrido sulfuroso total fue de 128,89 mg/L, por lo que al comparar con los límites establecidos por la norma de "Bebidas alcohólicas. Requisitos para vino de frutas" (INEN 374, 1987), la cual establece que se acepta como máximo 400 mg/ L, se concluyó que el valor del mejor tratamiento cumple con los límites establecidos. En la investigación de García et al. (2016) donde se elaboró un vino de borjón, se

determinó que el contenido de anhídrido sulfuroso total es de 240 mg/L, evidentemente este valor es mayor a comparación del obtenido en el vino de níspero con nibs de cacao. Esta diferencia se debe a que se agregó en el mosto de borjón 0,25 g de meta bisulfito de potasio, compuesto que es una forma derivada del anhídrido sulfuroso y es empleado para la conservación de sus propiedades, previniendo la proliferación de bacterias y enzimas en el vino.

4.2.4.5. Metanol

El metanol generado en las bebidas alcohólicas se produce por descomposición enzimática de las pectinas propias de la fruta, produciendo ácido galacturónico el cual es un grupo metilo que al romperse libera metanol, cuya cantidad en una bebida alcohólica debe ser regularizada para evitar intoxicaciones o afecciones graves si la dosis de consumo supera el límite establecido por la normativa vigente. (Kolb, 2002 como citó en Salazar., 2010).

En la determinación de metanol se obtuvo un valor de 57,44 mg/L el cual se encuentra dentro de los límites de la norma de "Bebidas alcohólicas. Requisitos para vino de frutas" INEN 374 la cual menciona que no hay un límite mínimo establecido, el límite máximo es de 1000 mg/L. El mejor tratamiento de vino de níspero con nibs de cacao cumple con los límites establecidos por Sánchez (2015) en donde establece rangos de 40 a 120 mg/L de metanol para ser considerados como vinos blancos. Los resultados obtenidos difieren de los resultados de la investigación de Tapia (2016) en la cual reportó un contenido de 303,5 mg/L de metanol en vinos de manzana donde se utilizaron levaduras vínicas. Aunque cumple con el límite establecido de la normativa, se observa que sus resultados tienen un nivel elevado en comparación con los obtenidos en esta investigación por lo que se evidenció que esta diferencia se debe a que la manzana contiene una mayor cantidad de pectinas, las cuales se exponen a una descomposición enzimática en la fermentación alcohólica produciendo una mayor cantidad de metanol.

4.2.4.6. Contenido de azúcares

El contenido de azúcares en vinos se realiza por medio del análisis de los azúcares reductores, los cuales contienen grupos funcionales aldehído o cetona en forma libre, los cuales son capaces de ser oxidados. Los azúcares reductores más importantes para el análisis de vinos son la glucosa, fructuosa y sacarosa. (OIV-MA-AS311-03, 2016)

El valor obtenido en la determinación del contenido de azúcares fue de 78,94 g/L por lo cual se consideró que es un vino tipo dulce que cumple con la norma de "Bebidas alcohólicas. Requisitos para vino de frutas" INEN 374 que establece un límite mínimo de 50,1 y el límite máximo es indefinido. En la investigación de Torres C. (1995) sobre la elaboración de vino de ciruela menciona que en la determinación del contenido de azúcares se obtuvo 107,5 g/L, valor elevado en comparación con el contenido de azúcares del vino de níspero con nibs de cacao debido a que en el vino de ciruela se estandarizaron los sólidos solubles del vino final a 15,70 °Brix, esta adición de jarabe de azúcar produjo un aumento en la concentración del contenido de azúcares. En cuanto al vino de níspero con nibs de cacao, se realizó una estandarización a 13,5 °Brix con jarabe de azúcar para el endulzamiento final del vino, lo cual produjo un menor nivel de contenido de azúcares.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- En la fermentación alcohólica los cambios de la temperatura ambiental pueden ocasionar estrés en la célula, por lo que las temperaturas inferiores a los 18 °C producen un estado de latencia en las dos cepas de levaduras vínicas, afectando la actividad metabólica que genera un consumo lento de azúcares.
- En la actividad de fermentación del mosto de níspero se evidencia una disminución de pH debido a la síntesis bioquímica del sustrato, produciendo la formación de ácido acético, succínico y málico en el transcurso de los días. Al obtener un pH de 3,45 a 3,84 se genera una estabilización de la fermentación.
- Se evidencia una mayor velocidad de consumo de azúcares al exponer a *S. bayanus* con 30 % de concentración de fruta, dicha cantidad aporta condiciones fisicoquímicas favorables en la fermentación.
- Cuando *S. bayanus* se encuentra con 25 % de concentración de fruta, se genera un medio fermentativo adecuado para obtener un perfil sensorial de buena aceptación. En cuanto a *S. cerevisiae* no destaca en las características sensoriales, debido a la baja producción de metabolitos secundarios, los cuales tienen una influencia directa con los aromas y sabores del vino.
- Los vinos con mayor cantidad de alcohol etílico tienen una menor aceptación del aroma en la evaluación sensorial, debido a que se enmascaran parcialmente los aromas varietales de la fruta y se presenta una predominancia de los aromas provenientes de la maduración del vino.
- Al macerar el vino por dos días con 5 % de nibs de cacao, se genera una extracción de polifenoles que producen una disminución del ácido málico en el vino, generando un descenso de la acidez total de 8,81 g/L a 3,84 g/L (expresado en ácido málico).

- El tipo de levadura y concentración de fruta del mejor tratamiento permite cumplir con los límites fisicoquímicos de acuerdo a la normativa INEN 374 "Bebidas alcohólicas, requisitos para vino de frutas", por lo cual se considera que es un vino de mesa, tipo dulce, bajo en niveles de ácido acético, metanol y anhídrido sulfuroso.

5.2. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios donde se comparen las diferentes especies de níspero para la elaboración de un vino, evaluando las características sensoriales y fisicoquímicas.
- Se recomienda realizar un análisis del acondicionamiento de la pulpa, usando variantes de antioxidantes, con la finalidad de mejorar la estabilidad oxidativa.
- Investigar sobre la maceración en vino con diferentes fuentes vegetales, variando su composición y determinando diferencias destacables en cuanto a su aceptabilidad sensorial, analizando las características fisicoquímicas o funcionales.
- Considerar el estudio de las diferentes técnicas de clarificación y estabilización para el vino de níspero.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C 10.041/84. (2005). *pH determination in samples*. Official methods of analysis of the AOAC International, 5-8.
- A.O.A.C. 31.231/84, 942.15/90. (1998). *Análisis de alimentos*. Recuperado el 5 de marzo del 2022 de <file:///C:/Users/USER/Downloads/ACCEFVN-AC-spa-1998-Analisis%20de%20alimentos..pdf>
- Alava, C. (2020). *Caracterización físico-químico y sensorial en cascarilla de cacao (Theobroma cacao L.) nacional trinitario para la elaboración de una bebida alcohólica*. En Trabajo de titulación publicada. Universidad Estatal de Quevedo. Quevedo, Ecuador.
- Alvarado et al. (2014). *Sustancias aromáticas en el cacao cosechado en la zona de Rio Anus, Municipio Sucre, Estado Portuguesa*. Sucre, Venezuela: UNELLEZ.
- Anecacao. (2015). *Asociación Nacional de Exportadores de cacao- Ecuador*. Recuperado el 8 de octubre del 2021 de <http://www.anecacao.com/index.php/es/quienes-somos/cacao-nacional.html>
- AOAC 932.14. (1932). *Solids in Syrups*. Official methods of analysis of the AOAC International, 1-5.
- AOAC 968.30. (2009). *Método General del Codex- Gravimetría, frutas y hortalizas*. Official methods of analysis of the AOAC International, 6-10.
- Araujo, C. B. (2019). *Perfil físicoquímico de vino blanco producido con cepas resultantes de la fusión de protoplastos de levaduras (Saccharomyces Cerevisiae y Hanseniaspora Guilliermondii)*. Revista Bases de la Ciencia, 1-20.

- Bastidas, M. (2011). *Obtención de licor de Coca (Erythroxylum coca)*. En Tesis de grado publicada. Universidad Nacional del Centro de Perú. Perú.
- Baviera, J., Perez, E., y Garcia, D. (2020). *Metodo de alcalinizacion de cacao y producto de cacao obtenido mediante dicho metodo*. Recuperado el 10 de agosto del 2021 de <https://patents.google.com/patent/ES2741647A1/es>
- Bedoya, E., Gomez, E., Salcedo, J., y Luján, D. (2005). *Producción de vino de naranja dulce (Citrus sinensis Osbeck) por fermentación inducida comparando dos cepas de Saccharomyces cerevisiae*. *Temas Agrarios*, 26-34.
- Bernardi, A. M. (2013). *Selección de levaduras vínicas provenientes de la provincia de mendoza*. Recuperado el 10 de agosto del 2021 de https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/5049/tesisbernardi.pdf
- Cabrera, S., Cuenca, M., y Quicazán, M. (2012). *Efecto de la proporción de pulpa en el mosto para la producción de bebida alcohólica de guayaba (Psidium guajava)*. Recuperado el 11 de noviembre del 2021 de https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=efecto+de+la+proporci%e2%80%9dn+de+pulpa+en+el+mosto+para+la+producci%e2%80%9dn+de+bebida+alcoh%e2%80%9dlica+de+guayaba+%28psidium+guajava%29&btnq=#d=gs_cit&t=1656613467200&u=%2fscholar%3fq%3din%3a7
- Cantwell, M., y Suslow, T. (2002). *Recommendations for Maintaining Postharvest Quality*. Postharvest Center, 12-30.
- Capell, J. (1954). *Estudio de la acidez en el vino*. Canales de la Escuela de Peritos Agrícolas y de Especialidades Agropecuarias y de los Servicios Técnicos de Agricultura, 119-232.
- Carpio, E., Matute, L., y Campo, M. (2017). *Caracterización físico-química de la cascarilla de Theobroma cacao L, variedades Nacional y CCN-51*. En Investigación publicada. Universidad Técnica de Machala. Machala, Ecuador: Editorial UTMACH (Universidad Técnica de Machala). (págs. 25-58)
- Case, C. (2004). *Composición del mucilago de cacao*. Obtenido de <http://accounts.smccd.edu/case/chocolate.html>
- Castino, M. (1994). *Vino bianchi tecnologia di produzione*. *Edagricole*, 67-70.

