

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI



FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES

CARRERA DE ALIMENTOS

Tema: “Elaboración de una bebida saborizada con mora (*Rubus glaucus*) de baja graduación alcohólica, con sustitución parcial de miel por un jarabe sacarificado de almidón de papa (*Solanum tuberosum* L)”

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

AUTOR: Jácome Cabascango Jasson Andrés

TUTOR: Msc. Rivas Rosero Carlos Alberto

Tulcán, 2023.

CERTIFICADO DEL TUTOR

Certifico que el estudiante Jácome Cabascango Jasson Andrés con el número de cédula 1724671167 respectivamente ha desarrollado el Trabajo de Integración Curricular: "Elaboración de una bebida saborizada con mora (*Rubus glaucus*) de baja graduación alcohólica, con sustitución parcial de miel por un jarabe sacarificado de almidón de papa (*Solanum tuberosum* L) "

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.

Msc. Rivas Rosero Carlos Alberto

TUTOR

Tulcán, marzo de 2023

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, Jácome Cabascango Jasson Andrés con cédula de identidad número 1724671167 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.

Jácome Cabascango Jasson Andrés

AUTOR

Tulcán, marzo de 2023

ACTA DE CESIÓN DE DERECHOS DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Yo, Jácome Cabascango Jasson Andrés al ser autor de los criterios emitidos en el Trabajo de Integración Curricular: "Elaboración de una bebida saborizada con mora (*Rubus glaucus*) de baja graduación alcohólica, con sustitución parcial de miel por un jarabe sacarificado de almidón de papa (*Solanum tuberosum L*)" y se exime expresamente a la Universidad Politécnica Estatal del Carchi y a sus representantes de posibles reclamos o acciones legales.

Jácome Cabascango Jasson Andrés

AUTOR

Tulcán, marzo de 2023

AGRADECIMIENTO

Quiero agradecer profundamente a mi familia por la fortaleza, a mis amigos por acompañarme durante el proceso, a los docentes por impartir sus conocimientos y sabiduría, a la institución la oportunidad de estudiar brindándome apoyo con sus instalaciones y equipos que fueron fundamentales en este trabajo.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de investigación a mi familia: María Chaca †, Gloria Cabascango, Rosario Cabascango, Francisco Macas, Yajaira Jácome, Bladimir Méndez, Marco Cartagena, Ruth Macas, Rafhaela Méndez.

ÍNDICE

RESUMEN.....	14
ABSTRACT	15
INTRODUCCIÓN	16
I. PROBLEMA	18
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	19
1.3. JUSTIFICACIÓN	19
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	22
2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS	22
2.2. MARCO TEÓRICO	27
2.2.1. Origen de las bebidas fermentadas	27
2.2.1.1 Bebidas alcohólicas.....	27
2.2.1.2. Tipos de alcoholes	27
2.2.1.2.1 Etanol de Primera Generación	28
2.2.1.2.2 Etanol de Segunda Generación	28
2.2.1.3. Normativa de las bebidas alcohólicas	29
2.2.1.4. Fermentación alcohólica.....	29
2.2.1.5. Glucólisis	30
2.2.2. Enzimas	32
2.2.2.1. Acción de las enzimas.....	32
2.2.2.2. Función de las enzimas.....	33

2.2.2.3. Clasificación de la enzima.....	34
2.2.2.4. α -amilasa	34
2.2.2.5. Glucoamilasas.....	36
2.2.3. Hidromiel.....	39
2.2.3.1. Tipos de Hidromiel.....	39
2.2.3.1.1. Hidromiel Tradicional	39
2.2.3.1.2. Hidromiel con Frutas.....	40
2.2.3.1.3. Hidromiel con Especies.....	41
2.2.3.2. Materias primas	41
2.2.3.2.2. Composición química de la miel.....	42
2.2.4. Papa.....	43
2.2.4.1. Taxonomía de la papa.....	43
2.2.4.2. Composición	44
2.2.4.3. Almidón.....	44
2.2.4.4. Composición del almidón.....	45
2.2.4.5. Propiedades fisicoquímicas del almidón.....	46
2.2.5. Mora.....	48
III. METODOLOGÍA	50
3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO	50
3.1.1. Enfoque.....	50
3.1.2. Tipo de Investigación.....	50
3.2. HIPÓTESIS	50
Hipótesis nula H_0 :.....	50
Hipótesis Alternativa H_a :	51
3.3.1. Variable dependiente:.....	51
3.3.2. Variable independiente:.....	51
3.4. MÉTODOS A UTILIZADOS	53
3.4.1. Materiales y Equipos:	53

3.4.1.1. Materias Primas.	53
3.4.1.2. Equipos de Laboratorio.	53
3.4.1.3 Instrumentos.....	53
3.4.1.4. Insumos	53
3.4.2. Flujogramas de proceso.....	54
3.4.2.1. Flujograma de proceso del almidón de papa.	54
3.4.2.2. Flujograma de proceso elaboración de la bebida.....	55
3.4.3. Procedimiento para la elaboración de la bebida de baja graduación ...	56
3.4.3.1. Extracción de Almidón de Papa	56
3.4.3.2. Elaboración de la bebida fermentada	57
3.4.4. Métodos utilizados para la hidrólisis enzimática.....	60
3.4.4.1.1. Determinación de sólidos solubles	60
3.4.4.1.2. Determinación de pH.	60
3.4.4.2. Métodos utilizados para los análisis fisicoquímicas de la bebida.....	61
3.4.4.2.1. Determinación de sólidos solubles.	61
3.4.4.2.2. Determinación de pH.	62
3.4.4.2.3. Determinación de acidez volátil	62
3.4.4.2.4. Determinación de grado alcohólico	64
3.4.4.2.5. Determinación de metanol	64
3.4.4.2.6. Análisis sensorial de la bebida	64
3.4.5. Análisis Estadístico	65
3.4.5.1. Diseño experimental.....	65
3.4.5.4. Formulaciones	66
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	67
4.1. RESULTADOS	67
4.1.1. Hidrólisis enzimática	67
4.1.1.1. Parámetros de la hidrólisis enzimática	67
4.1.1.2. Sólidos solubles en la hidrólisis	68

4.1.1.3. Determinación de pH.....	69
4.1.2. Métodos utilizados para los análisis fisicoquímicas de la bebida.....	70
4.1.2.1. Sólidos solubles.....	70
4.1.2.2. pH.....	71
4.1.2.3. Acidez volátil.....	71
4.1.2.4. Determinación de grado alcohólico.....	72
4.1.2.5. Determinación de metanol.....	72
4.1.2.6. Análisis sensorial de la bebida.....	73
4.1.2.6.1. Escala hedónica verbal.....	73
4.1.2.6.2. Resultado evaluación Sensorial.....	73
4.1.2.6.3. Resultados color.....	74
4.1.2.6.4. Resultados aroma.....	75
4.1.2.6.5. Resultados sabor.....	75
4.1.2.6.6. Resultados astringencia.....	76
4.2. DISCUSIÓN.....	76
4.2.1. Hidrólisis Enzimática.....	76
4.2.2. Sólidos Solubles.....	77
4.2.3. pH.....	78
4.2.4. Acidez.....	79
4.2.5. Grado alcohólico.....	79
4.2.6. Metanol.....	80
4.2.7. Análisis sensorial.....	80
V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	82
5.1. CONCLUSIONES.....	82
V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	84
VI. ANEXOS.....	89

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Acción que ejerce el almidón de la fosforilasa, α -glucosidasa, α -glucosidasa, α -amilasa, α -amilasa.....	33
Tabla 2 Clasificación de la enzima y característica	34
Tabla 3 Condiciones recomendadas para el uso de la enzima SPEZYME® FRED	35
Tabla 4. Condiciones recomendadas para el uso de la enzima OPTIDEX® L-400	37
Tabla 5 Composición de la miel de abeja (en 100g de miel).....	42
Tabla 6 Composición fisicoquímica de la papata.....	44
Tabla 7 Composición del almidón.....	45
Tabla 8 Propiedades fisicoquímicas de amilasa y amilopectina.....	47
Tabla 9 Taxonomía de la mora (Rubus glaucus)	48
Tabla 10 Contenido nutritivo en 100 gramos.	48
Tabla 11 Operacionalización de variables	52
Tabla 12: Factor A (miel: mora).....	65
Tabla 13 Factor B (jarabe sacarificado).....	66
Tabla 14. Esquema del experimento para la elaboración de la bebida de baja graduación alcohólica.....	66
Tabla 15. Características del experimento.	66
Tabla 16 Parámetros (g/ml) del proceso de Licuefacción del almidón de papa.	67
Tabla 17 Parámetros (g/ml) de Sacarificación para obtener jarabe de almidón.....	68
Tabla 18. Sólidos solubles del proceso de licuefacción del almidón	68
Tabla 19. Sólidos solubles del proceso de sacarificación del almidón.....	69
Tabla 20. pH del proceso de licuefacción del almidón	69
Tabla 21. pH del proceso de sacarificación del almidón.....	69
Tabla 22. Comportamiento de los °Brix en la fermentación.....	70
Tabla 23. pH al inicio y final de la fermentación	71
Tabla 24. Acidez volátil al final de la maduración	71
Tabla 25. Grado alcohólico.....	72
Tabla 26. Escala hedónica verbal.....	73
Tabla 27. Resultados evaluación sensorial	74
Tabla 28. Resultados obtenidos de la evaluación sensorial para el parámetro del color	74
Tabla 29. Resultados obtenidos de la evaluación sensorial para el parámetro del aroma.....	75

Tabla 30. Resultados obtenidos de la evaluación sensorial para el parámetro del sabor	75
Tabla 31. Resultados obtenidos de la evaluación sensorial para el parámetro de astringencia	76
Tabla 32. Valores promedio del análisis sensorial de los mejores tratamientos.	81
Tabla 33. <i>Escala de aceptabilidad.</i>	102
Tabla 34. Atributos de las muestras de la bebida de baja graduación alcohólica .	102

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Vía glucolítica de Embden-Meyerhof	31
Figura 2 Efecto del pH en condiciones de (dextrosa equivalente)	35
Figura 3 Efecto del calcio agregado en DE	36
Figura 4 Efecto del pH sobre la Actividad Enzimática Condiciones: 1 hora, pH 4,2, 4 % p/v de almidón soluble	37
Figura 5 Efecto del pH sobre la estabilidad de la enzima Condiciones: pH 4,2, 30 % p/p de glucosa	38
Figura 6 Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática Condiciones: pH 4,2, 30 % p/p de glucosa	38
Figura 7 Efecto de la temperatura sobre la estabilidad de la enzima Condiciones: pH 4,2, 30 % p/p de glucosa	39
Figura 8 Enrollamiento helicoidal de la amilosa (Badui, 2006)	46
Figura 9 estructura química de la amilopectina.	47
Figura 10. Almidón de papa.....	83
Figura 11. Proceso de Licuefacción	89
Figura 12. Homogenización 200 rpm a 90°C.....	83
Figura 13. Proceso de sacarificación.....	89
Figura14. Jarabe de almidón (5,15,25)%.....	84
Figura 15. Recepción de la miel.....	90
Figura 16. Recepción de la mora	84
Figura 17. Análisis Físicoquímico del mosto.	90
Figura 18. Fermentación alcohólica	84
Figura 19. Trasvase de la bebida.....	90

Figura 20. Embotellado.....	84
Figura 21. Maduración.....	91
Figura 22. Destilación del vino.....	85
Figura 23. Determinación de alcohol.....	91
Figura 24. Acidez total	85
Figura 25. Análisis sensorial.....	91

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Elaboración de la bebida fermentada sabor a mora	89
Anexo 2. Acta y Rúbrica de la sustentación de pre defensa.....	92
Anexo 3. Certificado del Abstrac por parte del centro de Idiomas.....	94
Anexo 4. Flujograma de proceso del mejor tratamiento (T9)	96
Anexo 5. Resultados de Metanol en LABOLAB.....	99
Anexo 6. Evaluación sensorial	102
Anexo 7. Fichas Técnicas de las enzimas (α -amilasa, glucoamilasa).....	103
Anexo 8. Ficha Técnica de la levadura	107
Anexo 9. Ficha Técnica de Vinos INEN 372	109

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivos establecer parámetros hidrolíticos para obtener un jarabe de glucosa a partir de almidón de papa (*Solanum tuberosum* L) a concentraciones de 5%, 15%, 25% mediante procesos de: licuefacción que se llevó a cabo por 2 horas a 90°C, 0.1 ml/Kg de enzima α -amilasa y a una homogenización de 200rpm; la sacarificación tuvo lugar por 12 horas a 60°C, 0.1 ml/Kg de enzima glucosidasa y a una homogenización 200 rpm obteniendo jarabes con valores de 6.4; 17.1; 26.4 °Brix respectivamente siendo la concentración del 25% el mayor rendimiento obtenido, posteriormente se utilizó en la biomasa compuesta de mora (*Rubus glaucus*) y miel de abeja. Para los análisis fisicoquímicos de la bebida se registró una base de datos al inicio de la fermentación dada por la acción de la levadura *Saccharomyces Bayanus* a una temperatura de 28 °C por 30 días, así también los datos fueron registrados después de 45 días de maduración a 10°C. Se determinó el efecto de la sustitución de miel por jarabe de almidón en la bebida fermentada mediante análisis fisicoquímicos. Los resultados obtenidos en el trabajo nos muestran que el tratamiento con mayor aceptabilidad es el T9 (20 % miel + 20 % mora + 25 % almidón) con valores de sólidos solubles finales (7,3°Brix), pH (3,45), acidez total (0.65), grado alcohólico (7,18 %) y metanol (4,34 mg/100 ml). Se realizó una evaluación sensorial donde se valoraron los parámetros de color, aroma, sabor, astringencia con una escala hedónica de preferencia de cinco puntos y 70 jueces no entrenados. Por medio de una prueba de diferenciación de medias Tukey (nivel de confianza al 95%) se identificaron los mejores tratamientos (T6, T8, T9).

Palabras clave: hidrolisis, almidón de papa, sacarificación, licuefacción-

ABSTRACT

The aim of this research was to establish hydrolytic parameters to obtain a glucose syrup from potato starch (*Solanum tuberosum* L) at concentrations of 5%, 15% and 25% through processes such as: liquefaction conducted for 2 hours at 90°C, 0.1 ml/Kg of α -amylase enzyme and at a homogenization of 200rpm. On the other hand, saccharification took place for 12 hours at 60°C, 0.1 ml/Kg of glucosidase enzyme and 200 rpm homogenization. It was obtained syrups with values of 6.4; 17.1; 26.4 °Brix respectively being the highest concentration 25%. Subsequently, it was used in the biomass made of blackberry (*Rubus glaucus*) and honey. For the physicochemical analyzes of the drink, the database was recorded at the beginning of fermentation given by the action of the *Saccharomyces Bayanus* yeast at a temperature of 28 °C for 30 days. Moreover, the data was recorded after 45 days of maturation at 10°C. The effect of replacing honey with starch syrup in the fermented drink was determined by physicochemical analysis. The gathered results of the study show that the treatment with the greatest acceptability is T9 (20% honey + 20% blackberry + 25% starch) with values of final soluble solids (7.3°Brix), pH (3.45), acidity total (0.65), alcoholic degree (7.18%) and methanol (4.34 mg/100 ml). A sensory evaluation was done where the parameters of color, aroma, flavor, and astringency were evaluated with a five-point hedonic preference scale and 70 untrained judges. Finally. Through a Tukey mean differentiation test (95% confidence level), the best treatments were identified (T6, T8, T9).

Keywords: hydrolysis, potato starch, saccharification, liquefaction

INTRODUCCIÓN

Ecuador, país privilegiado en términos de ventaja climática y biodiversidad a pesar de ello muchos productos agrícolas y subproductos pasan desapercibidos, según el INIAP (2016) a nivel nacional las zonas de agricultura se encuentran principalmente ubicada en: Carchi, Imbabura, Cotopaxi, Chimborazo, Pichincha, Bolívar y Tungurahua.

La demanda de la mora en el mercado internacional es cada vez más alta, sus características químicas y nutricionales según el INIAP (2013) la variedad (*Rubus glaucus*) presenta altos contenidos de proteínas, fósforo, azúcares reductores, polifenoles, carbohidratos, magnesio, manganeso y potasio siendo así una fruta de interés para el comercio y la industria.

El grado de desarrollo de las frutas son determinados por su índice de madurez, cuales son criterios o parámetros que se emplean para determinar el progreso fisiológico de las frutas, la relación entre la acidez titulable y los sólidos solubles son utilizados como un índice del desarrollo en la maduración de las frutas (Montalvo, 2010). En la mora para consumo en fresco el índice de madurez está asociado con el viraje de color a negro morado brillante la fruta posee una actividad antioxidante por la presencia de compuestos fenólicos, bioflavonoides, antocianinas, betacarotenos y glucósidos de cianidinas (Londoño et al., 2005). En la Tabla 10 se describe el valor nutricional de la mora.

La papa (*Solanum tuberosum* L) por su parte es una fuente abundante de almidón un polisacárido constituido por moléculas complejas de amilosa y amilopectina. Desde esa perspectiva, fuentes amiláceas como la papa son reservas de energía ricas en carbohidratos que mediante un proceso de hidrólisis pueden ser de utilidad en la industria de los alimentos (Morales & Molina, 2015).

Se trabajó la hidrólisis enzimática del almidón en dos etapas: licuefacción y sacarificación, procesos que requieren condiciones y parámetros óptimos para la producción de jarabe. El almidón de papa fue sometido a un pretratamiento térmico de 66°C (temperatura de gelificación). Posterior a la gelificación el proceso de licuefacción se llevó a cabo a una temperatura de 90°C con la enzima α -amilasa

(0.1ml/Kg) que hidroliza al azar los enlaces α -1,4- glucosídicos para reducir la viscosidad de la solución gelificada produciendo dextrinas solubles y oligosacáridos con equivalentes de dextrosa (ED) menores a 5. Se ajustó la temperatura a 60°C para evitar la retrogradación (agregación y cristalización parcial) sufrida por los geles al bajar la temperatura, para el proceso de sacarificación se utiliza la enzima glucoamilasa (amiloglucosidasas) las cuales hidrolizan los enlaces (α -1,4 y α -1,6) de la dilución del anterior proceso obteniéndose como producto un jarabe de almidón con ED alrededor de 30 (Ruiz et al., 2009).

El principal producto de los centros apiaris es la miel una sustancia que es producida por las abejas (*Apis mellifera*) a partir del nectar de las flores que las abejas recogen en su buche para trasladarlo a la colmena y posteriormente mezclarlo con enzimas que actúan sobre los azúcares empezando a transformar el nectar en miel. La composición de la miel de abeja se ve ligada a la variedad de flor de la que provenga el nectar, por lo general la miel operculada contiene agua, glucosa, fructosa y pequeñas cantidades de dextrinas, algunas variedades de miel tienen un fuerte carácter de (aroma, sabor, color, acidez) que otorgan características organolépticas únicas a las bebidas fermentadas.

A nivel de laboratorio se logró establecer parámetros de sólidos solubles y pH para obtener un jarabe de glucosa a partir de un producto amiláceo y emplearlo en la biomasa de mora y miel. En este trabajo se presenta la elaboración de una bebida fermentada saborizada con mora y miel que aporta características de interés al producto final, posteriormente se determinó el efecto de la sustitución en las características fisicoquímicas de la bebida mediante análisis de °Brix, pH, acidez total, % vol. y metanol, luego se realizó una evaluación sensorial donde los jueces mediante una encuesta manifestaron la muestra de su preferencia, en base a los datos recopilados se presenta a continuación los resultados de todos los procesos previos a obtener la bebida de baja graduación alcohólica.

I. PROBLEMA

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En el sector de Maldonado se produce mora de castilla cerca de 2000.7 kg semanales es decir 96033.6 tn al año, así también presenta dificultad al momento de conservar la materia prima ya que puede mostrar deterioro por su fragilidad, además se originan pérdidas que se atribuyen a procesos bioquímicos y fisiológicos que aceleran la degradación de la mora durante su almacenamiento Villareal (2013).

Chuquin(2012) menciona que a nivel nacional la papa cuenta con una superficie de 50 mil ha sembradas, donde se producen 300 mil tn. El Carchi es reconocida como la zona geográfica de mayor producción así mismo es la provincia con un porcentaje que supera el 6% de pérdidas por problemas en la poscosecha, aproximadamente 11761,55 tn de materia prima son desechadas como papa de tercera. Pumisacho & Sherwood, (2002) en su estudio menciona que el tuberculo es una fuente rica de carbohidratos, al ser un producto semi-perecedero si no es manipulado correctamente en toda su línea de su producción antes de llegar al consumidor esta se deteriora rápidamente. Estudios acerca de la industrialización de tubérculos andinos autóctonos con los cuales se pueda obtener almidón, pulpa y harina de la cáscara son escasos a nivel de la provincia ocasionando un desabastecimiento de subproductos que se pueden extraer de la papa (Miranda, 2015).

El Telegrafo, (2018) menciona que el sector apícola no ha obtenido la atención necesaria referente a su industrialización, en el país existen dos sistemas de producción de miel que están diferenciados mediante los niveles de tecnología utilizados siendo estos los sistemas de producción familiar y sistema de producción semitecnificado. Los apicultores se ven afectados por problemas sanitarios, tecnológicos y discernimiento, en otros países la actividad agropecuaria orientada a la crianza de abejas es muy desarrollado y dinámico. En los últimos años la demanda de productos apícolas se ha ido incrementando paulatinamente, Ecuador si bien

es un país con variedades biológicas aptas para el desarrollo de la apicultura, no ha sido aprovechada en la medida de lo posible, resultando en una falta de oferta del mercado, es decir. una amplia gama de importaciones de China, México, Perú y Argentina (Rosalino et.al, 2020).

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Al sustituir la miel por jarabe de almidón de papa modifica las características fisicoquímicas y sensoriales de una bebida de miel saborizada con mora de baja graduación alcohólica?

1.3. JUSTIFICACIÓN

Con la implementación de prácticas, tecnologías y un proceso de fermentación se pretende transformar y conservar las materias primas en un subproducto, alternativa enfocada en el manejo de la postcosecha de la mora y las deficiencias que existen de toda la cadena de producción y comercialización. La elaboración de bebidas fermentadas otorga un valor añadido a los productos agrícolas garantizando la estabilidad del producto final a una temperatura ambiente para mantener sus propiedades.

En la mora los compuestos fenólicos tienen una importancia directa sobre la calidad de las bebidas fermentadas siendo el origen del color, olor, astringencia y sabor; la materia prima está estrechamente relacionada con la presencia de taninos. Las bayas son una fuente fundamental de polifenoles los principales encontrados son los taninos hidrolizables como los antocianos, los elagitaninos, ácidos hidroxicinámicos, flavonoles y proantocianidinas encontrándose en pequeñas cantidades (Ocaña, 2012).

En el Carchi en cuanto a la producción de papa existe porcentaje que supera el 6% de pérdidas por problemas ocasionados en la postcosecha Chuquin (2012). El almidón presente en la naturaleza se encuentra formado por gránulos. Cuya forma y tamaño dependen del origen. Los tubérculos como la papa son fuentes ricas en almidón un polisacárido constituido químicamente por dos moléculas (amilosa y

amilopeptina) (Pozo et al., 2022). En los últimos años se han realizado investigaciones de diferentes tipos de almidones y su aplicación en la industria alimentaria como jarabe de glucosa obtenido mediante un proceso de hidrólisis enzimática.

La hidrólisis enzimática del almidón involucra tres etapas: gelatinización, licuefacción y sacarificación, procesos que requieren las mejores condiciones dependiendo las diferentes materias primas. La fase de gelatinización requiere una temperatura de 80°C es requerida para poder aumentar el acceso al sustrato. Después de la gelificación, la licuefacción se lleva a cabo con la enzima α -amilasa hidrolizando enlaces α -(1-4) fragmentando las cadenas de almidón para formar dextrinas, maltosa, maltotriosa y maltopentosa. El proceso de sacarificación se realiza a temperaturas de (60-70°C) se utiliza enzimas como la amiloglucosidasas las cuales hidrolizan los enlaces α -(1-4) y α -(1-6) de los fragmentos obtenidos en la etapa anterior obteniéndose como productos jarabes de maltosa con ED alrededor de 40 y 60, respectivamente (Morales & Molina, 2015). Debido a que estas enzimas son solubles, a menudo son inhibidas por sustratos o productos de reacción, por lo que identificar y la optimizar las variables que afectan positiva o negativamente la actividad enzimática, puede mejorar la viabilidad de estos procesos biotecnológicos.

Cajas J. (2019) menciona a la miel como componente que aporta parámetros fisicoquímicos a las bebidas fermentadas (hidromiel). El aumento paulatino de la acidez y por consecuencia la disminución de pH hace que esté íntimamente relacionado con el valor nutritivo de la miel. Strong & England (2015) en su Guía de Hidromieles menciona que con el fin de analizar y determinar las características de una bebida fermentada implemento el uso de bayas para regular el pH y grado alcohólico del hidromiel tradicional.

Por lo anteriormente expuesto, el presente trabajo es de gran interés por lo que se necesita abrir nuevas alternativas de industrialización y comercialización en el área de elaboración de bebidas fermentadas (vinos). Utilizando productos y subproductos agrícolas e industriales, esta investigación es importante debido a que es una alternativa para producir un producto inusual a partir de la mora, miel y jarabe de almidón.

1.4. OBJETIVOS Y PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.4.1. Objetivo General

- Elaborar una bebida saborizada con mora (*Rubus ulmifolius*) de baja graduación alcohólica con sustitución parcial de miel por un jarabe sacarificado de almidón de papa (*Solanum tuberosum* L)

1.4.2. Objetivos Específicos

- Establecer los parámetros del efecto hidrolítico del almidón de papa.
- Determinar el efecto de la sustitución de miel por jarabe hidrolizado en las características fisicoquímicas de la bebida
- Evaluar las características sensoriales del producto final.

1.4.3. Preguntas de Investigación

¿Cómo es el proceso de Hidrólisis Enzimática del almidón de papa?

¿Cuál es el efecto hidrolítico de las enzimas (α -amilasa, glucosidasa) sobre el almidón y sus efectos en la biomasa de miel y mora?

¿Cómo influye la sustitución parcial de miel por jarabe de almidón en las características fisicoquímicas ($^{\circ}$ Brix, pH, acidez titulable, grado alcohólico y metanol) de la bebida de baja graduación?

¿Cuál es la concentración ideal de miel: mora y jarabe de almidón en la formulación de la bebida fermentada de acuerdo con los jueces?

II. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

Entre los temas relacionados con el plan de investigación se encuentran los siguientes como más relevantes.

En la investigación de Londoño, Montoya, & Márquez, (2005) la mora de Castilla (*Rubus glaucus Benth*) se mencionó como una fruta de gran interés comercial y altamente perecedera, pero presenta deterioro debido a su fragilidad y mal manejo en la postcosecha. En la formulación de los licores se estableció distintas concentraciones de pulpa de 25 % al 55 % con incremento de 5% obteniendo siete tratamientos, la fermentación se inició con los sólidos solubles en 35 °Brix para todas las combinaciones del mosto, estas fueron reguladas con sacarosa y la levadura utilizada para inocular fue *Saccharomyces Meyen* en una concentración del 0.2 g/Lt. El mosto permaneció en los biorreactores durante 20 semanas, posteriormente los licores fueron sometidos a filtración y a una caracterización fisicoquímica, evaluando el contenido de alcohol presente el tratamiento con porcentaje de 40 % de participación de pulpa, fue el que presentó mayor concentración con 8.36 % de volumen de alcohol, mientras que la formulación de 25% de concentración de pulpa fue el de menor volumen de alcohol con 5.49%. La prueba sensorial con 10 jueces mostró que el licor preparado con 35 % de participación de pulpa y 8.18% de volumen de alcohol, fue el de mayor aceptación.

Según Córdova, (2010) al comparar el comportamiento fermentativo de la levadura de panificación y las levaduras vínicas (*Uvaferm CM, Lalvin EC 1118, Lalvin QA23*), y sus efectos sobre la calidad de vinos de mora (*Rubus glaucus Benth*). En su trabajo se generó un producto obteniendo mostos de mora en el cual se utilizó una combinación 2:1 de agua: fruta que se regularon a 21 °Brix y 3.2 – 3.3 de pH. Las unidades experimentales se inocularon con levaduras vínicas en concentraciones de

0.3 g/Lt sobre el mosto y una fermentación que duró 20 días aproximadamente. Durante la fermentación a las muestras se les realizaron, análisis fisicoquímicos como: °Brix, acidez, pH. Finalmente, se concluye que el comportamiento de la levadura de panificación difiere de las levaduras vínicas estableciendo que la levadura *Lalvin QA23* resulto ser la mejor para el proceso fermentativo otorgando al producto características organolépticas atractivas y un grado alcohólico de 14.2% v/v.

Ocaña, (2012) en su proyecto se planteó la importancia de generar una alternativa que conlleve implementar como materia prima la mora (*Rubus glaucus Benth*). El estudio fue enfocado al sector vinícola de la provincia de Tungurahua sector "Santa Rosa" elaborado con fruta de la localidad, levadura vínica (*Lalvin QA23*). Según el diseño experimental y en función a la variable independiente proporción de fruta: agua, a los tratamientos planteados se les realizó análisis como: caracterización de color, composición fenólica, actividad antioxidante, análisis fisicoquímicos como: °Brix, pH, acidez, análisis cromatográficos y espectrofotométricos.

Se realizó una determinación en la calidad sensorial del vino de mora de combinaciones diferentes y niveles de dulzor, con un total de 54 catadores semi-entrenados, el mejor vino evaluado con mejores características fue el vino a1b2 con un valor promedio de 5,688 en calificación global, también es el vino de mora con mayor aceptabilidad por los catadores elaborado en la proporción fruta: agua 1:4 (20%fruta y 80%agua) y con un nivel de dulzor de vino seco fue de 5 °Brix y 12°Brix.

Según la investigación de Guerrero & Yépez, (2018) quienes presentaron una bebida destilada a partir de yuca (*manihot esculenta*) y zanahoria blanca (*arracacia xanthorrhiza*). Las reservas amiláceas de las materias primas fueron catalizadas por la acción de enzimas (amilasas, glucoamilasas) consecutivamente se llevó a cabo la fermentación con levaduras *Saccharomyces Meyen* para todos los tratamientos planteados. Se utilizó un diseño factorial 2² con 3 puntos centrales donde se evaluaron el efecto de la concentración de la yuca: zanahoria blanca y el tiempo de cocción sobre el tratamiento con mayor cantidad de °Brix en el mosto de la bebida. Al realizar un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de significancia de 0,1 se determinó que el mejor tratamiento fue la combinación 50% yuca y 50% zanahoria blanca a un tiempo de 40 minutos de cocción empleado las enzimas catalizadoras para obtener un valor de 24 °Brix.

Según Cueva & Pazos, (2015) en su investigación presentaron como idea principal la implementación de un tubérculo como es el camote para la obtención de alcohol. Por medio de dos procesos (hidrólisis y fermentación), donde la primera etapa de su estudio se evaluó la hidrólisis del almidón empleando las enzimas comerciales: Termamyl 120L, Type L al 1.5 mg/Kg camote. La materia prima fue sometida a diferentes temperaturas de calentamiento (70°C, 80°C, 90°C y 100°C) por un tiempo de 2 horas y a concentraciones diferentes en relación pulpa de camote: agua (1 :0.5, 1:1, 1:2, 1:4 y 1:8) determinando que los parámetros óptimos del proceso son a un pH de 6, temperatura de 100°C y concentración 1 :0.5 (pulpa camote: agua). En la segunda etapa del estudio la pasta hidrolizada se la llevó a una fermentación de 5 días con homogenización de 1 min cada 12 horas, adicionando como bactericida metabisulfito de potasio (0.10 g/L), como nutriente el fosfato de amonio monobásico (0.4 g/L) y se inoculó con *Saccharomyces Bayanus*. La dilución de la pasta hidrolizada en diferentes concentraciones (1:0.5, 1:1, 1:2 y 1:4) relación (pasta hidrolizada: agua) a los cuales se realizaron análisis fisicoquímicos. Además, se evaluó la concentración de *Saccharomyces Bayanus* (0.4, 0.7, 0.9 y 1.2 g/L) y realizaron análisis fisicoquímicos °Brix, pH y producción de grados alcohólicos. Por lo cual se logró demostrar que el camote o batata tiene el potencial para ser utilizada como materia prima en la obtención de alcohol.

Según Anaya & Mantero, (2019) obtuvieron una bebida destilada tipo vodka a partir de almidones de variedades de papa (*Solanum Tuberosum*) Canchan, Hualash y Huayro moro mediante vía enzimática. Mediante un estudio de nivel experimental donde las muestras de variedades de papa constaron de seis tratamientos, estuvieron conformadas por una variable independiente: dos tipos de enzimas (Termamyl 120 L y Fungamyl 800 L) y tres variedades de almidón de papa. Las variables dependientes fueron la evaluación del rendimiento de la hidrólisis, una caracterización fisicoquímica del almidón, de la bebida destilada (vodka) y un análisis sensorial del producto final. El mayor rendimiento obtuvo la variedad Huayro moro con 14,11 %, humedad de 11,84 %, pH de 6,23 y viscosidad de 34000 cP.

Benavides & Pozo, (2008) donde elaboraron una bebida alcohólica destilada tipo vodka, a partir de tres variedades de papa (*solanum tuberosum*) como fuentes

amiláceas, utilizando dos tipos de enzimas. En su estudio obtuvieron una respuesta hidrolítica de las enzimas Termamyl 12 Type y Fungamyl 800L, empleadas para hidrolizar las cadenas de almidón obtenido de las tres variedades de papa. Bajo un diseño completamente al azar (DCA) con arreglo factorial AxB, evaluaron el factor A: variedad de papa (súper chola, capiro, gabriela), rendimiento de almidón (14.26%, 16.8%, 11.87%). El factor B del efecto hidrolítico de las enzimas en condiciones de: 5.5 a 6.5 pH, 85°C de temperatura.