- Catania, C., y Avagnina, S. (2007). *Implicancias organolépticas de los polifenoles del vino*. En Curso superior de degustación de vinos. Mendoza, Argentina.
- Cazorla, J., Vayreda, M., y Romero, R. (2005). *Técnicas usuales de análisis en enología*. Panreac Química.
- Challo, C. (2021). *Determinación de metanol y etanol por cromatografía de gases en vinos tintos elaborados en el distrito*. Recuperado el 5 de enero del 2022 de file:///C:/Users/USER/Downloads/1875_2021_challo_chata_ruben_facst_farmacologia_y_bioquimica.pdf
- Chóez, T. (2017). *Vino de cacao: una propuesta novedosa para la utilización de los desechos del cacao (doctoral dissertation)*. En Tesis de grado publicada. Universidad Layca Eloy Alfaro. Manabí.
- Dos Santos, R., Arge, L., Costa, S., Machado, N., de Mello-Farias, P., Rombaldi, C., y Oliveira, A. (2015). *Genetic regulation and the impact of omics in fruit ripening*. *Planta ómica*, 78-88.
- Erazo, C. (2019). *“Diseño de un fermentador y secador solar piloto, para dos variedades de cacao (theobroma cacao l), en el cantón el empalme provincia guayas”*. Recuperado el 5 de agosto del 2021 de <https://repositorio.uisek.edu.ec/bitstream/123456789/3361/1/FERMENTACION%20DE%20CACAO.pdf>
- Fanzone, M. (2012). *Caracterización de la composición fenólica de uvas y vinos de la variedad Malbec (Vitis vinifera L.): su relación con el origen geográfico, factores vitivinícolas y valor comercial*. En Tesis de grado Publicada. Universidad de la Rioja. España.
- Fermentis. (2015). Hoja de especificación técnica. *La cepa para condiciones extremas*, 1-2.
- Flores, K. C. (2015). *Características generales del níspero*. Recuperado el 20 de agosto del 2021 de <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/6704/T20483%20CASTRO%20FLORES%2C%20KARLA%20ANAI%20%20%2063394.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

- Fonseca, A., Fuenmayor, A., Gomez, A., Angarita, V., y Prieto, A. (2014). *Obtención de un vino de mesa a base de la fermentación controlada del níspero*. San Francisco.
- Galarza, A., y Aguilar, H. (2010). *Industrialización del níspero fruta tropical de la costa ecuatoriana (Provincia de Manabí)*. En Tesis de grado publicada. Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Ecuador.
- García, J. (2008). *Maridaje, enología y cata de vinos. Innovación y Cualificación*. Málaga, España: Innovación y cualificación.
- García, J., y Xiran, M. (2015). *Técnicas usuales de análisis en enología*. Recuperado el 11 de noviembre del 2021 de <https://www.laboaragon.com/docs/marcas/panreac/Enologia%20Manual%20de%20Tecnicas.pdf>
- García, P. (2017). *Contribución de las semillas y del raspón sobre la composición, color y calidad del vino tinto; influencia del sistema de vinificación y del tratamiento del racimo (Doctoral dissertation, Universitat Rovira i Virgili)*. Recuperado el 11 de noviembre del 2021 de <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/450873/TESI.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- García, Z., Florez, M., y Marrugo, L. (2016). *Elaboración y caracterización fisicoquímica de un vino joven de fruta de borojó (B patinoi Cuatrec)*. Ciencia, docencia y tecnología. 507-519.
- Gil, R., Navarro, A., y Besada, C. (2016). *Evaluación de azúcares y ácidos durante la maduración del níspero "Algerí", "Amadeo" y "Xirlero". Determinación del momento óptimo de recolección. Poscosecha - Transferencia Tecnológica*, 18-20.
- Gisbert, A., Soler, E., y Climent, D. (2015). *La prolífica precocidad de un árbol paradisíaco*. Metode, 1.
- Goldner, C. (2008). *Caracterización sensorial y físicoquímica de vinos Chardonnay y Malbec de distintas regiones vitivinícolas argentinas*. Recuperado el 20 de abril del 2022 de http://www.consultorastg.com/pdfs/TESIS_Goldner_MC.pdf

- Goya, M. (2013). *Obtención de una bebida alcohólica a partir de mucílago de cacao, mediante fermentación anaerobia en diferentes tiempos de inoculación*. En Tesis de grado publicada. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo, Ecuador.
- Guerrero, R., Puertas, B., Ortiz, V., y Cantos-Villar, E. (2015). *Sulfuroso en la Elaboración de Vinos. Alternativas*. Recuperado el 21 de marzo del 2022 de https://hortintl.cals.ncsu.edu/sites/default/files/articles/sulfuroso_elaboracion_vinos.pdf
- Gutiérrez, I. (2014). *Factores que condicionan la astringencia y el sabor amargo de los vinos tintos; influencia de la madurez de la uva y de las técnicas de crianza*. Recuperado el 15 de noviembre del 2021 de https://iriaf.castillalamancha.es/sites/iriaf.castillalamancha.es/files/publicacion/files/ivicam_proyect_fin_factores_astringencia.pdf
- Herrera Gaviria, C., y Ospina Medina, N. (2016). *"Nibs de cacao orgánico" para mercados verdes*. Recuperado el 15 de noviembre del 2021 de <https://core.ac.uk/download/pdf/84108685.pdf>
- Herrera, G. C., y Ospina, M. N. (2016). *Nibs de cacao orgánico*. Pereira: Programa de especialización en procesos industriales. Recuperado el 8 de noviembre del 2021 de <https://core.ac.uk/download/pdf/84108685.pdf>
- Hidalgo, G. (2017). *Elaboración de licor añejo con residuo de cascarilla y almendra de cacao nacional (Theobroma cacao L.)*. En Tesis de titulación publicada. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo, Ecuador.
- Huang, L. (2014). *Estudio sobre la construcción de la cepa de levadura de desacidificación y su aplicación en la elaboración de vino de níspero*. Recuperado el 20 de marzo del 2022 de <https://www.globethesis.com/?t=1221330401963672>
- INV N°C1. (2004). *VITIVINICULTURA*. Instituto Nacional de Vitivinicultura, 1-3. Recuperado el 12 de enero del 2022 de http://www.puntofocal.gov.ar/notific_otros_miembros/Arg/77_t.pdf
- Kunicka-Styczynska, A. (2009). *Glucose, L-Malic acid and pH effect on fermentation products in biological deacidification*. 319-322.

- Liendo, S. (2005). *Procesamiento del cacao para la fabricación de chocolate y sus subproductos*. Revista de difusión de tecnología agrícola, pecuaria, pesquera y acuícola., 1-4.
- Mariño, E. (1955). *Clarificación de vinos*. Madrid: Publicaciones de Capacitación Agrícola.
- Martínez, J., Banedes, L., y Llácer, G. (2000). *Descripción de Variedades de Níspero Japonés*. Valenciana, España: Generalitat Valenciana, Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación,.
- Method OIV-MA-AS314-01 . (2006). *COMPENDIUM OF INTERNATIONAL METHODS OF ANALYSIS - OIV*. Recuperado el 5 de enero del 2022 de <https://www.oiv.int/public/medias/2523/oiv-ma-as314-01.pdf>
- Méthode OIV-MA-AS311-01A. (2009). *RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV*. Recuperado el 5 de enero del 2022 de <https://www.oiv.int/public/medias/2330/oiv-ma-as311-01a.pdf>
- Murillo Viteri. (2022). *5 características de un buen vino tinto*. Bodegas Murillo Viteri Cenicero, 1-2.
- Naranjo, A. (2019). *Ingeniería básica para la elaboración de licor destilado a partir de Pimpinella Anisum*. En Tesis de grado publicada. Universidad de Sevilla. Sevilla.
- NTE INEN 1909. (2016). *FRUTAS FRESCAS. TOMATE DE ÁRBOL. REQUISITOS*. Norma técnica ecuatoriana, 6.
- NTE INEN 2 337. (2008). *Jugos, pulpas, concentrados, nectares, bebidas de frutas y vegetales. Requisitos*. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria, 1-8.
- NTE INEN 339. (1994). *Bebidas Alcohólicas Muestreo*. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria, 1-5.
- NTE INEN 340. (2016). *Bebidas alcohólicas. Determinación del contenido de alcohol etílico*. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria, 1-9.
- NTE INEN 341. (1978). *Bebidas alcohólicas. Determinación de la acidez*. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria, 1-3.

- NTE INEN 347. (2015). *Bebidas alcohólicas. Determinación de metanol*. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria, 1-7.
- NTE INEN 350. (1978). *Bebidas alcohólicas. Ensayo de catado*. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria, 1-7.
- NTE INEN 354. (1978). *Bebidas alcohólicas determinación de sulfatos en vinos*. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria, 1-3.
- NTE INEN 356. (1978). *Bebidas alcohólicas. Determinación de anhídrido sulfuroso total en vinos*. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria, 1-3.
- NTE INEN 371. (1987). *Bebidas alcohólicas vino. Clasificación y definiciones*. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria, 1-2.
- NTE INEN 374. (1987). *Bebidas alcohólicas. Vino de frutas. Requisitos*. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria, 1-2.
- NTE INEN 533. (2013). *Cacao. (Productos derivados). Determinación de ceniza total*. Norma Técnica Ecuatoriana Obligatoria, 1-3.
- Ocaña, I. (2012). *Estudio del vino de mora de castilla (Rubus Glaucus Benth) elaborado a tres proporciones distintas de fruta: agua y tres niveles de dulzor*. Ambato, Ecuador: Tesis de graduación publicada.
- Ochoa, J. (2019). *Asociacion nacional de exportadores de cacao-Ecuador*. Recuperado el 20 de octubre del 2021 de <http://www.anecacao.com/uploads/estadistica/cacao-ecuador-2019.pdf>
- OIV-MA-AS311-03. (2016). *RECUEIL DES METHODES INTERNATIONALES D'ANALYSES – OIV*. Recuperado el 11 de enero del 2022 de <https://www.oiv.int/public/medias/5153/oiv-ma-as311-03.pdf>
- OIV-MA-AS313-15. (2011). *RECUEIL INTERNATIONAL DES METHODES D'ANALYSES – OIV*. Recuperado el 20 de enero del 2022 de <https://www.oiv.int/public/medias/2363/oiv-ma-as313-15.pdf>
- Ordoñez et. alt. (2019). *Cuantificación de polifenoles totales y capacidad antioxidante en cáscara y semilla de cacao (Theobroma cacao L.), tuna (Opuntia ficus indica Mill), uva (Vitis Vinífera) y uvilla (Pourouma cecropiifolia)*. Scientia Agropecuaria, 175-183.