Según Morales & Molina, (2015) el objetivo general de su investigación fue evaluar la posibilidad de realizar las etapas de sacarificación del almidón y una fermentación de azúcares de manera simultánea, con el fin de reducir el tiempo del proceso global de producción de etanol a partir de materiales amiláceos. El proceso se puede llevar a cabo enzimáticamente y consiste en dos etapas. Para la licuefacción se preparó suspensiones de almidón a concentraciones de (10, 15, 20 y 25) % m/m, se reguló el pH a 6,5, y la enzima α -amilasa a una concentración de 0,6 mL/kg Almidón. Se llevó a cabo la licuefacción a 90 °C por un tiempo de 45 min. El proceso de sacarificación a diferentes concentraciones (0, 2, 5 y 8) % v/v, una temperatura de 60 °C y una velocidad de agitación de 150 rev/min se adicionó la enzima amiloglucosidasa (AMG) a una concentración de 0,8 mL/kg Almidón. La glucosa obtenida es el sustrato en la etapa posterior de fermentación. Para ello se estudiaron los siguientes factores tales como: tipo y concentración de almidón, concentración de etanol, tiempo y temperatura de sacarificación, presencia de etanol y nutrientes durante la etapa de hidrólisis del almidón, temperatura de fermentación.

Según Vicuña, (2019) elabora de una bebida artesanal de baja graduación alcohólica a base de la miel de abeja (*apis mellífera*) y fruta capulí (*prunus salicifolia*). Se determinó la concentración ideal de miel con 23.30%, agua 46.61%, capulí 30.02% y levadura 0.07% mediante análisis fisicoquímicos de control el tratamiento más acertada fue analizada bromatológica y microbiológicamente, los resultados dentro de lo establecido en las Normas INEN donde: acidez 24.14mg, grado alcohólico 13.5%, metanol 0.043%, mohos y levaduras 100UFC/ml, y ausencia de salmonella, obteniendo como resultado una bebida artesanal de baja graduación alcohólica con características organolépticas inusuales.

En el estudio de Bravo, (2011) el objetivo de su trabajo fue “Determinar las características fisicoquímicas y sensoriales aceptables en la obtención de hidromiel por fermentación alcohólica de la miel de abeja con una cepa nativa *Saccharomyces sp* y adición de polen. Para obtener hidromiel se manejó mediante dos factores de entrada y cada factor con dos niveles: (20°C, 30°C); adición de polen (0,10%, 0,20%), así mismo se evaluó características fisicoquímicas como la influencia de la temperatura y adición del polen en la producción de etanol, acidez total, pH y características sensoriales. El hidromiel obtenido, se encontró valores dentro de los estándares recomendados por la norma ITINTEC (1985) de la elaboración de los vinos, presentando valores de etanol entre 10 a 12,8 % de etanol, pH de 3.29, y la acidez se encuentra 0,31% como máximo.

Según Cajas, (2019) su estudio donde el objetivo de la presente investigación fue evaluar el efecto de tres diluciones y dos tipos de levaduras sobre los parámetros sensoriales, fisicoquímicos y microbiológicos en la elaboración de hidromiel. Se utilizó una cepa comercial usada habitualmente en panificación (*Saccharomyces sp*) y otra utilizada en la fermentación de vinos (*Lalvin EC1118*) con distintas diluciones de miel, llevando el mosto a (18°, 20° y 22°) grados brix. En los parámetros fisicoquímicos en la fermentación el pH se mantuvo en rangos de 3,0 a 3,5. Los resultados del análisis sensorial muestran a T5 como el tratamiento con mayor aceptación, tratamiento que empleó la cepa comercial Lalvin y su mosto a 20 °Brix para iniciar la fermentación.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. Origen de las bebidas fermentadas

Estas bebidas son el resultado de un proceso de fermentación natural donde se utilizan microorganismos como levaduras y bacterias para convertir la glucosa en alcohol y anhídrido carbónico. Esta tecnología fue descubierta y desarrollada por primera vez en el Antiguo Egipto hace unos 7.000 años. Las bebidas fermentadas tienen una larga historia en la humanidad científicos de la época; Pasteur y Liebig llevaron a cabo varias investigaciones sentaron estudios importantes acerca de la fermentación láctica afirmando que la causa de la misma era por la actividad fisiológica de organismos microbiológicos vivos. Con el descubrimiento de los mecanismos que conllevan la fermentación se inició una nueva revolución industrial basada en el desarrollo de productos orgánicos como el ácido acético, láctico, glicerina, butanol, acetona y etanol (Recker, 2021).

2.2.1.1 Bebidas alcohólicas

Las bebidas alcohólicas son aquellas que contienen una cantidad significativa de alcohol etílico, también conocido como etanol elaboradas a partir de una amplia variedad de productos especialmente frutas, granos y productos azucarados. Entre las bebidas fermentadas existen la sidra, hidromiel, cerveza, vino y destiladas, como el whisky y el vodka. Ferreyra (2006) denomina que una bebida fermentada es la que contienen etanol o alcohol etílico en su composición que se obtiene a partir de la fermentación. Esta reacción es catalizada por enzimas producidas por ciertos microorganismos, como levaduras y bacterias. El producto final de la fermentación depende de los ingredientes utilizados, el tipo de microorganismo utilizado y los factores de entorno, como la temperatura (Astiasarán & Martines, 2005, pág. 307).

2.2.1.2. Tipos de alcoholes

Para la producción de alcohol las materias primas utilizadas pueden variar, esto depende de la estructura vegetal y la forma en que almacenan la energía. Siendo alcoholes de primera, según da, tercera y cuarta generación; según Gómez & Pérez,

(2018) “Los residuos generados en los sembríos de paja de trigo o tallos de maíz (rastrajo), almacenan la energía en forma de carbohidratos complejos como la hemicelulosa y celulosa”. En las materias primas las características pueden determinar los pretratamientos y tratamientos necesarios para la obtención de los azúcares fermentables, presentes en caña de azúcar, remolacha, sorgo, el maíz, almidón... donde a estas materias primas solo requiere molienda, maceración, fermentación, destilación (Gómez & Pérez, 2018).

2.2.1.2.1 Etanol de Primera Generación

Mediante el proceso de fermentación de los azúcares presentes en diferentes materias primas las cuales son utilizadas en la biomasa del producto que se va a fermentar, misma que puede ser metabolizados por microorganismos del género *Saccharomyces*, *Zymomonas*, *Kluyveromyces*, y *Zygosaccharomyces*. Otras fuentes ricas en carbohidratos también son usadas para obtener etanol, consideradas como de primera generación, son las materias primas con contenido alto de almidón, como los cereales, tubérculos y rizomas. Para estas materias primas se deben utilizar las siguientes etapas en la producción de etanol: molienda, licuefacción, sacarificación, fermentación, destilación y deshidratación (Gómez & Pérez, 2018).

2.2.1.2.2 Etanol de Segunda Generación

La producción de etanol de segunda generación se ha convertido en un tema de interés para la industria de biocombustibles. A partir de residuos agrícolas como cáscaras de maíz, cáscaras de arroz, bagazo de caña de azúcar, paja de trigo, aserrín, residuos de la industria alimentaria y agroindustrial, se puede producir etanol de segunda generación. El bioetanol de segunda generación ofrece numerosas ventajas, entre las que se destacan su bajo impacto ambiental y su sostenibilidad (Gómez & Pérez, 2018).

2.2.1.3. Normativa de las bebidas alcohólicas

Según la norma NTE INEN 2802 (2015) adjunta documentos donde, en su totalidad o en parte son referidos y son indispensables para su aplicación.

- NTE INEN 338, Bebidas alcohólicas. Definiciones
- NTE INEN 339, Bebidas alcohólicas. Muestreo
- NTE INEN 340, Bebidas alcohólicas. Determinación del grado alcohólico
- NTE INEN 341, Bebidas alcohólicas. Determinación de la acidez total
- NTE INEN 372, Bebidas alcohólicas. Vino. Requisitos

2.2.1.4. Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es un proceso por el cual los microorganismos como las levaduras metabolizan los azúcares para producir etanol y dióxido de carbono. Es un proceso químico complejo que involucra la descomposición de los azúcares en almidón o glucosa, los cuales son convertidos en etanol y dióxido de carbono. Esta fermentación ocurre a temperatura ambiente y a presión atmosférica "la consecuencia de la vida sin aire" (Vázquez & Dacosta, 2007).

Carbonero, (2014) menciona que la fermentación es un proceso metabólico generador de energía en el cual tanto los donadores como receptores de electrones son compuestos orgánicos. En la fermentación, el sustrato da lugar a una mezcla de productos finales, unos más oxidados que él y otros más reducidos. Los sustratos fermentables no pueden ser ni muy oxidados ni muy reducidos.

Los sustratos fermentables están al mismo nivel de oxidación que el material celular y al mismo tiempo sirven como principal fuente de carbono para las biosíntesis. La principal o única contribución de la fermentación es la producción de ATP, por fosforilaciones a nivel de sustrato.

En la industria de alimentos el proceso de fermentación es una operación la cual favorece el crecimiento de microorganismos de forma controlada. Una correcta fermentación comprende una transformación de azúcares fermentables en alcohol, así asegurando los parámetros idóneos para el desarrollo de las levaduras en el mosto durante todo el proceso de fermentación (Téllez et al., 2012).

2.2.1.5. Glucolisis

En la fermentación la conversión de glucosa en piruvato se produce a través de una secuencia metabólica conocida denominada glucólisis o vía de glucólisis de Embden-Meyerhof (Figura 1), esta sucede en el citosol de la célula que no requiere oxígeno para su realización y se trata de una secuencia de más o menos 10 etapas. A lo largo de estas una molécula de glucosa se transforma en dos moléculas de ácido pirúvico. Las rutas metabólicas seguidas en la degradación fermentativa de los hidratos de carbono, así como los productos finales, varían ampliamente en distinto grupos microbianos.

Los carbohidratos o derivados pueden utilizarse como sustratos fermentables para cualquier microorganismo. La lista incluye polisacáridos como almidón, celulosa y quitina, disacáridos como lactosa, maltosa y sacarosa, hexosas como glucosa, fructosa y galactosa, pentosas como arabinosa y xilosa, ácidos como el ácido glucónico y derivados del ácido glucurónico, como el manitol, polialcohol, y glicerina (Carbonero, 2014).

Según Carbonero, (2014) la fermentación de la glucosa, azúcar empleado por organismos capaces de transformar cualquier hidrato de carbono, inicia por una fosforilación a expensas de ATP para formar glucosa - 6 -fosfato donde se utilizan 2 moles de ATP para formar 1 mol de fructosa-1,6-difosfato. Esta se escinde, por la acción del enzima aldolasa, en dos triosasfosfato, -gliceraldehído-3-fosfato y fosfato de dihidroxiacetona, fácilmente interconvertibles. La oxidación de la triosafosfato, acoplada a la reducción de NAD^{*} es acompañada de una esterificación de fosfato inorgánico, para dar, a partir de cada fracción de C₃, una molécula de ácido - 1,3-difosfoglicérico. Las etapas subsiguientes en la conversión de este compuesto en ácido pirúvico permiten la transferencia de ambos grupos fosfato al ADP, de modo que se forman un total de 4 moles de ATP por mol de glucosa. Ya que previamente se habían gastado 2 moles de ATP en las etapas iniciales de activación, el rendimiento en la glicolisis es de 2 moles de ATP por mol de glucosa. La vía de Embden-Meyerhof es el mecanismo más extendido para la conversión de glucosa en ácido pirúvico, y es utilizado por muchos grupos de bacterias, además de por las levaduras de la fermentación alcohólica (Tabla 1). Los distintos tipos de

fermentaciones que aquéllas llevan a cabo reflejan exclusivamente diferencias respecto al metabolismo del ácido - pirúvico.

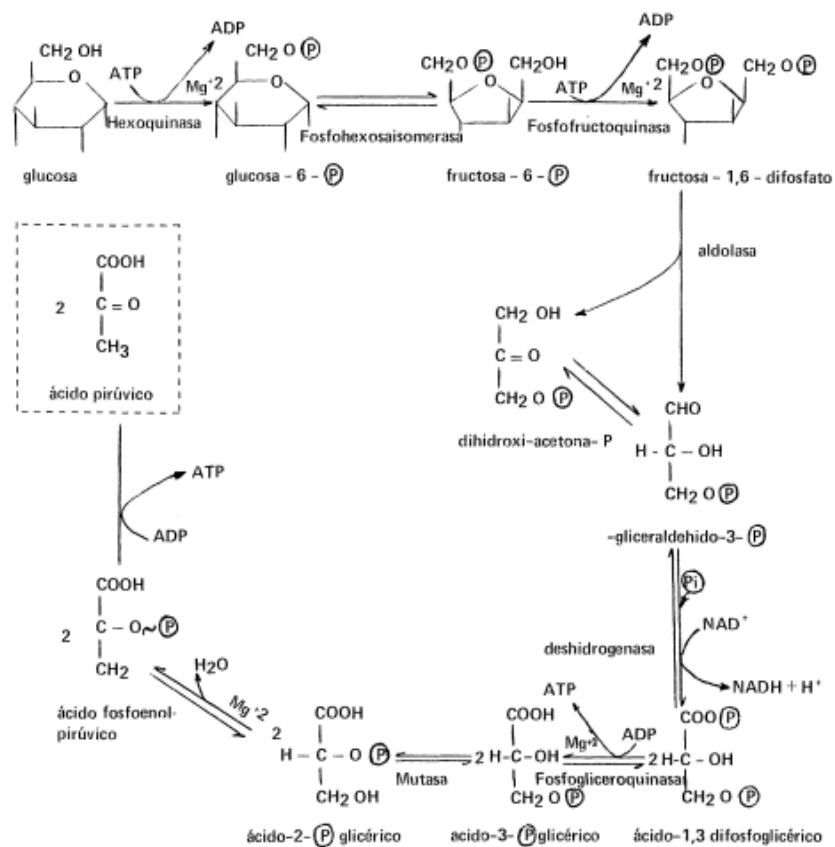


Figura 1 Vía glucolítica de Embden-Meyerhof

Fuente: (Carbonero, 2014)

Este se acaba convirtiendo en ácido pirúvico, siguiendo una entre varias rutas posibles. El ácido pirúvico es el intermediario metabólico central del metabolismo fermentativo de todos los hidratos de carbono. Las reacciones que intervienen entre la fosforilación inicial de la glucosa y la formación de ácido pirúvico están diseñadas para permitir la producción de ATP en exceso del aporte requerido para la fosforilación del sustrato. Parte, ya veces toda, la producción de energía de las fermentaciones es consecuencia de las reacciones que preceden a la formación de piruvato. Este es un compuesto más oxidado que la glucosa y su formación va acompañada de una reducción de los nucleótidos de piridina. Para que la fermentación alcance su equilibrio final de oxidación-reducción, los nucleótidos de piridina reducidos deben reoxidarse. Esta reoxidación ocurre en las etapas finales de conversión del ácido pirúvico en los productos finales de la fermentación. Dos vías metabólicas principales están involucradas en las primeras etapas de la

descomposición de la glucosa fermentativa: la vía de la glucólisis de Embden-Meyerhof y la vía de oxidación del pentosafosfato de Warburg-Dickens.

2.2.2. Enzimas

En la antigüedad, las hojas de ciertas plantas se utilizaban para envolver la carne, promoviendo la acción de las proteasas vegetales (papaína, bromelina y ficina) sobre las proteínas de los tejidos animales, haciendo que se ablandaran. Algunos grupos de personas utilizaban los estómagos de corderos y terneros como recipiente, provocando accidentalmente que la leche se coagulara con enzimas asociadas a este órgano. La acción de las proteasas del estómago (principalmente la quimosina) sobre las caseínas provoca su coagulación, proceso fundamental en la elaboración del queso. Las enzimas son proteínas que actúan como biocatalizadores, realizan reacciones bioquímicas muy rápidamente, presentan un alto grado de especificidad y no se consumen durante la reacción (Badui, 2006).

2.2.2.1. Acción de las enzimas

La hidrólisis enzimática ha reemplazado a la hidrólisis ácida en los últimos años debido a la disponibilidad de nuevas enzimas, por lo que hoy en día la mayor parte de este proceso se lleva a cabo utilizando enzimas porque esta técnica tiene ventajas tales como: control de la formación de productos no deseados y mayor rendimiento del producto (Espitia, 2009).

La activación de las enzimas se caracteriza por la formación de un complejo que presenta el estado de transición donde el sustrato se une a la enzima a través de numerosas interacciones débiles como son: electrostáticos, hidrófobos, puentes de hidrógeno... en un lugar específico, el centro activo. Debido a su naturaleza química, les afectan a las enzimas los mismos factores que alteran a las proteínas; por esta razón, para actuar en forma óptima, requiere de ciertas condiciones de temperatura, pH, fuerza iónica...; condiciones en las que la estructura tridimensional es estable y la carga óptima para interactuar con el sustrato.

Diversas enzimas están formadas por solo una cadena polipeptídica, como la tripsina, pepsina y lisozima. Otras están formadas por más de una cadena polipeptídica, por

lo que dependen de su estructura cuaternaria para presentar actividad por ejemplo las enzimas multiméricas son la β -galactosidasa de *E. coli*, catalasa, glucosa oxidasa y polifenoloxidasas (Badui, 2006).

2.2.2.2. Función de las enzimas

Según Badui, (2006) "Las enzimas poseen la capacidad de catalizar reacciones químicas de manera muy específica; es decir, su intervalo de acción se limita a un determinado tipo de compuesto el cual debe reunir características estructurales para que pueda ser utilizado como sustrato". La enzima en su estructura globular en una estructura globular una o más cadenas polipeptídicas que proporcionan un pequeño conjunto de aminoácidos para formar el sitio activo, o sitio donde se unen los sustratos y tienen lugar las reacciones. Si las formas de la enzima y el sustrato no coinciden perfectamente, no se pegan, lo que garantiza que la enzima no entre en una reacción incorrecta. Cuando se libera el producto, la reacción no afecta a la propia enzima y la enzima se recombina con un nuevo sustrato (Benavides & Pozo, 2008).

Tabla 1 Acción que ejerce el almidón de la fosforilasa, α -glucosidasa, β -glucosidasa, α -amilasa, β -amilasa.

Enzima	Acción	Microorganismos productores
α -glucosidasa	Necesita agua para la hidrólisis, ataca enlaces α -1,4 ó α -1,6 con menos frecuencia.	<i>Aspergillus niger</i> <i>Rhizopus niveus</i>
	Exoenzima que acorta las cadenas de almidón en una unidad, partir del extremo no reductor y libera glucosa.	<i>Aspergillus oryzae</i>
β – amilasa	Necesita agua para la hidrólisis, ataca enlaces α -1,4.	<i>Bacillus megaterium</i>
	Acorta las cadenas de almidón en dos unidades, partir del extremo no reductor, las que libera como maltosa.	<i>Bacillus cereus</i> <i>Streptomyces sp.</i>
α – amilasa	Necesita agua para la hidrólisis, ataca enlaces α -1,4.	<i>Bacillus subtilis</i>
	Endoenzima que rompe las cadenas al azar generando una mezcla de maltosa y oligosacáridos.	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>
Enzimas desramificadoras (Pululanasa)	Necesita agua para la hidrólisis, ataca enlaces α -1,4. Desramificación de la amilopectina produciendo una mezcla de dextrinas y unos pocos azúcares	<i>Clostridium thermodyrosulfurico</i> <i>Leuconostoc</i> <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Bacillus polymixa</i>

Fuente: (Espitia, 2009).

2.2.2.3. Clasificación de la enzima

Según Anaya & Mantero, (2019) la clasificación de las enzimas se determina por el nombre de las enzimas es el del sustrato más el sufijo: asa. Los nombres de las enzimas revelan la especificidad de su función.

Tabla 2 *Clasificación de la enzima y característica.*

Nombre	Característica	Enzimas
Oxidoreductasas	Catalizan reacciones de oxidorreducción	Deshidrogenasas, Oxidasas, Oxigenasas Peroxidasas
Transferasas	Promueven la transferencia de distintos grupos químicos entre una molécula donadora y una aceptora	Glicosil transferasas, Aminotransferasas Fosfo transferasas.
Hidrolasas	Llevan a cabo la ruptura de enlaces covalentes con la introducción de una molécula de agua	Amilasas, Esterasas, Glicosidasas, Lipasas
Liasas	Rompen enlaces para la eliminación de un determinado grupo químico del sustrato y forman dobles ligaduras sin la introducción de moléculas agua	Dolasas, Descarboxilasas, Deshidratasas, Pectina liasa
Isomerasas	Catalizan el rearrreglo espacial de grupos del sustrato sin modificar su composición química	Epimerasas, Racemasas
Ligasas	Promueven la unión covalente de dos moléculas acopladas con la ruptura de un enlace pirofosfato proveniente de ATP, UTP o CTP, como fuente de energía	Sintetasa

Fuente: (Badui, 2006)

2.2.2.4. α -amilasa

La enzima α -amilasa es una endohidrolasa, actúa de manera aleatoria sobre enlaces α -(1-4) de la amilosa y de la amilopectina, con lo cual se producen dextrinas de 10 a 20 unidades de glucosa. Se le da el nombre de enzima licuante debido a que su presencia provoca la rápida reducción de la viscosidad de las soluciones de almidón. Las α -amilasa es una enzima que cataliza la hidrólisis de los enlaces alfa-glucosídicos (1-4), de los polisacáridos alfa glucosídicos de alto peso molecular, tales como el almidón y el glucógeno, liberando glucosa y maltosa.

Se empleo la enzima de la casa comercial MerQuian la cual es una Spezyme® Fred, α -amilasa hidrolizante de almidón con alta estabilidad de calor y baja pH se deriva de una cepa modificada genéticamente de *bacillus licheniformis*. La enzima empleada no requiere calcio adicional para operar en condiciones de licuefacción industrial. Spezyme® Fred es una endoamilasa que hidroliza al azar los enlaces α -1,4-glucosídicos para reducir la viscosidad del almidón gelatinizado, produciendo dextrinas solubles y oligosacáridos. La enzima liquida color marrón claro posee una actividad de 17,400 LU / G (mínimo), un pH > 5.0 y la gravedad específica de 1.18 a 1,20 g / ml. Los Beneficios de rendimiento está diseñado para proporcionar:

- Excelente rendimiento sin calcio agregado, en la mayoría de las condiciones
- Estabilidad mejorada de alta temperatura
- Mejora de la estabilidad de pH

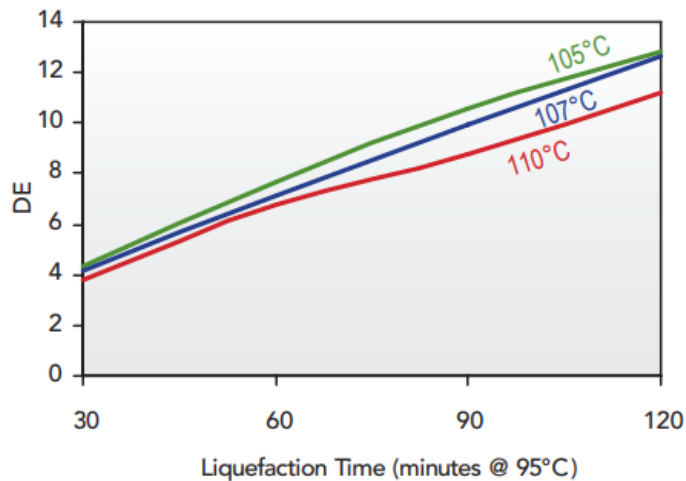


Figura 2 Efecto del pH en condiciones de (dextrosa equivalente)

Fuente: Anexo 4

Tabla 3 Condiciones recomendadas para el uso de la enzima SPEZYME® FRED

Condiciones de funcionamiento recomendadas	
pH	5.5 a 5.8
Sustancia seca	32 – 35% v/v
Condiciones de licuefacción	95°C durante 90 - 120 minutos (molienda húmeda) 85 - 93°C durante 90 -120 minutos (Molino Seco)

Efecto del pH y la temperatura a condiciones de 35% DS, licuefacción primaria a 107°C para 5 minutos, 12 lu/g de enzima, pH 5,6, 50 ppm de sulfito

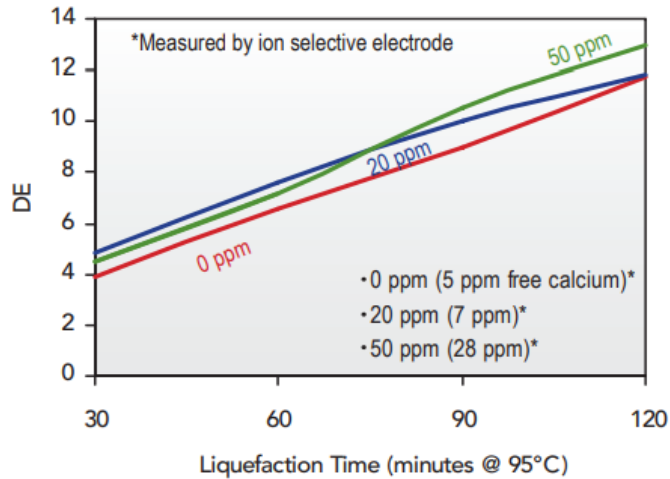


Figura 3 Efecto del calcio agregado en DE.

Fuente: Anexo 4.

El nivel de uso óptimo en la licuefacción depende de los parámetros de procesamiento, como el tipo de materia prima material, tiempo de procesamiento, pH, temperatura y DS (Sustancia seca). Tasa de dosificación típica de α -amilasa para licuefacción de almidón molido en húmedo es de 0,04 a 0,08% p/p DS. Un mínimo dosis inicial de enzima de 10 a 12 LU/g DS (0.57 a 0.69 kg/MT DS) se recomienda en la mayoría de las condiciones. A dosis inicial de 20 a 24 LU/g DS (1,2 a 1,4 kg/MT DS) se recomienda para puré de grano seco molido bajo la mayoría condiciones.

2.2.2.5. Glucoamilasas

Enzimas amiloglucosidasa también llamada glucoamilasa, tiene la capacidad de hidrolizar enlaces α -(1-4) como los α -(1-6) de los glucanos por el extremo no reductor de la cadena; produce b-glucosa, por lo que se lleva a cabo la inversión de la configuración del azúcar, como en el caso de la b-amilasa. Su acción prolongada puede causar la hidrólisis total del almidón (figura 5.10), por lo que se emplea en la fabricación los jarabes de glucosa. Las glucosidasas o α -1,4-glucan-glicohidrolasas son enzimas carbohidrolasas no específicas, de acción externa, misas que rompen enlaces glucosídicos α -1,3, α -1,4 y α -1,6, generando glucosa a partir de los enlaces terminales no reductores de la cadena de almidón, por lo tanto, son enzimas sacarificantes.

La enzima OPTIDEX® L-400 está destinada a la producción de glucosa del almidón licuado. La enzima es una 1,4- α -Dglucano glucohidrolasa fúngica comúnmente

denominada como una glucoamilasa o amiloglucosidasa es una exo-amilasa que cataliza la liberación de unidades de glucosa sucesivas de extremos no reductores de dextrina y cadenas de oligosacáridos por hidrolizando tanto lineal (1,4- α -D) como ramificado (1,6- α -D) enlaces glucosídicos.

Tabla 4. Condiciones recomendadas para el uso de la enzima OPTIDEX® L-400.

Condiciones de funcionamiento recomendadas	
pH	4.0 a 4.5
Gravedad específica	1,13 a 1,15 g/ml
Condiciones de sacarificación	60°C durante 12 - 24 horas

La enzima OPTIDEX® L-400 está esencialmente libre de actividad transglucosidasa y, por lo tanto, produce rendimientos casi cuantitativos de glucosa a partir de almidón licuado. La industria del jarabe de glucosa utiliza la enzima OPTIDEX® L-400 para sacarificar almidón licuado de varias fuentes, incluyendo maíz, trigo, mijo, tapioca, cebada, arroz y papas, los jarabes ricos en glucosa resultantes se pueden purificar para cumplir con varias especificaciones: cristalizado para producir dextrosa, isomerizado para producir jarabe de alta fructosa, o fermentado para producir productos que incluyen alcohol y ácido cítrico.

EFFECTO DEL PH: Para obtener la máxima actividad de glucoamilasa de OPTIDEX® L-400, El rango de pH óptimo es de pH 4.0 a 4.4. el operativo rango es de pH 3.5 a 5.0 como se muestra en la Figura 4. Para máxima estabilidad de la enzima, el rango de pH es de 3.5 a 5.5 como se muestra en la Figura 5.

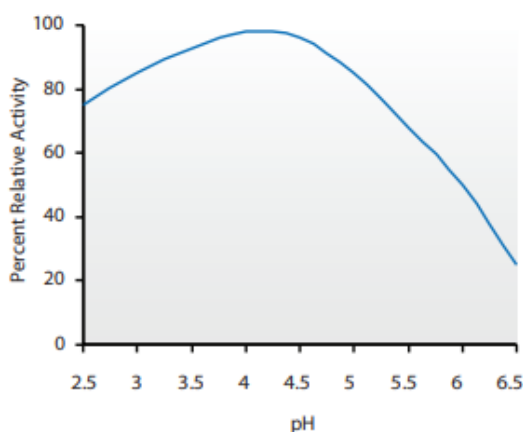


Figura 4 Efecto del pH sobre la Actividad Enzimática Condiciones: 1 hora, pH 4,2, 4 % p/v de almidón soluble

Fuente: Anexo 3.

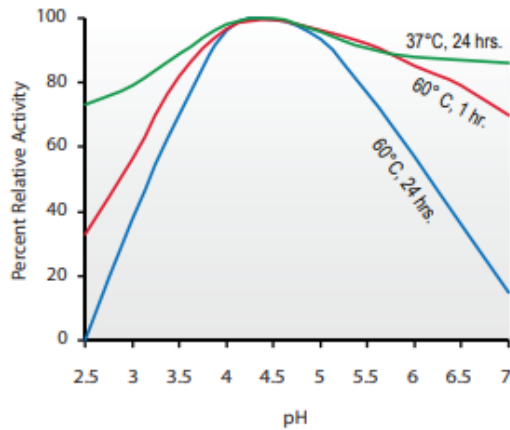


Figura 5 Efecto del pH sobre la estabilidad de la enzima Condiciones: pH 4,2, 30 % p/p de glucosa.

Fuente: Anexo 3

Pautas de dosis: En una sacarificación típica a 60°C (140°F), pH 4.3 y con un tiempo de espera de 24 a 72 horas, el recomendado la dosis es de 0,36 a 1 kg (0,29 a 0,88 litros) de OPTIDEX® L-400 de enzima por tonelada métrica de sustancia seca de almidón

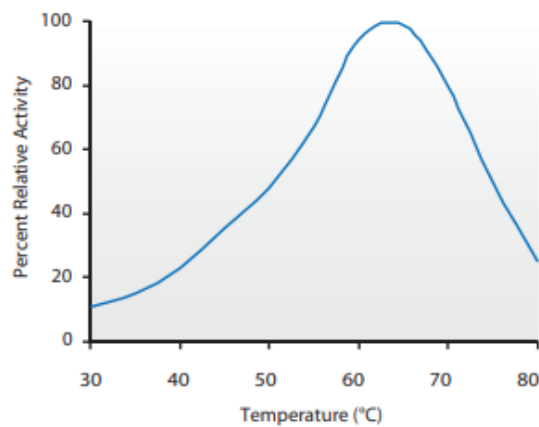


Figura 6 Efecto de la temperatura sobre la actividad enzimática Condiciones: pH 4,2, 30 % p/p de glucosa

Fuente: Anexo 3

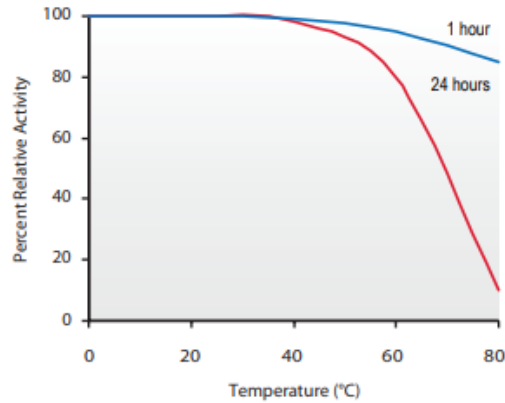


Figura 7. Efecto de la temperatura sobre la estabilidad de la enzima Condiciones: pH 4,2, 30 % p/p de glucosa.

Fuente: Anexo 3

2.2.3. Hidromiel

El hidromiel es reconocido como bebida nacional en países de Europa del Este, Cercano Oriente y Asia; regiones donde se ha mantenido la tradición y también manejan procesos de alimentos a escala industrial. El hidromiel o vino de miel es una bebida de baja graduación alcohólica que se obtiene haciendo fermentar miel en cierta cantidad de agua, alcanza un contenido de 8-18% v/v de etanol, los hidromieles fuertes tienen la ventaja de conservarse indefinidamente, al envejecer pueden rivalizar con los mejores vinos, y son los más apreciados por los catadores. La calidad de las mieles varía según el perfume de las flores, y el sabor del hidromiel varía según las mieles empleadas en su fabricación. Puede, pues, decirse que hay diferentes cosechas de hidromieles, como hay diferentes cosechas de vinos (Layens, 2008, pág. 355).

2.2.3.1. Tipos de Hidromiel

2.2.3.1.1. Hidromiel Tradicional

Seca: La impresión general del hidromiel es similar en equilibrio, cuerpo, intensidad de sabor a un vino blanco seco, con una mezcla agradable de carácter sutil a miel, ésteres frutales suaves y alcohol limpio (Strong & England, 2015).

- El aroma a miel puede ser sutil, aunque no siempre identificable. No deberían esperarse aromas significativos a miel o dulzor.

- El sabor debe ser sutil (si es que lo hay) carácter a miel, pueden exhibir de un sutil a apreciable carácter varietal notable si se declara una miel varietal (diferentes variedades tienen diferentes intensidades). Los niveles de dulzor residual son de mínimos a ausentes.
- La sensación en boca es generalmente medianamente ligera (pero no acuosa) y el cuerpo no debe ir acompañado de un dulzor residual significativo.

Semi-Dulce: la primera impresión es similar en cuerpo, equilibrio, final e intensidad de sabor a un vino blanco semi-dulce (o medio-seco), con una mezcla agradable de carácter a miel, ligero dulzor, ésteres frutales suaves y alcohol limpio (Strong & England, 2015).

- Aroma a miel debería ser perceptible y pudiendo tener un ligero dulzor que exprese el aroma del néctar de las flores.
- De sabor sutil a moderado carácter de miel que puede exhibir un sutil a perceptible carácter varietal si se declara una miel varietal (diferentes variedades tienen diferentes intensidades).
- La sensación en boca donde el cuerpo es generalmente de medio-ligero a medio-pleno.

Hidromiel Dulce: La impresión general similar en equilibrio, cuerpo, final e intensidad de sabor a un bien elaborado postre de vino (Sauternes), con una mezcla agradable de carácter a miel, dulzor residual, ésteres frutales suaves y alcohol limpio (Strong & England, 2015).