- Ortiz, K., y Álvarez, R. (2015). *Efecto del vertimiento de subproductos del beneficio de cacao (Theobroma cacao L.) Sobre algunas propiedades químicas y biológicas en los suelos de una finca cacaotera, municipio de Yaguará*. Boletín científico centro de museos, 20.
- Peña, A. (2006). *El color de los vinos*. Vendimia, 24-26.
- Peynaud, E. (1996). *Balance in wine. The taste of wine*. New York: Jhon Wiley & Sons, Inc.
- Pino, M. (2017). *Los Sistemas Participativos de Garantía en el Ecuador*. Revista Latinoamericana de Estudios Socioambientales, 120 - 145.
- Pozo-Bayón, M., y Moreno-Arribas, M. (2016). *Suplementos enológicos para la generación de aromas diferenciadores en el vino*. Recuperado el 10 de octubre del 2021 de <https://www.interempresas.net/Vitivinicola/Articulos/157396-Suplementos-enologicos-para-la-generacion-de-aromas-diferenciadores-en-el-vino.html>
- Pozo-Bayón, M., Muñoz-González, C., y Fernández, A. (2016). *Wine preference and Wine aroma perception*. Seguridad del vino, preferencia del consumidor y salud humana, Springer, Cham.
- Portillo, E., Labarca, M., Grazziani, L., Cros, E., Assemat, S., Davrieux, F., & Marcano, M. (2009). *Formación del aroma del cacao Criollo (Theobroma cacao L.) en función del tratamiento poscosecha en Venezuela*. Revista Científica UDO Agrícola, 458-468.
- Pszczółkowski, P. (2014). *Guía práctica para la elaboración de vinos*. En Manual de vinificación (págs. 19-56). Santiago, Chile: Ediciones UC.
- Quingaísa, E., y Riveros, H. (2007). *Estudio de caso: denominación de origen "Cacao Arriba"*. En Consultoría publicada. . Quito, Ecuador.
- Ramirez, M., Cuervo, J., y Romero, T. (2011). *El cultivo del cacao. Enfermedades y métodos de control*. Malaga, España: Editorial Académica Española.
- Ramos, D. (2008). *Desarrollo de cepas vínicas de Saccharomyces cerevisiae superproductoras de manoproteínas mediante técnicas de DNA recombinante, y su aplicación en enología*. Recuperado el 5 de agosto del 2021 de file:///C:/Users/USER/Downloads/14819_gonzalez_ramos_daniel.pdf

- Rankine, B. (2000). *Manual Práctico de Enología*. Zaragoza, España: Acribia.
- Reglamento (CEE) nº 2676/90 . (17 de Septiembre de 1990). *Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado*. Recuperado el 12 de marzo del 2022 de [https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-1990-81412#:~:text=L%2D1990%2D81412-,Reglamento%20\(CEE\)%20n%C2%BA%202676%2F90%20de%20la%20Comisi%C3%B3n%20de,en%20el%20sector%20del%20vino.&text=Publicado%20en%3A,a%20192%20\(192%20p%C3%A1gs.%20\)](https://www.boe.es/buscar/doc.php?id=DOUE-L-1990-81412#:~:text=L%2D1990%2D81412-,Reglamento%20(CEE)%20n%C2%BA%202676%2F90%20de%20la%20Comisi%C3%B3n%20de,en%20el%20sector%20del%20vino.&text=Publicado%20en%3A,a%20192%20(192%20p%C3%A1gs.%20))
- Ribéreau, P. G. (2006). *Clarifying wine by filtration and centrifugation*. En *Handbook of Enology*. Chicago, USA: Willey. 10- 306
- Riveros, H. (2007). *ESTUDIO DE CASO: DENOMINACION DE CACAO ARRIBA*. Recuperado el 10 de octubre del 2021 de https://www.fao.org/fileadmin/templates/olq/documents/Santiago/Documentos/Estudios%20de%20caso/Cacao_Ecuador.pdf
- Romojaro, A. (2006). Biosíntesis y acción del etileno. En *Mecanismos reguladores de la maduración de los frutos climatéricos*. Murcia: Compobell S.L. 39-67
- Ruiz de Angulo, J. (2014). *Agromatica*. Recuperado el 5 de noviembre del 2021 de <https://www.agromatica.es/nispero-comun-mespilus-germanica-l/>
- Ruiz, H. O. (2011). *Desarrollo de un vino de mortiño (arándanos) en la corporación grupo salinas de Ecuador*. Recuperado el 18 de marzo del 2022 de <https://core.ac.uk/download/pdf/10850641.pdf>
- Salazar, G. (2010). "Estudio de la influencia de tres variedades de Levaduras vínicas (*saccharomyces bayanus* (*lalvin Ec1118*), *Saccharomyces Bayanus* (*lalvin Qa23*), *Saccharomyces cerevisiae* var. *cerevisiae* (*lalvin opale*)) y levadura de panificación (*saccharomyces cerevisiae*). Recuperado el 10 de octubre del 2021 de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/852/1/AL440%20Ref.%203286.pdf>
- Sánchez, L. (2015). *Determinación de metanol en bebidas alcohólicas fermentadas tradicionales y populares de mayor consumo en dos regiones de la república de Guatemala por cromatografía de gases (Doctoral dissertation)*.

Recuperado el 11 de octubre del 2021 de
https://scholar.google.es/scholar?hl=es&as_sdt=0%2C5&q=DETERMINACI%C3%93N+DE+METANOL+EN+BEBIDAS+ALCOH%C3%93LICAS+FERMENTADAS+TRADICIONALES+Y+POPULARES+DE+MAYOR+CONSUMO+EN+DOS+REGIONES+DE+LA+REP%C3%9ABLICA+DE+GUATEMALA+POR+CROMATOGRAF%C3%8DA+DE+GASES+&btnG

Serrano, R. (2006). *Mecanismo de adaptación de la Saccharomyces*. Recuperado el 25 de octubre del 2021 de
<https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/3555/rsc1de1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Sierra, C. A. (2010). "*Estudio de la fruta níspero, propiedades, producción, propuesta gastronómica y difusión*". Recuperado el 15 de febrero del 2022 de
https://node2.123dok.com/dt02pdf/123dok_es/000/808/808927.pdf.pdf?X-Amz-Content-Sha256=UNSIGNED-PAYLOAD&X-Amz-Algorithm=AWS4-HMAC-SHA256&X-Amz-Credential=aa5vJ7sqx6H8Hq4u%2F20220807%2F%2Fs3%2Faws4_request&X-Amz-Date=20220807T225734Z&X-Amz-SignedHeaders=ho

Smith, J. (2021). *¿El vino tinto es bueno para ti?* Medical News Today, págs. 1-2.

Sroka y Tuszyński. (2007). *Changes in organic acid contents during mead wort fermentation*. Krakon, Polonia: Food Chemistry.

Suárez, C., Garrido, N., & Guevara, C. (2016). *Levadura Saccharomyces cerevisiae y la producción de alcohol*. Recuperado el 11 de octubre del 2021 de
<https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420004.pdf>

Taleno Flores, M. G. (2016). *Elaboración de un nuevo producto a base de grano de Cacao obteniendo como producto final Vino en la UNAN-FAREM*. Obtenido de <https://repositorio.unan.edu.ni/3830/1/11070.pdf>

Tapia, K. (2016). *Estudio de vino de manzana variedad Emilia (Malus communis-Reineta Amarilla de Blenheim) a diferentes concentraciones de fruta y grados de dulzor*. Recuperado el 12 de agosto del 2021 de
<https://redi.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/19942/1/AL596.pdf+&cd=11&hl=es-419&ct=clnk&gl=ec>

- Torija, M. (2002). *Ecología de levaduras: Selección y adaptación a fermentaciones vínicas (Doctoral dissertation, Universitat Rovira i Virgili)*. Recuperado el 12 de agosto del 2021 de <https://www.tesisenred.net/bitstream/handle/10803/8643/Tesismjt.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Torres, C. (1995). *Elaboración de vino de Ciruela (Spondias purpurea L.)*. Ciencia & Desarrollo, 61-66.
- Torres, L. (2019). *El níspero como ingrediente del patrimonio gastronómico*. Recuperado el 5 de agosto del 2021 de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/30919/1/1804476065%20Lis sette%20Verenice%20Torres%20Y%C3%A1nez-convertido.pdf>
- Undurraga, M., Olaeta, C., & Cancino, C. (2011). *Ethylene, enzymatic and respiratory pattern evolution in loquat (eriobotrya japonica (thunb.) Lindl.) Cv. Golden nugget in the last four sequential stages of maturation*. ChileanJar, 531-532.
- Vasquez et al. (2016). *Alcaloides y polifenoles del cacao, mecanismos que regulan su biosíntesis y sus implicaciones en el sabor y aroma*. Yucatán, México: Archivos latinoamericanos de nutrición.
- Villamor, R. (2012). *The impact of wine components on the chemical and sensory properties of wines*. En Tesis doctoral publicada. Universidad Estatal de Washington. Washington, Estados Unidos.
- Vinetur. (2022). *El comercio mundial de vino alcanza su récord histórico: 34.300 millones de euros*. págs. 2-3.
- Vivanco, E., Matute, L., & Campo, M. (diciembre de 2017). *Caracterización físico-química de la cascarilla de Theobroma cacao L, variedades Nacional y CCN-51*. Recuperado el 11 de julio de 2021 de <https://investigacion.utmachala.edu.ec/proceedings/index.php/utmach/article/view/309/253>
- Watada, A., Hemer, R., Kader, A., Romani, R., & Staby, G. (1984). *Terminology for the description of developmental stages*. HortSc, 20-21.
- Yéramian, N., Chaya, C., & Suárez, J. (2007). *Malic acid production by Saccharomyces spp. during the alcoholic fermentation of wine (1)*. Journal of

agricultural and food chemistr. Journal of agricultural and food chemistry,
912-919.