- El equilibrio adecuado de dulzor, acidez, alcohol y carácter a miel es la medida final esencial de cualquier hidromiel.
- El aroma a miel debería dominar y a menudo el dulzor es de moderado a fuerte, generalmente expresando el aroma del néctar de las flores.

2.2.3.1.2. Hidromiel con Frutas

La Melomel es un hidromiel elaborada con frutas, aunque también tienen otros nombres (cyser, pyment). Existe diferentes nombres de categorías y subcategorías para evitar la confusión de utilizar los mismos nombres de diferentes maneras según la variedad de fruta utilizada. (Strong & England, 2015)

- Cyser (Hidromiel con Manzanas)
- Pymment (Hidromiel con Uvas)
- Hidromiel con Bayas
- Hidromiel con Frutas Carozas
- Melomel

2.2.3.1.3. Hidromiel con Especies

Las hierbas aromáticas y las especias son conocidas por sus propiedades antisépticas, aromatizantes, curativas y medicinales. Debido a las propiedades conservantes, antiasmáticas, antidepresivas, sedantes y bioactivas de las plantas aromáticas y/o especias, la adición de estos productos durante la fermentación alcohólica de la miel permite obtener una miel denominada Metiglin, que se traduce como "vino curativo" (Blanco et al., 2014).

Hidromiel afrutado y especiado: Esta miel contiene una o más frutas y una o más especias que son distintivas y bien integradas en el equilibrio miel-dulce-ácido-tanino-alcohol. Diferentes tipos de frutas y especias le dan propiedades muy diferentes (Strong & England, 2015).

- El aroma depende del dulzor y la intensidad, un sutil a claramente distintivo carácter a miel, frutas, especias (versiones secas y/o tipo aguamiel tenderán a tener aromáticos más bajos que las versiones dulces).
- El carácter especiado debería mostrar aromáticos distintivos asociados con las especias particulares
- El carácter de las especias debe ser agradable y de apoyo, no artificial e inapropiadamente abrumador (teniendo en cuenta el carácter de la especia)

2.2.3.2. Materias primas

2.2.3.2.1. Miel

La miel se ha utilizado en la antigüedad como símbolo de diversas actividades culturales y religiosas. Alimento procedente del néctar de las flores o secreciones vivas de las plantas, que pueden ser líquidas, viscosas o cristalinas, que la abeja recoge, transforma y combina con sus propias sustancias. La tarea de convertir el néctar en

miel la realizan las abejas Las abejas en la colmena. Según Vicuña, (2019) menciona que “El néctar que recolectan las abejas es mezclado con la saliva de estas al pasar por la boca y antes de ser trasladado al buche”.

La saliva de las abejas contiene proteínas, sales minerales, ácidos y además una distasa que contiene sacarosa del néctar en glucosa y levulosa. Las abejas al regresar con el buche lleno de néctar a su colmena, lo deposita en un panal, o lo pasa a alguna nodriza, la que se encarga de la posterior transformación del néctar en miel (Anaya & Mantero, 2019).

2.2.3.2.2. Composición química de la miel.

La miel se produce cuando las abejas recolectan el néctar de las flores y lo mezclan con enzimas propias y almacenan en sus panales. Luego, la miel se deshidrata hasta que alcanza su consistencia característica solución de azúcar sobresaturada, alrededor del 80-90% de la composición total; ya que la glucosa y la fructosa son los azúcares predominantes, mientras que el contenido de disacáridos como la sacarosa y la maltosa está entre el 5% y el 10% p/p, que incl. carbohidratos como turanosa, isomaltosa, maltosa y maltosa (Cajas, 2019).

Tabla 5 Composición de la miel de abeja (en 100g de miel)

Composición fisicoquímica	
Azúcares	75-80g
Humedad	15-20g
Grasas	0.1-0.2g
Proteína	0.4-0.5g
Sales minerales	0.2-0.6g

Fuente: (Vicuña, 2019).

La miel se compone de tres tipos de azúcares en solución acuosa: levulosa con una tasa de participación superior al 40%; glucosa (dextrosa, glucosa), que representa del 34% al 35%; % de la cantidad de intervención. La miel de abeja contiene una amplia gama de compuestos, incluyendo azúcares (glucosa, fructosa y maltosa), vitaminas, minerales, aminoácidos, enzimas, ácidos orgánicos, lípidos, flavonoides y aceites

esenciales. También contiene pequeñas cantidades de proteínas, polisacáridos, esteroides, antocianinas y pigmentos (Vicuña, 2019).

2.2.4. Papa

La mayor diversidad genética de papa (*Solanum tuberosum* L.) tiene su centro de origen en América del Sur, existe ocho especies cultivadas en los andes y 200 especies silvestres, es uno de los tubérculos más consumidos en el Ecuador la planta *Solanum tuberosum*, posee un importante contenido de almidón, que en promedio puede alcanzar el 14%, el contenido en proteína y grasa es bajo y presenta una gran variedad de posibilidades para ser industrializada y obtener productos con valor agregado de gran aceptación por parte del consumidor en general (Benavides & Pozo, 2008).

En Ecuador la producción de papa se distribuye en tres zonas geográficas: norte, centro y sur. Las diferencias agroecológicas para su cultivo están determinadas no por la latitud, sino por las relaciones entre clima, fisiografía y altura. El cultivo de la papa se desarrolla en terrenos irregulares, laderas con más de 45° de pendiente y un rango de altitud de 2400 a 3800 m.s.n.m. siendo en condiciones de subpáramo apta para su desarrollo (Pumisacho & Sherwood, 2002, pág. 21).

2.2.4.1. Taxonomía de la papa

La papa también conocida con el nombre de patata según el Centro Internacional de la Papa con sede en Perú. Anaya & Mantero, (2019) describe que la taxonomía de la papa es:

- Reino: Vegetal
- Subreino: Plantae
- Clase: *Angiospermae*
- Subclase: *Dicotiledónea*.
- Orden: *Tubiflorales*.
- Familia: *Solanaceae*
- Género: *Solanum*.
- Especie: *S. Teberosum*.
- Nombre científico: *Solanum teberosum*. (Anaya & Mantero, 2019)

2.2.4.2. Composición

La composición de la patata depende de la variedad cultivada, los tubérculos se componen básicamente de 72-75% agua, 16-20% almidón, 2,0-2,5% sustancias nitrogenadas, 0-15% lípidos y 1,0-1,8% fibra nutritiva como fibra dietética (celulosa). Otro compuesto que contiene es la solanina, que se produce en cantidades muy pequeñas (menos de 0,2 mg/g de producto), pero bajo ciertas condiciones (debido a daños prolongados por la luz o mecánicos) o más puede aumentar a 1 mg/g. Aunque las papas son tóxicas en estas concentraciones, el pelado y el tratamiento térmico (como hervirlas o freírlas) pueden destruir esta sustancia, pero su sabor amargo permanece (Benavides & Pozo, 2008).

Tabla 6 Composición fisicoquímica de la papata

Composición química de la parte comestible		
Componente	Papa común	Papa criolla
Agua	76.7	75.5
Proteína	1.9	2.5
Grasas	0.1	0.1
Carbohidratos	19.3	18.7
Fibra	1.0	2.2
Cenizas	1.0	1.0

Fuente: (Benavides & Pozo, 2008)

2.2.4.3. Almidón

Es un carbohidrato que ha sido fundamental en la dieta del hombre desde la prehistoria, es así como en la Industria Alimentaria se le ha dado usos a nivel industrial, se encuentra en los cereales, los tubérculos y en frutas como polisacáridos de reserva energética. La concentración de almidón varía según el estado de madurez de la fuente, constituye la mayor fracción de los hidratos de carbono ya que los azúcar es son muy escasos; a medida que la materia prima madura, se hidroliza por la acción de las amilasas, y mediante otros sistemas enzimáticos se sintetiza la sacarosa y la fructosa que se encuentran cuando la fuente de almidón está madura. (Badui, 2006) El almidón se organiza en gránulos individuales, cuyo tamaño, forma, morfología, composición y estructura supramolecular dependen del origen vegetal. Los gránulos de almidón tienen un aspecto característico y su origen puede determinarse

mediante un microscopio. La forma puede ser regular (por ejemplo, esférica, ovalada o angular) o muy irregular. Diferentes tamaños, desde pequeños granos de arroz y avena hasta grandes papas y plátanos; para la fécula de patata, el tamaño medio de las partículas pequeñas está entre 1 y 20 μm y el tamaño de las partículas grandes está entre 20 y 110 μm (Peña, 2017).

Según Benavides & Pozo, (2008) afirma que “el almidón es un sistema heterogéneo, de dos compuestos distintos: la amilasa que es un polímero lineal y la amilopectina que es un polímero ramificado”.

2.2.4.4. Composición del almidón

En general en fuentes ricas de almidón la relación de amilasa y amilopectina dependen de su origen botánico. Las sustancias que se encuentran comúnmente en los gránulos de almidón son amilopectina, amilosa, moléculas intermedias entre la amilosa y la amilopectina, lípidos (incluye fosfolípidos y ácidos grasos libres), monoéster de fosfato y proteínas/enzimas.

Según (Peña, 2017) en su trabajo de investigación presenta valores reportados por otros investigadores para el contenido de proteínas, fósforo y lípidos (Tabla 4). Los niveles de proteína informados oscilan entre 0,05 y 0,2%. El almidón de patata casi no contiene lípidos (0,2% de trazas).

Tabla 7 Composición del almidón

Referencia	Humedad (%)	Proteínas Minerales Fosforo Lípidos			
		(% peso base seca)			
Mitch (1984)	17-18	Trazas	0.35	-	-
Gaillard and Bowler (1987)	12-17	0,05-0,20	0,35-0,4	0,04- 0,13	0,0-0,20
Alexander (1995)	16-18	0,06	0,04	0,08-0,04	-
Haase and plate (1996)	-	-	-	0,12	-
Vasanthan et al., (1999)	13-17	0,07-0,14	0,18-0,32	0,005-0,08	0,08-0,17

Fuente: (Peña, 2017)

El contenido y la estructura de amilopectina y amilosa juegan un papel importante en las propiedades funcionales del almidón. Sin embargo, los lípidos, fosfolípidos y

grupos fosfomonoéster tienen una influencia significativa en las propiedades funcionales del almidón, aunque son componentes menores (Peña, 2017).

2.2.4.5. Propiedades fisicoquímicas del almidón

2.2.4.5.1. Amilosa

Es un polímero de glucosa que desde un punto de vista químico es mezcla de dos polisacáridos muy similares, la amilosa que es producto de la condensación de D-glucopiranosas por medio de enlaces glucosídicos a (1,4) que se establece en largas cadenas lineales con 1 000- 4 000 unidades y pesos moleculares hasta de un millón; es decir, la amilosa es una α -D-(1,4)-glucana, cuya unidad repetitiva es la α -maltosa. Posee una facilidad de adquirir una conformación tridimensional helicoidal figura (1), donde cada vuelta de la hélice consta de seis moléculas de glucosa (Badui, 2006). Los enlaces de hidrógeno en la amilosa son responsables de la absorción de agua y de la formación de geles (originan redes tridimensionales), en el curso de la retrogradación, después de la gelatinización, esto debido a su naturaleza cristalina, la amilosa solo se hincha a una temperatura elevada. En solución, la amilosa está bajo la forma de ovillo estadístico y algunas veces como hélices, concretamente en presencia de ácidos grasos o yodo (formación de clorato, de color azulado) (Benavides & Pozo, 2008).

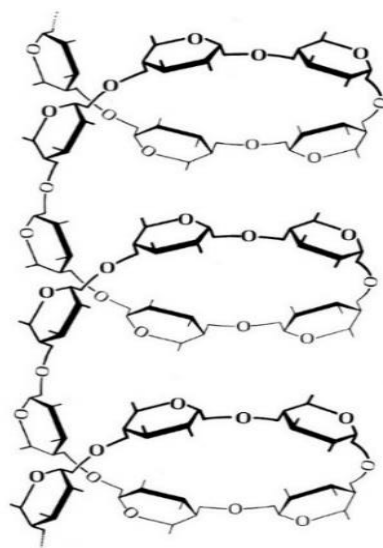


Figura 8 Enrollamiento helicoidal de la amilosa (Badui, 2006)

Fuente: (Benavides & Pozo, 2008)

2.2.4.5.2. Amilopectina

La amilopectina contiene ramificaciones que le dan una forma molecular similar a la de un árbol; las ramas están unidas al tronco central (semejante a la amilosa) por enlaces α -D-(1,6), localizadas cada 15-25 unidades lineales de glucosa (figura 2.). Su peso molecular es muy alto, ya que algunas fracciones llegan a alcanzar hasta 200 millones de daltones, aunque se han reportado pesos de entre 300,000 y 500,000. En términos generales, los almidones contienen aproximadamente 17-27% de amilosa, y el resto de amilopectina (tabla 4).

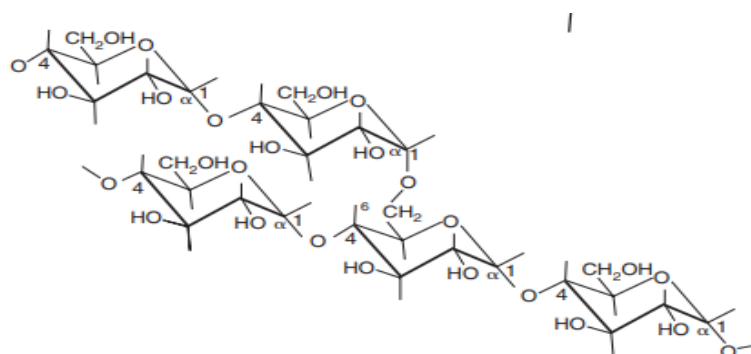


Figura 9 estructura química de la amilopectina.

Fuente: (Benavides & Pozo, 2008)

Tabla 8 Propiedades fisicoquímicas de amilasa y amilopectina

Propiedad	Amilasa	Amilopectina
Peso molecular	105-106 Da	107-109 Da
Yodo unión/color	20 %/azul- negro	<1 %/rojo-purpura
Digestibilidad por β amilasa	100%	Aprox. 60 %
Dilatación en soluciones acuosas	Inestable	Estable
Solubilidad	Baja/apenas soluble	Alta
Temperatura de gelatinización	Baja	Alta
Temperatura de fusión	Baja	Alta
Complejo amilosa-lípido	Cantidad muy alta	No
Formación de gel	Firme, irreversible	Suave, reversible
Films	Coherente	No forma fácilmente
Viscosidad	Baja	Alta
Espesante	Pobre	Bueno
Tasa de retrogradación	Alta	Baja

Fuente: (Anaya & Mantero, 2019)

2.2.5. Mora

La mora es un fruto comestible de distintas especies botánicas se adapta en altitudes de 1 200 y 3 500 m.s.n.m. su presentación en bayas del género *Rubus*, proveniente de plantas sarmentosas y espinosas comúnmente llamadas zarzamoras.

Tabla 9. Taxonomía de la mora (*Rubus glaucus*)

Reino	Plantae
Subreino	Tracheophyta
Superdivisión	Spermatophyta
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae

Fuente: (Franco & Bernal, 2020)

Las moras, frambuesas y las zarzamoras también pertenecen al género *Rubus*, desde 1881 a la fecha se han desarrollado híbridos entre moras, zarzamoras y frambuesas, dando origen a nuevos materiales de siembra mismos que son utilizados para el consumo en fresco, como para el procesamiento industrial. (Franco & Bernal, 2020)

La mora (*Rubus glaucus*) en el Ecuador es la variedad más cultivada y la que tiene mayor demanda a nivel de exportación y consumo interno a nivel nacional. La altitud donde esta planta se adapta y obtiene mejores resultados en la producción es entre los 1 800 y 2 400 m.s.n.m. a una temperatura de 12 y 18 °C. (Galvis y Herrera, 1995).

El aspecto nutricional de la mora se destaca por su contenido de minerales, sales, vitaminas, antioxidantes, carotenoides, bajo valor calórico siendo un alimento beneficioso ayudando al metabolismo.

Tabla 10 Contenido nutritivo en 100 gramos.

Componente	Contenido
Húmedas (g)	84.2
Calorías	58
Proteína (g)	1.4
Extracto etéreo (g)	0.7

Componente	Contenido
Carbohidratos totales (g)	13.2
Carbohidratos fibra (g)	5.3
Ceniza (g)	0.5
Calcio (mg)	38
Fósforo (mg)	40
Hiero (mg)	2.2
Caroteno (mg)	0.03
Tiamina (mg)	0.01
Riboflavina (mg)	0.03
Niacina (mg)	0.59
Ácido ascórbico (mg)	17
Ácido cítrico (mg)	0.68 -1.82
Vitamina A (UI)	177.00
Vitamina E (mg)	13.30

Fuente: (Córdova I. , 2010)

El fruto está formado por 70 a 100 drupas que de adhieren al receptáculo, y dentro de cada drupa hay una semilla cada fruto posee de 100 a 120 semillas. La mora posee un bajo valor calórico, lo que la convierte en un alimento beneficioso para el organismo, así mismo posee una gran actividad antioxidante, debido a la presencia de compuestos fenólicos, betacarotenos, bioflavonoides, antocianinas.

Se ha descrito que las especies de *Rubus* tienen importantes compuestos fenólicos que pueden presentar dentro de la célula actividad antioxidante. La mora (*Rubus glaucus*), comparte cualidades muy parecidas a las de la uva como ser, el color y contenido de flavonoides y antocianinas (Rodríguez et al., 2007).

III. METODOLOGÍA

3.1. ENFOQUE METODOLÓGICO

3.1.1. Enfoque

La investigación tiene un enfoque constructivista con un criterio de juicio crítico y un análisis cuantitativo-cualitativo. Datos cuantitativos que permitirá obtener datos numéricos, como resultados de análisis fisicoquímicos, enzimáticos, rendimiento alcohólico y datos cuantitativos resultantes de la aplicación de pruebas sensoriales en los tratamientos. El modelo de enfoque del proyecto es mixto.

3.1.2. Tipo de Investigación

La investigación aplicada para el desarrollo del presente trabajo fue de tipo experimental, para la elaboración de una bebida saborizada con mora (*Rubus glaucus*) de baja graduación alcohólica, con sustitución parcial de miel por un jarabe sacarificado de almidón de papa (*Solanum tuberosum L*) se manejó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial (AxB), donde el factor A son las dosificaciones de miel: mora y el factor B son las concentraciones de jarabe de almidón con el fin de determinar el efecto de la sustitución de azúcar es en las características fisicoquímicas y sensoriales de la bebida de baja graduación.

3.2. HIPÓTESIS

Hipótesis nula H_0 :

El jarabe sacarificado de almidón de papa (*Solanum tuberosum L*) no influye en las características fisicoquímicas de una bebida saborizada con mora (*Rubus ulmifolius*) de baja graduación alcohólica con sustitución parcial de miel.

Hipótesis Alternativa Ha:

El jarabe sacarificado de almidón de papa (*Solanum tuberosum L*) influye en las características fisicoquímicas de una bebida saborizada con mora (*Rubus ulmifolius*) de baja graduación alcohólica con sustitución parcial de miel.

3.3. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

3.3.1. Variable dependiente:

- Características fisicoquímicas
- Características sensoriales

El aroma y sabor son sensaciones que se encuentran interrelacionadas. En las bebidas alcohólicas estos atributos son propiedades químicas que dependen de la materia prima y de la presencia de determinadas sustancias ácidas, salinas volátiles. El sabor es una sensación básica que se encuentra matizada por el aroma. La sensación de sabor o aroma depende de varios factores entre los cuales se encuentra la concentración en la que se encuentra el agente.

3.3.2. Variable independiente:

Mosto (Miel y Mora) / L

- a1 (6,6 % miel + 20 % mora) / L
- a2 (13,3 % miel + 20 % mora) /L
- a3 (20 % miel + 20% mora) /L

Hidrólisis (almidón de papa: agua)

- b1 (5 % almidón + 0,1 enzimas) / L
- b2 (15 % almidón + 0,1 enzimas) / L
- b3 (25 % almidón + 0,1 enzimas) / L

La fermentación alcohólica es una reacción biológica que descompone el azúcar en alcohol. Es el proceso de convertir los azúcares de la biomasa en etanol, es decir, convertir el sustrato fermentable de la materia prima en una bebida alcohólica. En rigor, se trata de un proceso bioquímico bastante complejo que también produce aromas y muchos otros componentes.

Tabla 11 Operacionalización de variables

Variable	Dimensiones	Indicador	Técnica	Instrumentos
Independiente Concentraciones de mora, miel y jarabe de almidón	Dosificaciones de mora, miel	Mosto (Miel y Mora) / L a1 (6,6 % miel + 20 % mora) a2 (13,3 % miel + 20 % mora) a3 (20 % miel + 20% mora)	Gravimetría de la miel de abeja Maceración de la mora	Vicuña, (2019) Ocaña, (2012)
	Dosificación jarabe de almidón	Jarabe de almidón b1 (5 % almidón) b2 (15 % almidón) b3 (25 % almidón)	Gravimetría de jarabe de almidón	Morales et al., (2015) Registro de datos
Dependiente Parámetros Hidrolíticos	Hidrólisis Enzimática Licuefacción con α -amilasa y Sacarificación con glucoamilasa	$^{\circ}$ Brix pH	Refractometría Potenciometría	Norma, NTE 380 Norma INEN 389
	Efecto de la sustitución parcial de miel por jarabe de almidón de papa en la bebida fermentada saborizada con mora.	Características Físicoquímicas	$^{\circ}$ Brix	Refractometría
pH			Potenciometría	Norma INEN 2325
Acidez total			Norma, NTE 341	
Grado alcohólico		Alcoholímetro	Norma INEN 360	
Calidad sensorial	Metanol		Norma INEN 372	
	Aroma	Prueba de evaluación sensorial. Escala hedónica verbal	Norma INEN 350 Hojas de evaluación sensorial escala de 1 a 5	
	Olor			
Sabor				
		Apariencia		

3.4. MÉTODOS A UTILIZADOS

3.4.1. Materiales y Equipos:

3.4.1.1. Materias Primas.

- Papa de tercera
- Miel
- Mora

3.4.1.2. Equipos de Laboratorio.

- Plancha de calentamiento
- Homogeneizador
- Licuadora Industrial
- Horno de Secado
- Vasos de precipitación (100mL, 250mL, 600mL, 1000mL)
- Probeta (100mL, 500mL)
- Termómetro de alcohol
- Densímetro
- Balanza Analítica (0-500g)
- Potenciómetro
- Refractómetro digital escala (0-90° Brix)
- Pipeta de 10 ml
- Succionador
- Tubos de ensayo
- Gradilla
- Matraz (250 ml)

3.4.1.3 Instrumentos

- Colador
- Olla de acero inoxidable 5L
- Air Lock
- Botellas
- Corchos

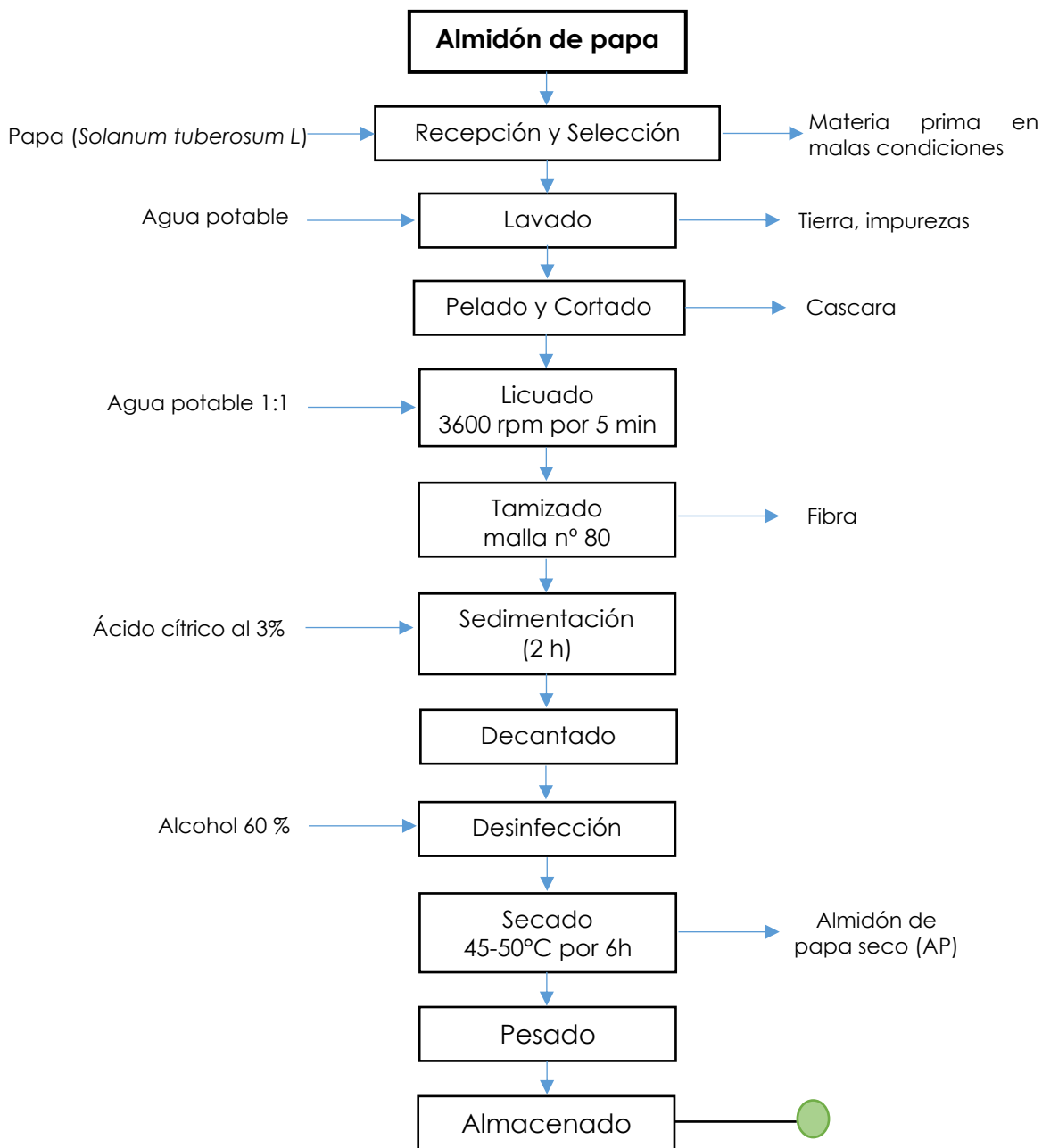
3.4.1.4. Insumos

- Enzima SPEZYME® FRED
- Enzima OPTIDEX® L-400
- Levadura
- Ácido cítrico

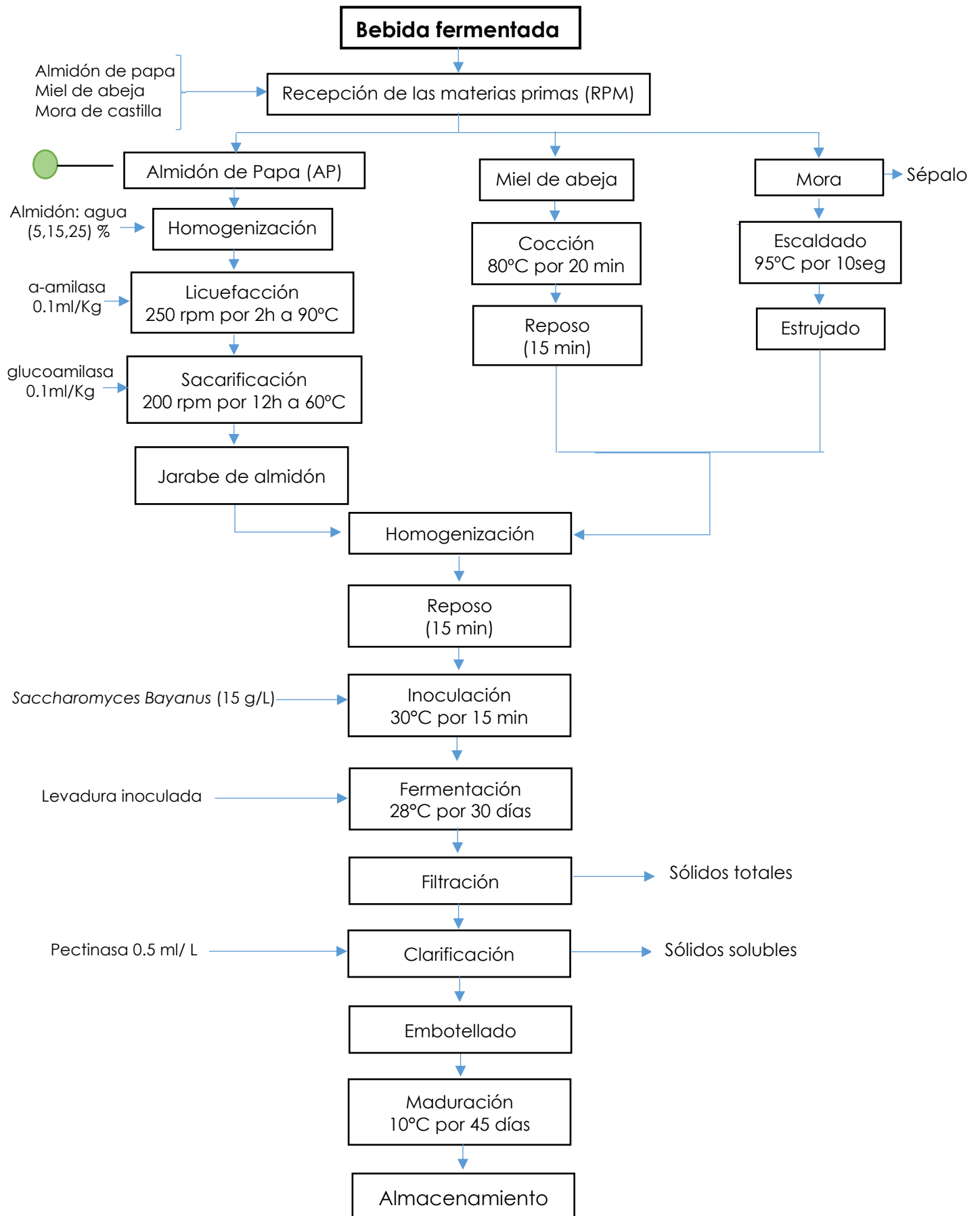
- Solución 0.1 N de hidróxido de sodio
- Solución 0.1 N de ácido clorhídrico
- Soluciones buffer de pH4 y pH7
- Yodo
- Agua destilada

3.4.2. Flujogramas de proceso

3.4.2.1. Flujograma de proceso del almidón de papa.



3.4.2.2. Flujograma de proceso elaboración de la bebida



3.4.3. Procedimiento para la elaboración de la bebida de baja graduación

3.4.3.1. Extracción de Almidón de Papa

Recepción y Selección: la papa de tercera de la variedad chola fue adquirida de la ciudad de Tulcán, en su acogida se tomó en cuenta criterios como su estado de maduración.

Lavado: las papas fueron sumergidas en abundante agua para lavar su exterior y separar del tubérculo materias extrañas como tierra, impurezas y raíces.

Pelado y cortado: con un cuchillo se retiró la cascara y posteriormente se redujo el tamaño de la papa picándolas en cuadros. Se registro el peso de la cascara y la papa.

Licuada: a la papa cortada se realizó un proceso de licuado en relación 1:1 (papa, agua), a 3600 rpm con la licuadora industrial marca, durante tres minutos para poder separar la fibra del almidón en una suspensión acuosa.

Tamizado: una vez que se obtuvo la papa en dos distintas fases, con la ayuda de un colador de malla n° 80, se separó la fibra de la papa del almidón.

Sedimentación: el almidón que se obtuvo de la etapa anterior contiene aún parte de la fibra, a esta solución se le añadió ácido cítrico 3 g/L, para evitar el pardeamiento enzimático y la presencia de olores desagradables. La solución se dejó en reposo por 2 h para posteriormente obtener una separación de fases de fibra y almidón de papa.

Decantado: mediante una separación de mezclas heterogéneas sólido - líquido, la solución fue llevadas a un proceso de decantación el cual fue separar un sólido (almidón) de un líquido (agua) y posteriormente obtener almidón.

Desinfección. Para la desinfección del almidón se empleó alcohol etílico a una concentración del 60 % mediante aspergado con un atomizador sobre la superficie de las láminas metálicas donde el almidón es distribuido homogéneamente.

Secado. El almidón fue llevado al horno de secado marca y sometido a una temperatura de 45-50°C por 6 h. Por efecto del horno de secado el almidón pierde humedad y se obtiene almidón seco.

Pesado: el almidón seco que posteriormente se pesó en una balanza gramera y se registró la materia prima obtenida.

Almacenado: se conservó el almidón seco en fundas herméticas para mantener sus propiedades, se almacenó en un lugar fresco y seguro.

3.4.3.2. Elaboración de la bebida fermentada

Hidrólisis Enzimática del almidón de papa y Fermentación

Recepción: Se seleccionaron materias primas (RMP) cumpliendo parámetros de calidad para elaborar el producto, es así como la miel de abeja fue adquirida del apiarío "El Capulí", la mora fue seleccionada de la localidad de "Maldonado" y el almidón de papa seco fue seleccionado del proceso de extracción de almidón de papa.

Homogenización Almidón de Papa (AP): El almidón, fue sumergido en un litro de agua limpia según la NTE INEN 2200 en sus distintas concentraciones de (5, 15, 25) % m/v para posteriormente llevar la solución a homogenizar.

Hidrólisis enzimática: la hidrólisis enzimática se preparó, a nivel de un vaso de precipitación de 2000 ml, una solución a concentraciones de almidón al (5, 15, 25) % m/v. Para regular el pH se empleó una solución de ácido clorhídrico a una concentración de 0.1N. El equipo empleado fue un homogeneizador de hélice marca BOECO GERMANY modelo OSD-20 S66, la homogenización consto de dos etapas:

- Licuefacción: el proceso se llevó a 250 rpm, una temperatura de 90°C y una dosificación de la enzima α -(amilasa) empleada para la licuefacción de

almidón molido en húmedo es de 0,04 a 0,08% p/p DS, las condiciones de uso se las menciona en la (Tabla 3).

- Sacarificación: el proceso se llevó a 200 rpm, la tasa de dosificación de la enzima (glucoamilasa) es de 0.1 ml/kg siendo sometida a 60°C pH 4.3 y con un tiempo de espera de 24 a 72 horas, las condiciones de uso se las menciona en la (Tabla 4).