VII. ANEXOS

Anexo A. Acta de sustentación de predefensa de TIC



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE ALIMENTOS

ACTA

DE LA SUSTENTACIÓN ORAL DE LA PREDEFENSA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

ESTUDIANTE:	Tapia Herrera Angie Veruzca	CÉDULA DE IDENTIDAD:	0401593892
PERIODO ACADÉMICO:	2022 A		
PRESIDENTE TRIBUNAL:	MSC. CARLOS ALBERTO RIVAS ROSERO	DOCENTE TUTOR:	MSC. CARLOS ARTURO PAREDES PITA
DOCENTE:	PhD. FRANCISCO DOMÍNGUEZ		
TEMA DEL TIC:	"Elaboración de vino a base de níspero (<i>Eriobotrya japonica</i>) y nibs de cacao arriba (<i>Theobroma cacao</i> L.) mediante el uso de dos variedades de levaduras vinicas"		
No.	CATEGORÍA	Evaluación cuantitativa	OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES
1	PROBLEMA - OBJETIVOS	8,00	Mejorar la justificación, organizar la información, y complementar.
2	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	8,00	Complementar la información sobre la maduración de frutos, características, e información sobre levaduras utilizadas
3	METODOLOGÍA	8,33	
4	RESULTADOS	7,33	Mejorar la presentación de los gráficos
5	DISCUSIÓN	7,67	Mejorar la argumentación de los resultados obtenidos
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	6,33	Mejorar la redacción y colocar hechos concretos y deben estar relacionados con los objetivos
7	DEFENSA, ARGUMENTACIÓN Y VOCABULARIO PROFESIONAL	7,00	Mejorar la argumentación a las preguntas formuladas por el tribunal, complementar la exposición del documento (Nibs de cacao)
8	FORMATO, ORGANIZACIÓN Y CALIDAD DE LA INFORMACIÓN	7,33	Corregir todo el documento de acuerdo al formato establecido, y corregir las faltas de ortográficas.

Obteniendo una nota de: **7,47** Por lo tanto, **APRUEBA**; debiendo el o los Investigadores acatar el siguiente artículo:

Art. 36.- De los estudiantes que aprueban el informe final del TIC con observaciones.- Los estudiantes tendrán el plazo de 10 días para proceder a corregir su informe final del TIC de conformidad a las observaciones y recomendaciones realizadas por los miembros del Tribunal de sustentación de la pre-defensa.

Para constancia del presente, firman en la ciudad de Tulcán el **lunes, 24 de octubre de 2022**


MSC. CARLOS ALBERTO RIVAS ROSERO
PRESIDENTE TRIBUNAL


MSC. CARLOS ARTURO PAREDES PITA
DOCENTE TUTOR


PhD. FRANCISCO DOMÍNGUEZ
DOCENTE

Anexo B. Certificado de validación del abstract por parte del centro de idiomas



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI
FOREIGN AND NATIVE LANGUAGE CENTER**

ABSTRACT- EVALUATION SHEET				
NAME: Tapia Herrera Angie Veruzca				
DATE: 6 de octubre de 2022				
TOPIC: "Elaboración de vino a base de níspero (Eriobotrya japónica) y nibs de cacao arriba (Theobroma cacao L) mediante el uso de dos variedades de levaduras vínicas"				
MARKS AWARDED QUANTITATIVE AND QUALITATIVE				
VOCABULARY AND WORD USE	Use new learnt vocabulary and precise words related to the topic	Use a little new vocabulary and some appropriate words related to the topic	Use basic vocabulary and simplistic words related to the topic	Limited vocabulary and inadequate words related to the topic
	EXCELLENT: 2 <input checked="" type="checkbox"/>	GOOD: 1 Vera Játiva Edwin Andrés,5 <input type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
WRITING COHESION	Clear and logical progression of ideas and supporting paragraphs.	Adequate progression of ideas and supporting paragraphs.	Some progression of ideas and supporting paragraphs.	Inadequate ideas and supporting paragraphs.
	EXCELLENT: 2 <input checked="" type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
ARGUMENT	The message has been communicated very well and identify the type of text	The message has been communicated appropriately and identify the type of text	Some of the message has been communicated and the type of text is little confusing	The message hasn't been communicated and the type of text is inadequate
	EXCELLENT: 2 <input checked="" type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
CREATIVITY	Outstanding flow of ideas and events	Good flow of ideas and events	Average flow of ideas and events	Poor flow of ideas and events
	EXCELLENT: 2 <input type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input checked="" type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
SCIENTIFIC SUSTAINABILITY	Reasonable, specific and supportable opinion or thesis statement	Minor errors when supporting the thesis statement	Some errors when supporting the thesis statement	Lots of errors when supporting the thesis statement
	EXCELLENT: 2 <input type="checkbox"/>	GOOD: 1,5 <input checked="" type="checkbox"/>	AVERAGE: 1 <input type="checkbox"/>	LIMITED: 0,5 <input type="checkbox"/>
TOTAL/AVERAGE	9 - 10: EXCELLENT 7 - 8,9: GOOD 5 - 6,9: AVERAGE 0 - 4,9: LIMITED		TOTAL 9	



**UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL
CARCHI FOREIGN AND NATIVE LANGUAGE
CENTER**

Informe sobre el Abstract de Artículo Científico o Investigación.

Autor: Tapia Herrera Angie Veruzca

Fecha de recepción del abstract: 6 de octubre de 2022

Fecha de entrega del informe: 6 de octubre de 2022

El presente informe validará la traducción del idioma español al inglés si alcanza un porcentaje de: 9 – 10 Excelente.

Si la traducción no está dentro de los parámetros de 9 – 10, el autor deberá realizar las observaciones presentadas en el ABSTRACT, para su posterior presentación y aprobación.

Observaciones:

Después de realizar la revisión del presente abstract, éste presenta una apropiada traducción sobre el tema planteado en el idioma Inglés. Según los rubrics de evaluación de la traducción en Inglés, ésta alcanza un valor de 9, por lo cual se valida dicho trabajo.

Atentamente



Ing. Edison Peñañiel Arcos MSc
Coordinador del CIDEN

Anexo C. Requisitos de vino de frutas establecidos por la norma INEN

NTE INEN 374

2016-11

BEBIDAS ALCOHÓLICAS VINO DE FRUTAS REQUISITOS

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma establece los requisitos para el vino de frutas.

2. REFERENCIAS NORMATIVAS

Los siguientes documentos, en su totalidad o en parte, son indispensables para la aplicación de este documento. Para referencias fechadas, solamente aplica la edición citada. Para referencias sin fecha, aplica la última edición (incluyendo cualquier enmienda).

NTE INEN-CODEX 192, *Norma general del Codex para los aditivos alimentarios (MOD)*

NTE INEN 339, *Bebidas alcohólicas. Muestreo.*

NTE INEN 360, *Bebidas alcohólicas. Determinación del grado alcohólico en vinos.*

NTE INEN 356, *Bebidas alcohólicas. Determinación de anhídrido sulfuroso total en vinos.*

NTE INEN 1933, *Bebidas alcohólicas. Rotulado. Requisitos.*

OIV-MA-AS313-01, *Total acidity*

OIV-MA-AS313-02, *Volatile Acidity*

OIV-MA-AS311-01A, *Reducing substances*

OIV-MA-AS312-03A, *Methanol*

OIV-MA-AS314-01, *Dioxide de carbone*

3. TÉRMINOS Y DEFINICIONES

Para los efectos de esta norma, se adoptan las siguientes definiciones que a continuación se detallan:

3.1

vino de frutas

Bebida obtenida de la fermentación alcohólica completa o parcial de frutas, o del jugo concentrado de frutas.

4. CLASIFICACIÓN

4.1 Vino de frutas según el contenido de azúcar añadida después de la fermentación:

4.1.1 Vino seco de frutas.

4.1.2 Vino semidulce (semiseco) de frutas.

4.1.3 Vino dulce de frutas.

4.2 Vino según los gases disueltos.

2016-778

1

4.2.1 Vino espumoso (espumante) de frutas.

4.2.2 Vino gasificado (carbonatado) de frutas.

5. REQUISITOS

5.1 El vino de frutas debe tener color y aroma característicos, de acuerdo a la clase de frutas utilizadas.

5.2 El vino de frutas debe cumplir con los requisitos físicos y químicos indicados en la Tabla 1.

TABLA 1. Requisitos físicos y químicos para el vino de frutas

Requisitos	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Alcohol, fracción volumétrica	%	6,0	-	NTE INEN 360
Acidez volátil, como ácido acético	g/L	-	1,5	OIV-MA-AS313-02
Acidez total, como ácido tartárico	g/L	3,5	-	OIV-MA-AS313-01
Anhídrido sulfuroso total	mg/L*	-	400,0	NTE INEN 356
Metanol	mg/L *	-	1000,0	OIV-MA-AS312-03A
Contenido de azúcares	g/L			
- Vino seco		-	25,0	OIV-MA-AS311-01A ^a
- Vino semidulce		25,1	50,0	
- Vino dulce		50,1	-	
Contenido de CO ₂ a 20 °C				
- Vino espumoso	kPa	300,0	-	OIV-MA-AS314-01
- Vino gasificado	kPa	-	350,0	

* El volumen de 1 L corresponden al volumen real del vino de frutas

^a Tolerancia de ± 3 g/L en la determinación analítica

NOTA. En el caso de que sean usados métodos de ensayo alternativos a los señalados en la tabla, estos deben ser oficiales. En el caso de no ser un método oficial, este debe ser validado.

5.3 El contenido de aditivos alimentarios en el vino de frutas debe cumplir lo establecido en NTE INEN-CODEX 192.

6. MUESTREO

El muestreo debe realizarse de acuerdo a NTE INEN 339.

7. ROTULADO

El rotulado debe realizarse de acuerdo a NTE INEN 1933.

Norma Técnica Ecuatoriana	BEBIDAS ALCOHOLICAS DETERMINACIÓN DEL GRADO ALCHOOLICO EN VINOS	NTE INEN 360 1978-04
<p style="text-align: center;">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el grado alcohólico en vinos.</p> <p style="text-align: center;">2. TERMINOLOGIA</p> <p>2.1 Grado alcohólico. Es el volumen de alcohol etílico, expresado en centímetros cúbicos, contenido en 100 cm³ de vino, a 20°C.</p> <p style="text-align: center;">3. RESUMEN</p> <p>3.1 Destilar la muestra y determinar por picnometría la densidad del destilado llevado a volumen inicial. Determinar el grado alcohólico basándose en la densidad y usando las tablas correspondientes.</p> <p style="text-align: center;">4. INSTRUMENTAL</p> <p>4.1 <i>Aparato de destilación</i> (ver Figura 1), compuesto por:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) matraz de destilación, de 1 000 cm³ de capacidad, con fondo redondo; b) disco de amianto, con un orificio de 8 cm de diámetro para apoyar el balón; c) columna de rectificación de 20 cm de longitud que se ajusta a la boca del balón; d) refrigerante de Liebig, de longitud igual o mayor a 400 mm; e) tubo de vidrio apropiado para conducir el destilado al fondo del matraz volumétrico; f) baño de agua, con hielo, en el cual debe sumergirse el matraz volumétrico; g) tubo de vidrio de 4lgado, de aproximadamente 6 mm de diámetro interno y de dimensiones: 100 mm x 300 mm x 100 mm; y, h) fuente eléctrica de calentamiento con regulador de temperatura. <p>4.2 <i>Matraz volumétrico</i>, de 200 cm³.</p> <p>4.3 <i>Picnómetro</i>, de 50 cm³, de vidrio Pyrex.</p> <p>4.4 <i>Núcleos de ebullición</i>.</p> <p>4.5 <i>Bao de agua</i>, con regulador de temperatura.</p> <p>4.6 <i>Termómetro</i>, graduado en décimas de grado Celsius (°C), con es cala adecuada para el ensayo (de 10°C a 30°C).</p> <p>4.7 <i>Balanza analítica</i>, sensible al 0,1 mg.</p> <p style="text-align: right;"><i>(Continúa)</i></p>		

5. REACTIVOS

- 5.1 *Suspensión de hidróxido de calcio*, que contenga 120 g de óxido de calcio por litro.
- 5.2 *Solución al 1^o de fenolftaleína*, en alcohol de 95%.
- 5.3 *Solución al 10% de ácido sulfúrico*.
- 5.4 *Solución al 1% o de silicona*.
- 5.5 *Agua destilada*.
- 5.6 *Solución sulfocrómica*.
- 5.7 *Etanol*
- 5.8 *Eter etílico*.