Jarabe de almidón: Una vez que se obtuvo un sustrato rico en azúcar es a partir de almidón, se almacenó y se colocó las muestras en refrigeración para posteriormente adicionar al mosto en la etapa de homogenización.

Miel de abeja: en la (RMP) la miel fue pesada y sometida a un registro de parámetros fisicoquímicos previo a la cocción.

Cocción: se colocó en un vaso precipitado de 1000 ml de miel y agua con la finalidad de mezclar ambos ingredientes, se dejó en cocción hasta alcanzar los 80°C por 20 min, se procedió a separar la capa de burbujas generada, para posteriormente adicionar la miel al mosto en la etapa de homogenización.

Mora: posterior a la (RMP) de la mora fue separado el sépalo, fue pesada y sometida a un registro de parámetros fisicoquímicos.

Escaldado: se llevó a cabo una limpieza por inmersión de la mora en agua a una temperatura de 95°C por 10 segundos para la inactivación enzimática para eliminar el polvo y agentes patógenos no deseables.

Macerado: la mora colocada en un vaso precipitado de 2000 ml fue triturada con el objetivo de destruir parcialmente la materia prima, posteriormente se deja reposar.

Homogenización: se preparó por separado los insumos de las anteriores etapas (miel, mora y jarabe de almidón) se homogenizó todas las materias primas pesándolas según las formulaciones ya planteadas.

Inoculación: se seleccionó y se agregó 15 g/L la levadura (*Saccharomyces Bayanus*) con la cual se adiciono al mosto, misma que llevó un proceso de hidratación en 50 ml de mosto en un vaso de precipitado a 35°C. La levadura hidratada con el mosto se dejó en reposo durante cinco minutos hasta que la levadura se active y presente espuma sobre la superficie. Esto indica que la levadura esta lista para inocular el resto del mosto.

Fermentación: El proceso de fermentación se llevó a cabo en un biorreactor de plástico, los cuales contenían una válvula para permitir la salida de CO₂ que se produce durante la fermentación y a la vez evita que ingrese el oxígeno del exterior, las levaduras se alimentan del mosto rico en azúcar es que presentan la miel, el almidón hidrolizado y la mora transformándolos en alcohol etílico y gas carbónico, el tiempo de fermentación fue de 30 días a una temperatura de 28°C, en un lugar oscuro evitando la luz solar. En este proceso se controlará los parámetros de fermentación (°Brix, pH y la T°).

Filtración: Culminada la etapa de fermentación se filtró el mosto con ayuda de un una tela lienzo eliminando la mayoría de sólidos posibles y de este modo evitar la presencia de turbidez, los sólidos que se observa en la base del fermentador contienen levaduras muertas y materia orgánica que al no ser filtrada adecuadamente aportaría aromas desapropiados a la bebida alterando sus características finales, posteriormente se trasvasó a otro fermentador utilizando una manguera para terminar el proceso.

Clarificación: en este paso se utilizó pectinasa 0,5 ml/L directamente en el sustrato previamente filtrado, una vez disuelta se mezcla con el producto y se espera 7 días hasta que los sólidos solubles se acumulen en el fondo.

Embotellado: Luego de haber filtrado la bebida alcohólica se envasó en botellas de vidrio de 750 ml.

Maduración. Proceso permite mejorar los aromas y las características organolépticas, además produce una gasificación natural a la bebida, transcurrido un tiempo mínimo de 3 días ya puede ser consumida.

3.4.4. Métodos utilizados para la hidrólisis enzimática.

3.4.4.1. Hidrólisis enzimática

Es un proceso que consta de tres etapas: gelatinización, licuefacción y sacarificación, donde el objetivo es romper las moléculas de almidón hasta obtener glucosa utilizando dos tipos de enzimas, la α -amilasa glucoamilasas. La glucosa obtenida es el sustrato en la etapa anterior de fermentación (Morales & Molina, 2015).

3.4.4.1.1. Determinación de sólidos solubles

Se utilizó la metodología establecida según la NTE INEN 380. El proceso para determinar el contenido de sólidos solubles, mediante refractometría a 20°C.

Fundamento: Método aplicable a productos espesos, ricos en azúcar es o que contengan material suspendido. Si el producto a analizar contiene otras sustancias disueltas, los resultados serán aproximados; se puede considerar el resultado obtenido por este método como el contenido de sólidos solubles.

Procedimiento:

1. Comprobar que el refractómetro este en un correcto funcionamiento.
2. Para los productos líquidos claros; mezclar bien la muestra y usarla directamente para la determinación. Si el producto es semiespeso; mezclar bien la muestra y prensarla a través de una gaza doblada en cuatro partes, rechazando las primeras gotas de líquido y reservando el resto.
3. Colocar la muestra en el prisma del refractómetro, misma que debe estar a una temperatura de 20°C y posteriormente realizar la lectura.

3.4.4.1.2. Determinación de pH.

Se utilizó la metodología establecida por la NTE INEN 389 que establece el método potenciométrico para determinar la concentración de ion hidrogeno (pH). Para medir el pH en los dos procesos de licuefacción y sacarificación se utilizó un potenciómetro digital con una escala de: 0 a 100.

Fundamento: La medida electrométrica se fundamenta en el registro potenciométrico de la actividad de los iones hidrógeno por el uso de un electrodo de vidrio y un electrodo de referencia. El pH de la muestra se determina por interpolación.

Procedimiento:

1. Comprobar que el potenciómetro este en un correcto funcionamiento.
2. Calibrar el potenciómetro utilizando soluciones buffer pH 4, y pH7.
3. Colocar en un vaso de precipitación de 200 ml aproximadamente 10 g de la muestra del proceso de licuefacción añadir 100 ml de agua destilada, realizar mediciones cada 30 minutos por 2 horas. Repetir el proceso para el proceso de sacarificación donde se realizó las mediciones cada 3 horas por 12 horas.
4. Determinar el pH introduciendo los electrodos en el vaso de precipitación de 200 ml con la muestra.

3.4.4.2. Métodos utilizados para los análisis fisicoquímicas de la bebida.

3.4.4.2.1. Determinación de sólidos solubles.

Se utilizó el reglamento (CEE) No 2676/90. Para la evaluación mediante Refractometría del contenido en azúcar es de mostos, mostos concentrados y mostos concentrados ratificados. La medición de este parámetro se realizó al inicio, 30 días después de haber envasado el producto.

Fundamento: El índice de refracción a 20°C expresando como porcentaje en masa de sacarosa o de modo absoluto, se lleva a la tabla correspondiente para obtener el contenido en azúcar es en gramos por litro y en gramos por kilogramo de mosto, mosto concentrado y mosto concentrado rectificado.

Procedimiento

1. Comprobar que el refractómetro este en un correcto funcionamiento.

2. Para el mosto y mostos concentrados líquidos; puede pasarse a través de una gasa y eliminar las primeras gotas del filtrado posteriormente reservar la muestra para la determinación.
3. Llevar la muestra a una temperatura de 20°C. Colocar unas gotas de la muestra en el prisma del refractómetro y realizar la lectura.

1.4.4.2.2. Determinación de pH.

Se utilizó la metodología establecida por la NTE INEN 2325 que establece el método potenciométrico para determinar la concentración de pH (ion hidrogeno). Para la medición se utilizó un potenciómetro digital con una escala de: 0 a 100.

Fundamento: El logaritmo negativo de la concentración de iones hidrógeno en moles por litro. El valor de pH es de 1 a 14, que indica la concentración de iones hidrógeno presentes en una solución acuosa.

Procedimiento:

1. Comprobar que el potenciómetro este en un correcto funcionamiento.
2. Calibrar el equipo utilizando soluciones buffer pH 4, y pH7.
3. Colocar en un vaso precipitado de 250 ml aproximadamente 100 g de la muestra de vino desgasificado y a una temperatura de 20°C.
4. Medir el pH del vino introduciendo los electrodos en el vaso precipitado con la muestra, cuidando que no se toquen las paredes del recipiente.

1.4.4.2.3. Determinación de acidez volátil

La NTE INEN 341 tiene por objetivo establecer el método para determinar la acidez total, acidez fija y acidez volátil en bebidas alcohólicas destiladas.

Fundamento: La acidez fija y la acidez total deben determinarse por titulación con hidróxido de sodio, y la acidez volátil se determina por diferencia. La acidez volátil es la suma de los ácidos volátiles que se pueden valorar neutralizando una bebida alcohólica con una solución alcalina.

Procedimiento:

Acidez total

1. Añadir 250 ml de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 500 ml, añadir 25 ml de muestra y 5 gotas de la solución de fenolftaleína
2. Titular, utilizando la bureta, con la solución 0.1 N de hidróxido de sodio.
3. Realizar los cálculos con la siguiente formula.

$$AT = 2.4 \frac{V_1}{G}$$

Donde:

AT = acidez total, expresada como ácido acético, en gramos por 100 ml de alcohol anhidrido

V₁ = volumen de la solución de 0.1 de hidróxido de sodio consumido en la titulación

G = grado alcohólico

Acidez fija

1. Evaporar a sequedad 25ml de muestra en un crisol de porcelana, sobre un baño de vapor.
2. Colocar el crisol en la estufa, a 100°C, durante 30 minutos
3. El residuo seco disolver y transferir utilizando porciones de alcohol neutro 25 ml a un matraz Erlenmeyer de 500 ml, que debe contener 250 ml de agua destilada.
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.
5. Realizar los cálculos con la siguiente ecuación.

$$AF = 2.4 \frac{V_2}{G}$$

Donde:

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

V₁ = volumen de la solución de 0.1 de hidróxido de sodio consumido en la titulación

G = grado alcohólico

Acidez volátil

1. Se determina utilizando la siguiente ecuación

$$AV = AT - AF$$

Donde:

AV = acidez volátil.

AT = acidez total.

AF = acidez fija.

3.4.4.2.4. Determinación de grado alcohólico

El método según la norma NTE INEN 340 para determinar el contenido de alcohol etílico mediante el método del alcoholímetro de vidrio, se realizó 30 días después de ser envasado las muestras de vino.

Fundamento: La relación, expresada en fracción de volumen (%), entre el volumen de etanol (etanol) en una mezcla de agua y alcohol medido a 20 °C y el volumen total de la mezcla medido a la misma temperatura.

Procedimiento:

1. Llenar la probeta con la muestra destilada hasta unos 5 cm por debajo de su borde
2. Leer la temperatura de la muestra destilada, con el termómetro calibrado. Lavar y secar bien el alcoholímetro de vidrio volumétrico y colocar en la probeta.
3. Dejar que el alcoholímetro de vidrio volumétrico se estabilice y flote libremente sin presentar adherencia con las paredes y leer el valor indicado en el vástago que coincida con la línea de flotación. Para la lectura debe considerarse la base del menisco.

3.4.4.2.5. Determinación de metanol

Se utilizó la metodología establecida por la Norma OIV-MA-AS312-03A. Para determinar el contenido de metanol en bebidas alcohólicas, se realizó 30 días después de ser envasado las muestras de vino. Los tres mejores tratamientos obtenidos fueron analizados por la empresa LABOLAB y posteriormente generaron los resultados del análisis de metanol.

3.4.4.2.6. Análisis sensorial de la bebida

Para el análisis sensorial, se evaluaron los siguientes parámetros sensoriales básicos: olor, color, sabor, astringencia. Con un panel de 70 jueces no entrenados al azar se prepararon muestras de 20 ml. En esta evaluación, los panelistas seleccionaron las muestras que indican niveles de aceptabilidad. Cada miembro del panel fue evaluado con nueve muestras de vino según un sistema de puntuación en una escala hedónica de 5 puntos.

1.4.5. Análisis Estadístico

3.4.5.1. Diseño experimental

En la presente investigación se utilizó un diseño experimental completamente al azar con arreglo factorial (A x B), en donde el factor A son las concentraciones de miel: mora y el factor B son las concentraciones de jarabe de almidón. Los resultados obtenidos en el efecto hidrolítico, análisis fisicoquímico y sensorial se evaluaron con una prueba de diferencias entre medias, prueba Tukey con un nivel de confianza del 95 % en el software Infostat. Se midió la desviación estándar estadística referente a los parámetros hidrolíticos, fisicoquímicos y sensoriales. Para la evaluación sensorial se utilizó una escala hedónica verbal de 5 puntos para la bebida, mediante jueces no entrenados de 70 personas para determinar los tratamientos con mayor aceptación.

3.4.5.2. Tratamientos

En la Tabla 12 y 13 se muestran los factores de estudio en la elaboración de la bebida, el número total de tratamientos se obtuvieron al combinar los factores A y B donde constan de 3 factores con 3 niveles por triplicado así obteniendo 9 tratamientos y 27 unidades experimentales. Es importante definir los tratamientos a realizarse en la investigación en función de las variables, a continuación, se las detalla.

Tabla 12: Factor A (miel: mora)

Nº	Concentración (g/L)
A 1	(6,6 % miel + 20 % mora)
A 2	(13,3% miel + 20 % mora)
A 3	(20 % miel + 20% mora)

Tabla 13 Factor B (jarabe sacarificado)

N°	Concentración (g/L)
B 1	(5 % jarabe de almidón)
B 2	(15 % jarabe de almidón)
B 3	(25 % jarabe de almidón)

3.4.5.4. Formulaciones

Para la elaboración de la bebida de baja graduación alcohólica se formulan diferentes tratamientos como se observa en la Tabla 14.

Tabla 14. Esquema del experimento para la elaboración de la bebida de baja graduación alcohólica

Tratamientos	Combinaciones	Esquema del experimento
T1	A1 B1	(6,6 % miel + 20 % mora) + (5 % jarabe de almidón)
T2	A1 B2	(6,6 % miel + 20 % mora) + (15 % jarabe de almidón)
T3	A1 B3	(6,6 % miel + 20 % mora) + (25 % jarabe de almidón)
T4	A2 B1	(13,3 % miel + 20 % mora) + (5 % jarabe de almidón)
T5	A2 B2	(13,3 % miel + 20 % mora) + (15 % jarabe de almidón)
T6	A2 B3	(13,3 % miel + 20 % mora) + (25 % jarabe de almidón)
T7	A3 B1	(20 % miel + 20 % mora) + (5 % jarabe de almidón)
T8	A3 B2	(20 % miel + 20 % mora) + (15 % jarabe de almidón)
T9	A3 B3	(20 % miel + 20 % mora) + (25 % jarabe de almidón)

En la Tabla 15 se presentan las características del experimento de la bebida saborizada con mora con sustitución parcial de miel por jarabe de almidón de papa.

Tabla 15. Características del experimento.

Experimento de una bebida fermentada	
Número de tratamientos	27
Número de repeticiones	3
Número de unidades experimentales	9

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

Los resultados obtenidos al establecer los parámetros hidrolíticos, análisis fisicoquímicos y sensoriales se presentan a continuación.

4.1.1. Hidrólisis enzimática

4.1.1.1. Parámetros de la hidrólisis enzimática

En el proceso hidrolítico de acuerdo con los antecedentes investigativos de (Ruiz et al., 2009) establecen los parámetros y equipos para proceso de gelificación, licuefacción y sacarificación del almidón.

A continuación, se presentan los parámetros hidrolíticos establecidos en este estudio mediante la hidrólisis del almidón extraído de la papa.

Tabla 16 Parámetros (g/ml) del proceso de Licuefacción del almidón de papa.

Tratamientos	Temperatura °C	Factores		Tiempo de Licuefacción (horas)	Cantidad de α -amilasa (ml)
		A Almidón	B Agua		
B1	90	50	950	2	0.1
B2	90	150	850	2	0.1
B3	90	250	750	2	0.1

Se utilizó la enzima α -amilasa la cual hidrolizó enlaces α -(1-4) para obtener dextrinas, maltosas y maltopentosas. La Tabla 16 muestra las variables establecidas (temperatura, tiempo y cantidad de α -amilasa) determinando los mejores factores para el estudio.

Tabla 17 *Parámetros (g/ml) de Sacarificación para obtener jarabe de almidón*

Tratamientos	Temperatura °C	Factor	Tiempo de Sacarificación (horas)	Cantidad de glucoamilasa (ml)
		C		
		Almidón gelificado		
B1'	60	1000		0.1
B2'	60	1000		0.1
B3'	60	1000		0.1

Para establecer la cantidad adecuada para obtener jarabe de almidón, se realizaron tratamientos preliminares hidrolizado los enlaces α -(1-4) y α -(1-6) de los fragmentos de almidón obteniéndose como producto jarabe de maltosa.

En la tabla 17 se presenta los parámetros de (temperatura, tiempo y cantidad de glucoamilasa) que se emplearon en la presente investigación.

4.1.1.2. Sólidos solubles en la hidrólisis

El proceso de licuefacción se llevó a cabo a diferentes concentraciones de almidón de papa, la Tabla 18 presenta los sólidos solubles de las concentraciones de (5%, 15%, 25%) a lo largo de dos horas a una temperatura constante de 90°C y 250 rpm.

Tabla 18. *Sólidos solubles del proceso de licuefacción del almidón*

Tratamientos	Temperatura °C	Factores		°Brix (min)				
		A	B	0	30	60	90	120
		Almidón	+ Agua					
B1	90	50	950	0.0	0.1	0.3	0.4	0.7
B2	90	150	850	0.0	0.2	0.5	0.8	1.1
B3	90	250	750	0.0	0.4	0.7	0.12	1.8

En la Tabla 19 se presenta el proceso de sacarificación del almidón y agua homogenizados en sus distintas concentraciones, el proceso se llevó a cabo bajo un monitoreo total de 720 minutos tomando datos de los sólidos solubles cada 180 minutos a una agitación constante de 200 rpm.