6. PREPARACION DE LA MUESTRA

- 6.1 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.

7. PROCEDIMIENTO

- 7.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra.
- 7.2 Determinar y anotar la temperatura a la que se encuentra la muestra que debe analizarse.
- 7.3 Transferir 200 cm³ de muestra al matraz de destilación y colocar núcleos de ebullición.
- 7.4 Agregar la suspensión de hidróxido de calcio para alcalinizar el medio, lo que puede comprobarse mediante el uso de la solución de fenolftaleína.
- 7.5 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.
- 7.6 Desechar el líquido remanente del matraz de destilación y lavarlo; transferir a este matraz el destilado obtenido; lavar el matraz volumétrico colector con cinco porciones de agua destilada, transfiriendo los líquidos de lavado al matraz de destilación.
- 7.7 Añadir 1 cm³ de la solución al 10% de ácido sulfúrico y colocar núcleos de ebullición; armar el aparato.

(Continúa)

CONTENIDO REAL DE ALCOHOL ETÍLICO EN FUNCIÓN DEL CONTENIDO APARENTE DE ALCOHOL ETÍLICO Y LA TEMPERATURA

Temperatura °C	Contenido aparente de alcohol etílico																								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25
	Contenido real de alcohol etílico a 20 °C																								
10	1,8	2,9	3,9	4,9	6,0	7,1	8,1	9,2	10,3	11,4	12,6	13,7	14,9	16,0	17,2	18,4	19,6	20,8	22,0	23,1	24,3	25,5	26,6	27,7	28,8
11	1,8	2,8	3,8	4,9	5,9	7,0	8,1	9,1	10,2	11,3	12,4	13,6	14,7	15,9	17,0	18,2	19,3	20,5	21,7	22,8	24,0	25,1	26,2	27,3	28,4
12	1,7	2,7	3,6	4,8	5,9	6,9	8,0	9,0	10,1	11,2	12,3	13,4	14,5	15,7	16,6	17,9	19,1	20,2	21,4	22,5	23,6	24,7	25,8	26,9	28,0
13	1,7	2,7	3,7	4,7	5,8	6,8	7,9	8,9	10,0	11,1	12,2	13,3	14,0	15,5	16,6	19,7	18,8	19,9	21,1	22,2	23,3	24,4	25,5	26,6	27,6
14	1,6	2,6	3,6	4,7	5,7	6,7	7,8	8,8	9,9	11,0	12,0	13,1	14,2	15,3	16,4	17,5	18,6	19,7	20,0	21,9	23,0	24,0	25,1	26,2	27,2
15	1,5	2,5	3,5	4,6	5,6	6,6	7,7	8,7	9,8	10,8	11,9	12,9	14,0	15,1	16,2	17,2	18,3	19,4	20,5	21,6	22,6	23,7	24,8	25,8	26,9
16	1,4	2,4	3,5	4,5	5,5	6,5	7,6	8,6	9,6	10,7	11,7	12,8	13,8	14,9	15,9	17,0	18,1	19,1	20,2	21,2	22,3	23,4	24,4	25,4	26,5
17	1,3	2,3	3,4	4,4	5,4	6,4	7,4	8,4	9,5	10,5	11,5	12,6	13,6	14,7	15,7	16,7	17,8	18,8	19,9	20,9	22,0	23,0	24,1	25,1	26,1
18	1,2	2,2	3,2	4,3	5,3	6,3	7,3	8,3	9,3	10,3	11,4	12,4	13,4	14,4	15,5	16,5	17,5	18,6	19,6	20,6	21,6	22,7	23,7	24,7	25,7
19	1,1	2,1	3,1	4,1	5,1	6,1	7,1	8,2	9,2	10,2	11,2	12,2	13,2	14,2	15,2	16,3	17,3	18,3	19,3	20,3	21,3	22,3	23,3	24,4	25,4
20	1,0	2,0	3,0	4,0	5,0	6,0	7,0	8,0	9,0	10,0	11,0	12,0	13,0	14,0	15,0	16,0	17,0	18,0	19,0	20,0	21,0	22,0	23,0	24,0	25,0
21	0,9	1,9	2,9	3,9	4,9	5,9	6,6	7,8	8,8	9,8	10,8	11,8	12,8	13,8	14,8	15,7	16,7	17,7	18,7	19,7	20,7	21,7	22,7	23,6	24,6
22	0,7	1,7	2,7	3,7	4,7	5,7	6,7	7,7	8,7	9,6	10,6	11,6	12,6	13,5	14,5	15,5	16,5	17,4	18,4	19,4	20,4	21,3	22,3	23,3	24,3
23	0,6	1,6	2,6	3,6	4,6	5,5	6,5	7,5	8,5	9,4	10,4	11,4	12,3	13,3	14,3	15,2	16,2	17,2	18,1	19,1	20,0	21,0	22,0	22,9	23,9
24	0,5	1,5	2,4	3,4	4,4	5,4	6,3	7,3	8,3	9,2	10,2	11,2	12,1	13,1	14,0	15,0	15,9	16,9	17,8	18,8	19,7	20,7	21,6	22,6	23,6
25	0,3	1,3	2,3	3,3	4,2	5,2	6,2	7,1	8,1	9,0	10,0	10,9	11,9	12,8	13,8	14,7	15,6	16,6	17,5	18,5	19,4	20,3	21,3	22,2	23,2
26	0,2	1,1	2,1	3,1	4,1	5,0	6,0	6,9	7,9	8,8	9,8	10,7	11,7	12,6	13,5	14,4	15,4	16,3	17,2	18,1	19,1	20,0	20,9	21,9	22,8
27		1,0	1,9	2,9	3,9	4,8	5,8	6,7	7,7	8,6	9,6	10,5	11,4	12,3	13,3	14,2	15,1	16,0	16,9	17,8	18,8	19,7	20,6	21,5	22,5
28		0,8	1,8	2,7	3,7	4,6	5,6	6,5	7,5	8,4	9,3	10,3	11,2	12,1	13,0	13,9	14,8	15,7	16,6	17,5	18,4	19,3	20,3	21,2	22,1
29		0,6	1,6	2,5	3,5	4,4	5,4	6,3	7,3	8,2	9,1	10,0	10,9	11,8	12,7	13,6	14,5	15,4	16,3	17,2	18,1	19	19,9	20,8	21,8
30		0,5	1,4	2,4	3,3	4,2	5,2	6,1	7,0	8,0	8,9	9,8	10,7	11,6	12,5	13,4	14,2	15,1	16,0	16,9	17,8	18,7	19,6	20,5	21,4

<p>Norma Técnica Ecuatoriana</p>	<p align="center">BEBIDAS ALCOHOLICAS DETERMINACION DE LA ACIDEZ</p>	<p align="right">INEN 341 1978-03</p>
<p align="center">1. OBJETO</p> <p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar la acidez en bebidas alcohólicas destiladas.</p> <p align="center">2. ALCANCE</p> <p>2.1 Esta norma establece el método para determinar la acidez total, la acidez fija y la acidez volátil.</p> <p align="center">3. DEFINICIONES</p> <p>3.1 <i>Acidez total.</i> Es la suma de los ácidos valorables obtenida cuando se lleva la bebida alcohólica a neutralidad (pH: 7), por adición de una solución alcalina.</p> <p>3.2 <i>Acidez volátil.</i> Es la suma de los ácidos volátiles valorables por neutralización de la bebida alcohólica, usando una solución alcalina.</p> <p>3.3 <i>Acidez fija.</i> Es la suma de los ácidos fijos valorables por neutralización de la bebida alcohólica, usando una solución alcalina.</p> <p align="center">4. RESUMEN</p> <p>4.1 Determinar la acidez total y la acidez fija mediante titulación con hidróxido de sodio y, por diferencia, establecer el valor de la acidez volátil.</p> <p align="center">5. INSTRUMENTAL</p> <p>5.1 <i>Matraz Erlenmeyer</i>, de 500 cm³.</p> <p>5.2 <i>Crisol de platino</i>, o de porcelana, de 50 cm³.</p> <p>5.3 <i>Baño de vapor.</i></p> <p>5.4 <i>Estufa</i>, con regulador de temperatura.</p> <p>5.5 <i>Bureta</i>, de 10 cm³ con graduación de 0,05 cm³.</p> <p>5.6 <i>Pipeta volumétrica</i>, de 25 cm³.</p>		

Instituto Ecuatoriano de Normalización, INEN - Casilla 17-01-3999 - Baquerizo Moreno E8-29 y Almagro - Quito-Ecuador - Prohibida la reproducción

6. REACTIVOS

6.1 *Solución 0,1 N de hidróxido de sodio*, debidamente valorada.

6.2 *Solución indicador de fenolftaleína*, solución alcohólica al 1%.

6.3 *Alcohol neutro*.

6.4 *Agua destilada*.

7. PROCEDIMIENTO

7.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra.

7.2 Determinación de la acidez total.

7.2.1 Colocar 250 cm³ de agua destilada, recientemente hervida y neutralizada, en un matraz Erlenmeyer de 500 cm³ y añadir 25 cm³ de muestra y 5 gotas de la solución de fenolftaleína; proceder a titular, utilizando la bureta, con la solución 0,1 N de hidróxido de sodio.

7.3 Determinación de la acidez fija.

7.3.1 Evaporar a sequedad 25 cm³ de muestra contenidos en un crisol de platino o de porcelana, sobre un baño de vapor.

7.3.2 Colocar el crisol y su contenido en la estufa, a 100°C, durante 30 min.

7.3.3 Disolver y transferir el residuo seco utilizando porciones de alcohol neutro (aproximadamente 25 cm³) a un matraz Erlenmeyer de 500 cm³, que debe contener 250 cm³ de agua destilada, recientemente hervida y neutralizada.

7.3.4 Adicionar 5 gotas de solución de fenolftaleína y proceder a titular, utilizando la bureta, con la solución 0,1 N de hidróxido de sodio.

8. CALCULOS

8.1 La acidez total en bebidas alcohólicas destiladas se determina utilizando la ecuación siguiente:

$$AT = 2,4 \frac{V_1}{G}$$

Siendo:

AT = acidez total, expresada como ácido acético, en gramos por 100 cm³ de alcohol anhidro.

V₁ = volumen de solución 0,1 N de hidróxido de sodio usado en la titulación, en centímetros cúbicos (ver 7.2.1).

G = grado alcohólico de la muestra (ver INEN 340).

8.2 La acidez fija se determina utilizando la ecuación siguiente:

$$AF = 2,4 \frac{V_2}{G}$$

Siendo:

AF = acidez fija, expresada como ácido acético, en gramos por 100 cm³ de alcohol anhidro.

V_2 = volumen de solución 0,1 N de hidróxido de sodio usado en la titulación, en centímetros cúbicos (ver 7.3.4).

G = grado alcohólico de la muestra (ver INEN 340).

8.3 La acidez volátil se determina utilizando la ecuación siguiente:

$$AV = AT - AF$$

Siendo:

AV = acidez volátil.

AT = acidez total.

AF = acidez fija.

9. ERRORES DE METODO

9.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 1%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

10. INFORME DE RESULTADO

10.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

10.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

10.3 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

Norma Técnica Ecuatoriana Voluntaria	BEBIDAS ALCOHOLICAS DETERMINACION DEL METANOL	INEN 347 1978-03
<p style="text-align: center;">1. OBJ ETO</p> <p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de metanol en bebidas alcohólicas destiladas.</p> <p style="text-align: center;">2. RESUMEN</p> <p>2.1 Determinar espectrofotométricamente el contenido de metanol en bebidas alcohólicas, usando ácido cromotrópico.</p> <p style="text-align: center;">3. INSTRUMENTAL</p> <p>3.1 Aparato para destilación (ver figura 1), compuesto por:</p> <ul style="list-style-type: none"> a) matraz de destilación, con fondo redondo y de 1 000 cm³ de capacidad b) malla de asbesto c) fuente eléctrica de calentamiento, con regulador de temperatura, d) tubo de vidrio delgado, de 6 mm de diámetro interno aproximadamente y de 30 mm x 300 mm x 150 mm, dimensiones: e) refrigerante de Liebig, de longitud igual o mayor a 400 mm, f) tubo de vidrio adecuado para dirigir el destilado al recipiente colector, g) matraz volumétrico de 250 cm³ h) baño de agua, con hielo, en el que debe sumergirse el matraz volumétrico. <p>3.2 <i>Espectrofotómetro</i></p> <p>3.3 <i>Pipeta volumétrica, de 1 y 2 cm³</i></p> <p>3.4 <i>Matraz volumétrico, de 50 cm³ y de 250 cm³</i></p> <p>3.5 Baño de agua, con temperatura constante en 15 ± 0,5 °C, de profundidad igual o superior a 30 cm.</p> <p>3.6 <i>Termómetro, graduado en décimas de grado Celsius (°C).</i></p> <p style="text-align: center;">4. REACTIVOS</p> <p>4.1 <i>Solución de permanganato de potasio.</i> Disolver 3,0 g de permanganato de potasio y 15 cm³ de ácido fosfórico, en 100 cm³ de agua destilada. La solución debe prepararse mensualmente.</p> <p>4.2 <i>Solución de ácido cromotrópico,</i> Solución acuosa al 5% que puede prepararse con el ácido o la sal sódica, semanalmente. Debe filtrarse si no es clara. Para purificación del ácido cromotrópico, ver Anexo A.</p>		

4.3 *Bisulfito de sodio, seco.*

4.4 *Acido su sulfúrico, al 98 %, reactivo para análisis.*

4.5 *Alcohol etílico absoluto, reactivo para análisis.*

4.6 *Solución patrón efe metanol.* Debe contener 0,025 % en volumen de metanol en alcohol etílico al 5,5%.

4.7 *Agua destilada.*

4.8 *Alcohol metílico*

5. REPARACION DE LA MUESTRA

5.1 Lavar cuidadosamente el equipo para destilación con agua destilada y proceder a armarlo.

5.2 Enjuagar el matraz con una porción de la muestra de bebida alcohólica y luego llenarlo con la muestra, hasta sobrepasar la marca de 250 cm³; tapar el matraz.

5.3 Colocar el matraz en el baño de agua a temperatura constante de 15° ± 0,5° C, durante 20 min, y retirar el exceso de muestra que sobrepasa la marca utilizando una pipeta, hasta obtener el volumen exacto de 250 cm³.

5.4 Transferir el contenido al matraz del aparato de destilación y lavar con tres porciones de 10 cm³ de agua destilada, recogiendo el agua de lavado en el mismo matraz del aparato de destilación. Añadir núcleos de ebullición.

5.5 Destilar lentamente la muestra recogiendo el condensado en un matraz volumétrico de 250 cm³, al que se ha añadido 10 cm³ de agua destilada, hasta que se haya recogido 220 cm³ aproximadamente.

5.6 Colocar el matraz en un baño de agua a temperatura constante de 15° ± 0,5° C, durante 20 min, y luego añadir cuidadosamente agua destilada a 15°C, hasta completar el volumen de 250 cm³ homogeneizar.

5.7 Diluir o ajustar la muestra a una concentración alcohólica comprendida entre 5 y 6%.

5.8 Si el contenido de metanol en la muestra es superior a 0,05%, diluir con 5,5% de alcohol etílico.

5.9 Si el contenido de metanol en la muestra es inferior a 0,05%, colocar 200 cm³ de muestra en el destilador de fraccionamiento y destilar durante 15 min con una razón de reflujo alta (de por lo menos 20:1), recogiendo 10 cm³ de destilado; llevar a volumen de 160 cm³ con agua destilada.

6. PROCEDIMIENTO

6.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra preparada.

6.2 Colocar 2 cm³ de solución de permanganato de potasio en un matraz volumétrico de 50 cm³ y enfriar en un baño de agua con hielo.

6.3 Añadir 1 cm³ de la muestra preparada y dejar en reposo, dentro del baño helado, durante 30 min.

6.4 Decolorar con una pequeña porción de bisulfito de sodio seco y adicionar 1 cm³ de la solución de ácido cromotrópico.

6.5 Añadir 15 cm³ de ácido sulfúrico, lentamente y con agitación; luego, colocar en un baño de agua caliente (60° a 75°C) durante 15 min; enfriar.

6.6 Adicionar agua destilada hasta tener aproximadamente 50 cm³; mezclar y llevar a volumen con agua destilada a temperatura ambiente.

6.7 Determinar la absorbancia (A) a 575 mm, con respecto a una referencia de alcohol etílico al 5,5%, tratado similarmente.

6.8 Tratar la solución patrón de metanol en igual forma y determinar la absorbancia (A₁).

7. CÁLCULOS

7.1 El contenido del metanol en bebidas alcohólicas se determina mediante la ecuación siguiente:

$$M = 0,025 \frac{A}{A_1} \times f$$

Siendo:

- M = contenido de metanol en la muestra, en porcentaje de volumen.
- A = absorbancia correspondiente a la muestra.
- A₁ = absorbancia correspondiente a la solución patrón de metanol.
- f = factor de dilución de la muestra.

9. ERRORES DE MÉTODO

9.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 2%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

10. INFORME DE RESULTADOS

10.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

10.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

10.3 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

Norma Técnica Ecuatoriana	BEBIDAS ALCOHOLICAS DETERMINACION DE ANHIDRIDO SULFUROSO TOTAL EN VINOS	INEN 356 1978-04
<p style="text-align: center;">1. OBJ ETO</p> <p>1.1 Esta norma tiene por objeto establecer el método para determinar el contenido de anhídrido sulfuroso total en vinos.</p> <p style="text-align: center;">2. TERMINOLOGIA</p> <p>2.1 <i>Anhídrido sulfuroso total.</i> Es la suma de anhídrido sulfuroso que se encuentra libre, más el anhídrido sulfuroso que se presenta formando parte de compuestos orgánicos e inorgánicos.</p> <p style="text-align: center;">3. RESUMEN</p> <p>3.1 Transformar el anhídrido sulfuroso en sulfato de bario que precipita en presencia de una solución de yodo; calcinar y pesar.</p> <p style="text-align: center;">4. INSTRUMENTAL</p> <p>4.1 <i>Aparato de destilación,</i> compuesto por un matraz de 400 cm³ con tapón de caucho provisto de tres orificios, para tubos de vidrio, uno de los cuales debe llegar hasta el fondo del recipiente y conducir a voluntad anhídrido carbónico; otro tubo establece conexión con un embudo de separación y el tercero es el tubo de desprendimiento conectado al refrigerante, en cuya parte terminal se adapta un tubo de absorción, cuyo extremo se introduce en un matraz de 250 cm³ hasta, casi tocar el fondo.</p> <p>4.2 <i>Aparato para producir anhídrido carbónico.</i></p> <p>4.3 <i>Embudo de separación,</i> cerrado mediante un tapón.</p> <p>4.4 <i>Reverbero eléctrico,</i> u otra fuente calórica adecuada.</p> <p>4.5 <i>Pipeta,</i> de 100 cm³.</p> <p>4.6 <i>Balanza analítica,</i> sensible al 0,1 mg.</p> <p>4.7 <i>Mufla.</i></p> <p>4.8 <i>Embudo,</i> para filtración.</p> <p>4.9 <i>Desecador,</i> con cloruro de calcio anhidro u otro deshidratante adecuado.</p>		

5. REACTIVOS

5.1 *Solución 0,02 N de yodo, en agua destilada.*

5.2 *Acido fosfórico, de consistencia siruposa.*

5.3 *Acido clorhídrico, concentrado.*

5.4 *Solución al 10% de cloruro de bario.*

5.5 *Alcohol etílico, al 100%.*

6. PROCEDIMIENTO

6.1 La determinación debe efectuarse por duplicado sobre la misma muestra.

6.2 Acoplar convenientemente el instrumental y expulsar el aire del aparato de destilación mediante el ingreso de una corriente de anhídrido carbónico,

6.3 Colocar 50 cm³ de solución 0,02 N de yodo en el matraz de 250 cm³.

6.4 Colocar, usando una pipeta, 100 cm³ de muestra en el embudo de separación y luego 5 cm³ de ácido fosfórico, tapando inmediatamente el embudo, cuyo contenido desciende lentamente al matraz del aparato de destilación.

6.5 Calentar y hacer circular simultáneamente una débil corriente de anhídrido carbónico, continuando la destilación hasta reducir a la mitad el volumen de la muestra.

6.6 El destilado se recibe en el matraz que contiene la solución 0,02 N de yodo.

6.6.1 Si durante la destilación el líquido del matraz queda casi decolorado, añadir inmediatamente una cantidad prudencial de la solución 0,02 N de yodo.

6.7 Retirar el matraz de 250 cm³ del aparato de destilación y colocarlo sobre el reverbero eléctrico, a fin de eliminar el exceso de yodo mediante ebullición lenta; enfriar.

6.8 Acidificar el medio añadiendo gotas de ácido clorhídrico y luego adicionar 5 cm³ de solución al 10% de cloruro de bario, para precipitar sulfato de bario.

6.9 Dejar en reposo durante tres horas; filtrar y lavar el precipitado retenido en el papel filtro con el alcohol etílico.

6.10 Transferir el papel filtro con el precipitado a un crisol y llevar a calcinación en la mufla a 550° C; enfriar en el desecador y luego pesar con aproximación al 0,1 mg.

7. CÁLCULOS

7.1 El contenido de anhídrido sulfuroso total en vinos se determina utilizando la ecuación siguiente:

$$AST = 2.7455 \times m$$

Siendo:

AST = contenido de anhídrido sulfuroso total, en gramos por 1 000 cm³.

m = masa del sulfato de bario calcinado, en gramos.

8. ERRORES DE MÉTODO

8.1 La diferencia entre los resultados de una determinación efectuada por duplicado no debe exceder del 2%; en caso contrario, debe repetirse la determinación.

9. INFORME DE RESULTADOS

9.1 Como resultado final, debe reportarse la media aritmética de los resultados de la determinación.

9.2 En el informe de resultados, deben indicarse el método usado y el resultado obtenido. Debe mencionarse, además, cualquier condición no especificada en esta norma, o considerada como opcional, así como cualquier circunstancia que pueda haber influido sobre el resultado.

9.3 Deben incluirse todos los detalles para la completa identificación de la muestra.

Anexo D. Metodología utilizada para los análisis fisicoquímicos y sensoriales



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI
FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA DE ALIMENTOS

Hoja de Catación

Género:

Edad:

Evaluación sensorial de calidad y aceptabilidad de vino de níspero con nibs de cacao mediante el uso de dos variedades de levaduras vínicas

INSTRUCCIONES

En el orden designado deguste y maque a su parecer una de las alternativas de acuerdo a la escala hedónica establecida a continuación.

Escala Hedónica

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

Atributo	129	312	457	674
Color				
Aroma				
Sabor				
Amargor				
Astringencia				
Apreciación Global				

Comentarios:

.....

¡Gracias por su colaboración !

Anexo E. Respuestas Experimentales

Tabla 23. Caracterización inicial del mosto de níspero

Tratamientos	Replicas	°Brix (Sin ajuste de concentración de azúcar)	°Brix (Con ajuste de concentración de azúcar)	pH
T1R1		1,8	21,8	4,63
T2R1	Primera	3	22	4,91
T3R1	replica	1,6	22	4,73
T4R1		2,6	22	4,62
T1R2		2,2	22	4,67
T2R2	Segunda	3,2	22	4,56
T3R2	replica	3,2	22	4,76
T4R2		3,6	22	4,75
T1R3		2,9	22,2	4,90
T2R3	Tercera	1,8	21,8	4,67
T3R3	replica	2,6	22,2	4,72
T4R3		3	22	4,69

Tabla 24. Comportamiento de grados brix en cuanto a los días de fermentación para la obtención del vino.

Tratamientos	Replicas	Tiempo de fermentación (Días)						
		1	3	6	9	12	15	18
T1R1		22	18,6	17,2	15	11,4	8,2	7
T2R1	Replica	22	17,4	15,8	12	10	8,6	7
T3R1	1	21,8	14,8	13,8	11,8	9,2	7,6	6,2
T4R1		22	15,2	14,6	9,6	9,6	7,4	6,4
T1R2		22	17	15,4	13	11	9	6,8
T2R2	Replica	22	17,4	16,2	12	10,2	9,4	7,8
T3R2	2	22	13,4	12,8	10,8	8,2	7,4	6
T4R2		22	14,4	13,2	12,2	8,8	7,6	7
T1R3		22	17,2	15,8	14,2	10,2	8,4	6,9
T2R3	Replica	21,8	16	14	13,2	11	9,8	7
T3R3	3	22,2	13	12,2	11,4	8	7,6	5,6
T4R3		22	15,6	13,8	12,6	9,2	8,4	7

Tabla 25. Comportamiento de pH en cuanto a los días de fermentación para la obtención del vino.

Tratamientos	Replicas	Tiempo de fermentación (Dias)						
		1	3	6	9	12	15	18
T1R1	Replica 1	4,63	4,21	3,96	3,56	3,52	3,52	3,34
T2R1		4,91	4,46	3,9	3,68	3,61	3,61	3,58
T3R1		4,73	4,47	4,1	3,5	3,45	3,45	3,44
T4R1		4,62	4,59	4,01	3,73	3,68	3,68	3,67
T1R2	Replica 2	4,67	4,42	3,96	3,78	3,67	3,67	3,64
T2R2		4,56	4,38	3,91	3,71	3,62	3,62	3,54
T3R2		4,76	4,52	3,98	3,84	3,82	3,81	3,74
T4R2		4,75	4,58	3,94	3,74	3,55	3,55	3,43
T1R3	Replica 3	4,90	4,60	4,20	3,93	3,84	3,79	3,58
T2R3		4,67	3,96	3,80	3,73	3,68	3,68	3,60
T3R3		4,72	4,10	3,89	3,74	3,66	3,66	3,55
T4R3		4,69	4,02	3,91	3,71	3,68	3,68	3,65

Tabla 26. Comportamiento de la acidez total expresada en ácido málico en cuanto a los días de fermentación para la obtención del vino.

Tratamientos	Replicas	Tiempo de fermentación (Días)						
		1	3	6	9	12	15	18
T1R1		1,54	2,56	2,82	3,59	5,90	8,35	8,81
T2R1	Replica	1,79	1,92	2,56	4,10	6,15	7,65	8,35
T3R1	1	2,18	2,44	2,56	5,13	6,41	7,89	9,51
T4R1		1,92	2,31	2,44	4,87	5,64	7,42	8,20
T1R2		1,92	2,31	2,82	4,61	4,87	6,03	7,89
T2R2	Replica	2,44	2,56	3,08	3,85	5,13	7,65	8,81
T3R2	2	2,56	3,33	3,59	4,10	4,87	5,10	7,42
T4R2		2,31	3,08	3,59	4,46	5,13	7,42	8,12
T1R3		2,18	2,56	3,08	3,59	4,10	6,26	8,35
T2R3	Replica	2,56	2,87	3,59	4,72	5,13	7,89	9,28
T3R3	3	2,44	3,02	3,85	5,38	5,64	6,96	8,81
T4R3		2,18	2,77	3,59	4,36	4,61	6,73	8,12

Anexo F. Análisis estadístico de las características fisicoquímicas

Tabla 27. Análisis ANOVA de grados brix

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Inter-grupos	2,869	3	,956	8,761	,007
Intra-grupos	,873	8	,109		
Total	3,743	11			

Tabla 28. Análisis ANOVA de pH

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Inter-grupos	,008	3	,003	,153	,925
Intra-grupos	,134	8	,017		
Total	,141	11			

Tabla 29. Análisis ANOVA de acidez total

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Inter-grupos	,747	3	,249	,638	,612
Intra-grupos	3,123	8	,390		
Total	3,870	11			

Anexo G. Análisis estadístico del vino de níspero con nibs de cacao

Prueba de Tukey del atributo color

Tabla 30. Análisis ANOVA descriptivo del atributo color

	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	16,965	3	5,655	2,536	,057
Intra-grupos	570,800	256	2,230		
Total	587,765	259			

Tabla 31. HDS de Tukey por medio de Subconjuntos homogéneos en el tributo color

	Tratamientos	N	Subconjunto
DHS de Tukey ^{a,b}	129,00	65	4,6154
	312,00	65	4,8154
	674,00	65	4,8154
	457,00	65	5,3077

Prueba de Tukey del atributo aroma

Tabla 32. Análisis ANOVA descriptivo del atributo aroma

	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	29,708	3	9,903	5,368	,001
Intra-grupos	472,277	256	1,845		
Total	501,985	259			

Tabla 33. HDS de Tukey por medio de Subconjuntos homogéneos en el tributo aroma

	Tratamientos	N	Subconjunto
HSD de Tukey ^a	457,00	65	4,4615
	312,00	65	4,9846
	674,00	65	5,1385
	129,00	65	5,3846

Prueba de Tukey de sabor

Tabla 34. Análisis ANOVA descriptivo del atributo sabor

	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	4,688	3	1,563	,840	,473
Intra-grupos	476,123	256	1,860		
Total	480,812	259			

Tabla 35. HDS de Tukey por medio de Subconjuntos homogéneos en el tributo sabor

	Tratamientos	N	Subconjunto
DHS de Tukey ^{a,b}	457,00	65	4,8154 a
	312,00	65	4,8769 a
	129,00	65	5,0462 a
	674,00	65	5,1538 a

Prueba de Tukey del atributo amargor

Tabla 36. Análisis ANOVA descriptivo del atributo amargor

	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	5,304	3	1,768	1,004	,392
Intra-grupos	450,892	256	1,761		
Total	456,196	259			

Tabla 37. HDS de Tukey por medio de Subconjuntos homogéneos en el tributo amargor

	Tratamientos	N	Subconjunto
DHS de Tukey ^{a,b}	312,00	65	4,5846 a
	129,00	65	4,7846 a
	457,00	65	4,8308 a
	674,00	65	4,9846 a

Prueba de Tukey del atributo de astringencia

Tabla 38. Análisis ANOVA descriptivo del atributo astringencia

	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2,615	3	,872	,443	,722
Intra-grupos	503,538	256	1,967		
Total	506,154	259			

Tabla 39. HDS de Tukey por medio de Subconjuntos homogéneos en el tributo astringencia

	Tratamientos	N	Subconjunto
DHS de Tukey ^{a,b}	312,00	65	4,6000 a
	457,00	65	4,8000 a
	129,00	65	4,8154 a
	674,00	65	4,8615 a

Prueba de Tukey de la Apreciación Global

Tabla 40. Análisis ANOVA descriptivo de la apreciación global

	Suma de cuadrados	GL	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	12,954	3	4,318	2,546	,057
Intra-grupos	434,185	256	1,696		
Total	447,138	259			

Tabla 41. HDS de Tukey por medio de Subconjuntos homogéneos de la apreciación global

	Tratamientos	N	Subconjunto
DHS de Tukey ^{a,b}	457,00	65	5,0308 a
	312,00	65	5,0462 a
	674,00	65	5,0923 a
	129,00	65	5,5692 a

Anexo H. Análisis fisicoquímicos del mejor tratamiento



Orden de trabajo N° 222276
Informe N° 222276
Hoja 1 de 1

DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE

Nombre: ANGIE TAPIA
Dirección: Barrio Oriental, Panamericana E -N35, Tulcán
Muestra: Vino de nispero y nibs de cacao (129 muestra)
Descripción de la muestra: Líquido
Fecha Elaboración: 27 de abril del 2022
Fecha Vencimiento: 27 de abril del 2023
Fecha de Toma: ---
Lote: ---
Localización: ---
Envase: Vidrio
Conservación de la muestra: Ambiente

DATOS DEL LABORATORIO

Fecha de recepción: 05 de julio del 2022
Toma de muestra por: Cliente
Fecha de realización del ensayo: 05 - 08 de julio del 2022
Fecha de emisión del informe: 08 de julio del 2022
Condiciones ambientales: 22,3°C 44%HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADOS
Anhidrido sulfuroso total	mg/l	Yodometría	128,89
Metanol	mg/l	INEN 347	57,44
Azúcares	g/l	OIV-MA-AS311-03	78,94


Dra. Cecilia Luzuriaga
GERENTE GENERAL

El presente informe es válido sólo para la muestra analizada, tal como fue recibida en LABOLAB.
LABOLAB no se responsabiliza por los datos proporcionados por el cliente.
Este informe no debe reproducirse más que en su totalidad previa autorización escrita de LABOLAB.
Las opiniones e interpretaciones no se encuentran dentro del alcance de acreditación del SAE.



INFORME TÉCNICO, FICHA DE ESTABILIDAD, INFORMACIÓN NUTRICIONAL PARA NOTIFICACION SANITARIA

Análisis físico, químico, microbiológico, organoléptico de: alimentos, aguas, bebidas, sistemas primas, bulliceadas, cosméticos, pesticidas, suelos, envases pesados y otros.
C/ Andrés Bello 87-29 y Diego de Almagro. Tel.: 2363-225 / 2361-350 / 3232-503 / 3232-504 Cel.: 098 959 0412 / 890 944 2153 / 898 700 1691
E-mail: secretaria@labolab.com.ec / servicioalcliente@labolab.com.ec / cecilia.luzuriaga@labolab.com.ec / informes@labolab.com.ec

www.labolab.com.ec

Quito - Ecuador



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI

INFORME DE ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO

Fecha de realización de análisis: 21 de junio del 2022				
Fecha de finalización: 24 de junio del 2022				
Muestra de: Vino de níspero con nibs de cacao				
Nombre: Angie Tapia				
Descripción de la muestra: Líquido				
Conservación de la muestra: Ambiente				
Muestra	Parámetro	Método	Resultado	Unidad
Tratamiento 1	Alcohol fracción volumétrica	INEN 340	11,7	GL
Tratamiento 1	Acidez volátil (expresado como ácido acético)	INEN 341	0,64	g/l
Tratamiento 1	Acidez total (expresado como ácido málico)	INEN 241	3,84	g/l



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI

INFORME DE ANÁLISIS FISCOQUÍMICO

Fecha de realización de análisis: 26 de abril del 2022				
Fecha de finalización: 26 de abril del 2022				
Muestra de: pulpa de níspero				
Nombre: Angie Tapia				
Descripción de la muestra: Fruta				
Conservación de la muestra: Congelación				
Muestra	Parámetro	Método	Resultado Unidad	Resultado Unidad
níspero	grados brix	NTE INEN 2337	11,4	-
níspero	pH	NTE INEN ISO 1842	3,56	-
níspero	acidez total (expresado como ácido málico)	NTE INEN-ISO 750	8,6	g/l

Anexo I. Fotografías



Figura 11. Cosecha de níspero



Figura 12. Eliminación de fruta con podredumbre



Figura 13. Pasteurización de la fruta seleccionada para eliminación de microorganismos



Figura 14. Congelación de la pulpa cortada en trozos



Figura 15. Pesado de la pulpa que se utilizó en la elaboración de mostos



Figura 16. Levaduras que se implementaron en el mosto



Figura 17. Medición de pH por medio de potenciómetro de pulpa de níspero licuado

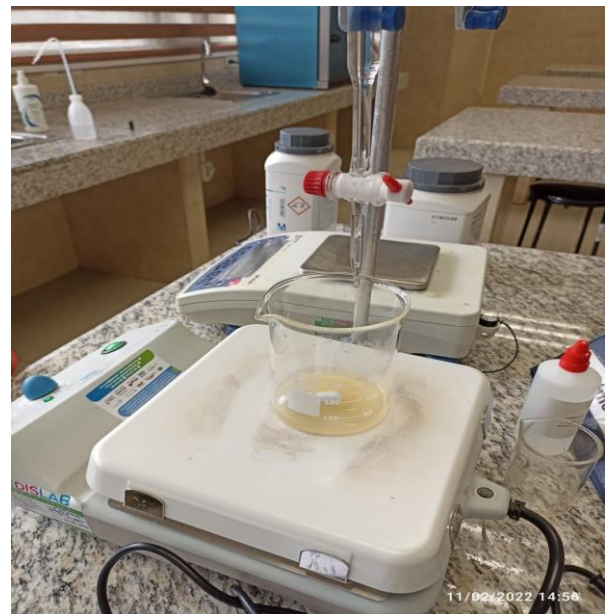


Figura 18. Medición de acidez de la pulpa de níspero por medio de titulación



Figura 19. Elaboración de los mostos



Figura 20. Mostos de nispero formulados

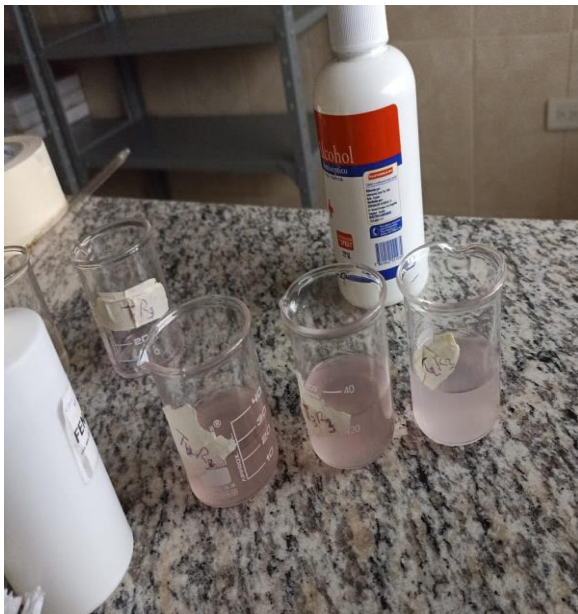


Figura 21. Análisis de acidez total de los mostos por medio de titulación con un punto de viraje final rosa pálido

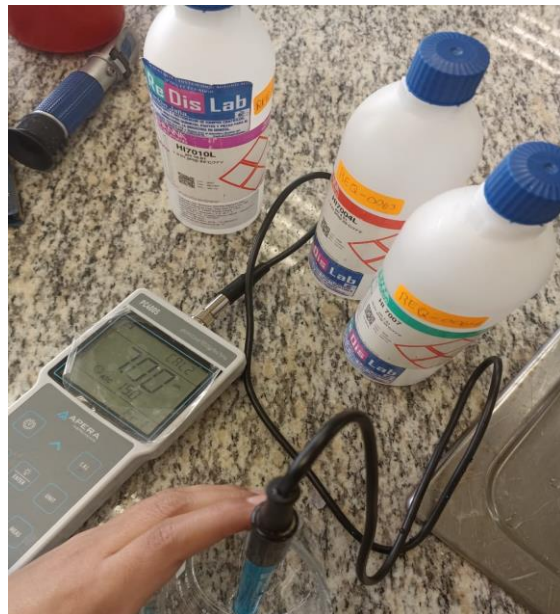


Figura 22. Análisis de pH y grados brix de los mostos de nispero



Figura 23. Maceración de los vinos con nibs de cacao



Figura 24. Clarificación de los vinos por medio de gelatina sin sabor



Figura 25. Vinos clarificados y trasegados



Figura 26. Preparación de muestras para la evaluación sensorial



Figura 27. Evaluación sensorial con panelistas no entrenados



Figura 28. Destilación de vino para el análisis del grado alcohólico



Figura 29. Medición del grado alcohólico del mejor tratamiento por medio de alcoholímetro Gay Lussac

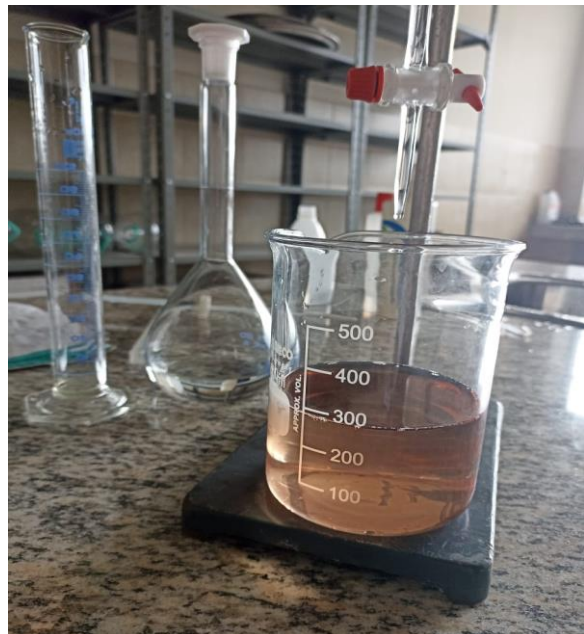


Figura 30. Medición de acidez del mejor tratamiento.