Tabla 19. Sólidos solubles del proceso de sacarificación del almidón

Tratamientos	Temperatura °C	Factores		°Brix (min)				
		C		0	180	360	540	720
		Almidón gelificado (g)						
B1'	60	1000		0.7	1.1	4.6	5.7	6.4
B2'	60	1000		1.1	3.8	8.5	15.2	17.1
B3'	60	1000		1.8	5.6	15.4	19.4	26.4

Nota: los tratamientos B1', B2', B3' son las soluciones al 5%, 15%, 25% respectivamente del proceso anterior de licuefacción

4.1.1.3. Determinación de pH.

El pH en el proceso de licuefacción en las concentraciones de (5%, 15%, 25%) marco en el potenciómetro diferentes lecturas a lo largo de dos horas del proceso una temperatura constante de 90°C y una agitación de 200 rpm.

La Tabla 20 indica el promedio de tres lecturas del potencial de hidrogeno a lo largo del proceso de licuefacción.

Tabla 20. pH del proceso de licuefacción del almidón

Tratamientos	Temperatura °C	Factores		pH				
		A	B	0	30	60	90	120
		Almidón + Agua						
B1	90	50	50	6.75	5.63	4.98	4.42	4.33
B2	90	150	150	6.52	5.57	5.01	4.58	4.29
B3	90	250	250	6.13	5.54	5.08	4.38	4.31

En la Tabla 21 presenta el proceso de sacarificación del almidón y agua en sus distintas concentraciones, se llevó a cabo bajo un monitoreo total de 720 minutos tomando datos de los sólidos solubles cada 180 minutos a una agitación constante de 200 rpm.

Tabla 21. pH del proceso de sacarificación del almidón

Tratamientos	Temperatura °C	Factor		pH				
		C		0	180	360	540	720
		Almidón gelificado (ml)						
B1'	60	1000		4.33	4.32	4.30	4.29	4.27
B2'	60	1000		4.29	4.29	4.27	4.26	4.24
B3'	60	1000		4.31	4.29	4.28	4.25	4.24

4.1.2. Métodos utilizados para los análisis fisicoquímicas de la bebida.

4.1.2.1. Sólidos solubles.

Los resultados del análisis fisicoquímico de sólidos solubles iniciales y finales a lo largo de 30 días fermentación para todos los tratamientos que se llevó a cabo se presentan en la Tabla 22

Tabla 22. Comportamiento de los °Brix en la fermentación

Tratamientos	°Brix Iniciales	°Brix Finales
T9	20.5 ± 0.37 ^a	7.3 ± 0.14 ^a
T8	19.8 ± 0.37 ^{ab}	6.9 ± 0.14 ^{ab}
T7	18.3 ± 0.37 ^b	6.5 ± 0.14 ^b
T6	14.8 ± 0.37 ^c	6.2 ± 0.14 ^b
T5	14.9 ± 0.37 ^c	5.1 ± 0.14 ^c
T4	13.5 ± 0.37 ^{cd}	4.3 ± 0.14 ^{de}
T3	12.8 ± 0.37 ^{de}	4.9 ± 0.14 ^{cd}
T2	11.1 ± 0.37 ^e	3.9 ± 0.14 ^e
T1	8.2 ± 0.37 ^f	3.1 ± 0.14 ^f

Nota: el valor de los °Brix iniciales y finales de cada tratamiento corresponde al promedio de tres determinaciones ± desviación estándar. Columnas con letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas con un 95% de confianza

En la Tabla 22 se presenta los valores obtenidos con los que inicio la fermentación a partir de diferentes concentraciones y a una temperatura controlada de 28 °C. El contenido de sólidos solubles en los diferentes tratamientos tiene un valor máximo de 20.5 °Brix en el tratamiento T9 y un valor mínimo de 8.2 °Brix en el tratamiento T1. Se obtuvo un valor-P que es igual a 0.0001 es menor a 0.05 por lo que existe una diferencia significativa estadísticamente entre tratamientos.

Los valores de los sólidos solubles obtenidos después de 30 días de fermentación se presentan en la Tabla 22. El contenido de sólidos solubles en los tratamientos alcanza un valor máximo de 7.3 °Brix en el tratamiento T9 (y un valor mínimo de 3.1 °Brix en el tratamiento T1. El valor de *p* es menor a 0.05 lo que indica una diferencia significativa estadísticamente entre tratamientos. Sin embargo, muestras como T8, T7, T6 presentan el mismo rango así también las muestras T5, T3 de igual manera las muestras T4, T2 son diferentes por no tener el mismo rango y no compartir la misma letra.

4.1.2.2. pH.

Los resultados del análisis fisicoquímico del pH inicial y final de todos los tratamientos se presentan en la Tabla 23.

Los valores del rango de pH al inicio de la fermentación de cada tratamiento muestran que se encuentran dentro de lo establecido para la bebida; el rango máximo lo tiene el tratamiento T6 con un pH de 3.42; mientras que con un pH de 3.29 el tratamiento T4 es el valor más bajo. Se presenta un valor p de 0.0435, lo cual nos indica que existen diferencias en sus medias ya que este valor es menor a 0.05.

Tabla 23. pH al inicio y final de la fermentación

Tratamientos	pH Inicial	pH Final
T6	3.42 ± 0.03 ^a	3.45 ± 0.03 ^a
T9	3.40 ± 0.03 ^a	3.39 ± 0.03 ^{ab}
T8	3.39 ± 0.03 ^a	3.38 ± 0.03 ^{ab}
T3	3.39 ± 0.03 ^a	3.37 ± 0.03 ^{ab}
T7	3.38 ± 0.03 ^a	3.36 ± 0.03 ^{ab}
T5	3.34 ± 0.03 ^a	3.35 ± 0.03 ^{ab}
T2	3.34 ± 0.03 ^a	3.30 ± 0.03 ^{bc}
T1	3.29 ± 0.03 ^a	3.30 ± 0.03 ^{bc}
T4	3.29 ± 0.03 ^a	3.22 ± 0.03 ^c

Nota: los valores del pH inicial y final de cada tratamiento corresponde al promedio de tres determinaciones ± desviación estándar.

Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas con un 95% de confianza

La Tabla 23 refleja los valores de pH final de cada tratamiento; el rango máximo lo tiene el tratamiento T6 con un pH de 3.45 por otro lado con un pH de 3.22 el tratamiento T4 es el valor más bajo. El valor que presentan p es de 0.003, lo cual nos indica que existen diferencias en sus medias ya que este valor es menor a 0.05

4.1.2.3. Acidez volátil

Tabla 24. Acidez volátil al final de la maduración

Tratamientos	Acidez total
T9	0.65 ± 0.13 ^a
T8	0.63 ± 0.13 ^a
T6	0.58 ± 0.13 ^b

Nota: los valores de la acidez volátil corresponden al promedio de tres determinaciones de cada tratamiento ± desviación estándar. Valores correspondientes al mismo grupo (a) son estadísticamente iguales con un valor de $p < 0.05$.

La acidez volátil según la Tabla 24 nos muestra datos de los tratamientos T9, T8 y T6 que después de utilizar un método volumétrico los valores presentados por el producto son de 0,65; 0,63 y 0,58. Se obtuvo el valor-p que es igual a 0.0001 por lo que existe una diferencia significativa estadísticamente entre tratamientos.

4.1.2.4. Determinación de grado alcohólico

En la Tabla 25 se observa los valores obtenidos de porcentaje de alcohol a los 30 días después de ser envasado la bebida.

Tabla 25. Grado alcohólico

Tratamientos	Grado oh
T9	7.18 ± 0.13 ^a
T8	6.90 ± 0.13 ^{ab}
T7	6.50 ± 0.13 ^{bc}
T6	6.22 ± 0.13 ^c
T5	5.18 ± 0.13 ^d
T3	4.95 ± 0.13 ^{de}
T4	4.35 ± 0.13 ^{ef}
T2	3.90 ± 0.13 ^f
T1	3.15 ± 0.13 ^g

Nota: los valores del grado alcohólico corresponden al promedio de tres determinaciones de cada tratamiento ± desviación estándar.

Valores correspondientes al mismo grupo (a, b, c, d, e, f, g) son estadísticamente iguales con un valor de $p < 0.05$.

Se obtuvo un valor p que es igual a 0.001 que es menor a 0.05, por lo que existe una diferencia estadísticamente significativa entre tratamientos. La Tabla 24 presenta cinco agrupaciones donde el tratamiento 9 y 8 siendo 7.18 y 6.90 respectivamente son los valores más altos corresponden a la agrupación "a", los tratamientos

4.1.2.5. Determinación de metanol

Se utilizó la metodología establecida por la Norma INEN 347. Para determinar el contenido de metanol en bebidas alcohólicas, se realizó 30 días después de ser envasado las muestras de vino. El Anexo 2 indica los resultados del contenido de metanol en (mg/100 ml).

4.1.2.6. Análisis sensorial de la bebida

Para el análisis sensorial, se evaluaron los siguientes parámetros sensoriales básicos: olor, color, sabor, astringencia. Con un panel de 70 jueces no entrenados al azar se prepararon muestras de 20 ml. En la evaluación sensorial los panelistas seleccionaron las muestras que indican niveles de aceptabilidad. Cada miembro del panel fue evaluado con nueve muestras de vino según un sistema de puntuación en una escala hedónica de 5 puntos como muestra la Tabla 28.

4.1.2.6.1. Escala hedónica verbal

Tabla 26. Escala hedónica verbal

Valor	Aceptabilidad
1	Me disgusta mucho
2	Me disgusta
3	No me gusta ni me disgusta
4	Me gusta
5	Me gusta mucho

4.1.2.6.2. Resultado evaluación Sensorial

Los datos previos a realizar el análisis de varianza se verifican los supuestos paramétricos de normalidad, homogeneidad y homocedasticidad así seleccionar la prueba estadística para el estudio.

En la Tabla 27 se presenta nueve tratamientos, cuatro parámetros sensoriales y tres grupos diferentes: "a" calificación de cinco (me gusta mucho), "b" puntuación de cuatro (me gusta) y "c" con un valor de tres (no me gusta ni me disgusta). Los datos se obtuvieron por medio de una evaluación sensorial de la bebida de baja graduación alcohólica.

Tabla 27. Resultados evaluación sensorial

Tratamientos	Color	Aroma	Sabor	Astringencia
T1	3.99 ^a	3.70 ^a	3.00 ^{bc}	3.19 ^{bc}
T2	4.14 ^a	3.70 ^a	2.89 ^c	3.01 ^c
T3	4.19 ^a	3.86 ^a	3.33 ^{abc}	3.26 ^{bc}
T4	4.14 ^a	3.80 ^a	3.31 ^{abc}	3.30 ^{abc}
T5	4.03 ^a	3.80 ^a	3.06 ^{bc}	3.40 ^{abc}
T6	4.10 ^a	3.74 ^a	3.51 ^{ab}	3.53 ^{abc}
T7	4.20 ^a	3.80 ^a	3.24 ^{abc}	3.40 ^{abc}
T8	4.10 ^a	3.76 ^a	3.41 ^{abc}	3.67 ^{ab}
T9	4.27 ^a	3.80 ^a	3.70 ^a	3.87 ^a

Nota: valores correspondientes al mismo grupo (a, b, c) son estadísticamente iguales con un valor de $p < 0.05$

4.1.2.6.3. Resultados color

Tabla 28. Resultados obtenidos de la evaluación sensorial para el parámetro del color

Tratamientos	Media	Criterio	Valor-p
T9	4.27 ± 0.10 ^a	Me gusta	< 0.6572
T7	4.20 ± 0.10 ^a	Me gusta	
T3	4.19 ± 0.10 ^a	Me gusta	
T4	4.14 ± 0.10 ^a	Me gusta	
T2	4.14 ± 0.10 ^a	Me gusta	
T6	4.10 ± 0.10 ^a	Me gusta	
T8	4.10 ± 0.10 ^a	Me gusta	
T5	4.03 ± 0.10 ^a	Me gusta	
T1	3.99 ± 0.10 ^a	Me gusta	

Nota: Los valores del color de cada tratamiento corresponden al promedio ± desviación estándar.

Las medias que comparten una letra son estadísticamente iguales con un valor de $p < 0.05$.

La Tabla 28 indican los resultados obtenidos en cuanto al parámetro del color, el análisis estadístico presenta un valor de p de 0.6572 el cual indica que no existe diferencias estadísticamente significativas en sus medias donde las muestras comparten la misma letra "a". Esto ocurre porque con la vista percibimos el color, limpidez, transparencia, ausencia de turbidez y efervescencia del producto final el cual cumplió con los correctos procesos de maduración y clarificación.

4.1.2.6.4. Resultados aroma

Tabla 29. Resultados obtenidos de la evaluación sensorial para el parámetro del aroma

Tratamientos	Media	Criterio	Valor-p
T3	3.86 ± 0.12 ^a	Me gusta	0.9916
T9	3.80 ± 0.12 ^a	Me gusta	
T4	3.80 ± 0.12 ^a	Me gusta	
T5	3.80 ± 0.12 ^a	Me gusta	
T7	3.80 ± 0.12 ^a	Me gusta	
T8	3.76 ± 0.12 ^a	Me gusta	
T6	3.74 ± 0.12 ^a	Me gusta	
T2	3.70 ± 0.12 ^a	Me gusta	
T1	3.70 ± 0.12 ^a	Me gusta	

Nota: los valores del aroma corresponden al promedio de tres determinaciones de cada tratamiento ± desviación estándar. Valores correspondientes al mismo grupo (a) son estadísticamente iguales con un valor de $p < 0.05$.

Para el atributo del aroma la Tabla 29 presenta la estadística no presenta diferencias significativas en sus medias ya que el valor p es mayor a 0.05, teniendo en cuenta que todas las muestras comparten la misma letra perteneciendo al grupo “a”.

4.1.2.6.5. Resultados sabor

Tabla 30. Resultados obtenidos de la evaluación sensorial para el parámetro del sabor

Tratamientos	Media	Criterio	Valor-p
T9	3.70 ± 0.14 ^a	Me gusta	0.0006
T6	3.51 ± 0.14 ^{ab}	Me gusta	
T8	3.41 ± 0.14 ^{abc}	No me gusta ni me disgusta	
T3	3.33 ± 0.14 ^{abc}	No me gusta ni me disgusta	
T4	3.31 ± 0.14 ^{abc}	No me gusta ni me disgusta	
T7	3.24 ± 0.14 ^{abc}	No me gusta ni me disgusta	
T5	3.06 ± 0.14 ^{bc}	No me gusta ni me disgusta	
T1	3.00 ± 0.14 ^{bc}	No me gusta ni me disgusta	
T2	2.89 ± 0.14 ^c	No me gusta ni me disgusta	

Nota: los valores de la acidez volátil corresponden al promedio de tres determinaciones de cada tratamiento ± desviación estándar. Valores correspondientes al mismo grupo (a) son estadísticamente iguales con un valor de $p < 0.05$.

En los tratamientos existe una diferencia estadísticamente significativa ya que el valor p es menor a 0.05. Con respecto al sabor la tabla 30 muestra los tres mejores

tratamientos (T9, T6 y T8) los cuales se encuentran en el mismo grupo "a"; mientras tanto el tratamiento T1 fue el tratamiento con menos aceptación.

4.1.2.6.6. Resultados astringencia

Tabla 31. Resultados obtenidos de la evaluación sensorial para el parámetro de astringencia

Tratamientos	Media	Criterio	Valor-p
T9	3.87 ± 0.14 ^a	Me gusta	0.0006
T8	3.67 ± 0.14 ^{ab}	Me gusta	
T6	3.53 ± 0.14 ^{abc}	Me gusta	
T7	3.40 ± 0.14 ^{abc}	No me gusta ni me disgusta	
T5	3.40 ± 0.14 ^{abc}	No me gusta ni me disgusta	
T4	3.30 ± 0.14 ^{abc}	No me gusta ni me disgusta	
T3	3.26 ± 0.14 ^{bc}	No me gusta ni me disgusta	
T1	3.19 ± 0.14 ^{bc}	No me gusta ni me disgusta	
T2	3.01 ± 0.14 ^c	No me gusta ni me disgusta	

Nota: Valores correspondientes al mismo grupo (a o b) son estadísticamente iguales con un valor de $p < 0.05$

Para conocer las diferencias significativas entre los tratamientos se aplicó la prueba de Tukey. La tabla 31 presenta los tres mejores tratamientos con medias de 3.87, 3.67 y 3.53 siendo los tratamientos T9, T8 y T6 los más aceptados por los catadores.

4.2. Discusión

4.2.1. Hidrólisis Enzimática

Los parámetros establecidos mediante análisis de sólidos solubles y pH en la hidrólisis se llevaron a cabo en dos distintos procesos: licuefacción y sacarificación a concentraciones de (5%, 15% y 25%).

En el proceso de sacarificación las diluciones de almidón de papa y agua como lo expresa la Tabla 19 y Tabla 20 fueron llevadas a una temperatura de 90°C, una agitación de 200 rpm y se aplicó 0.1 ml de la enzima SPEZYME® FRED para cada concentración, los sólidos solubles iniciales de todas las diluciones inicio en cero, después de dos horas de homogenización las muestras presentaron valores de 0.7, 1.1, y 1.8 °Brix respectivamente. El valor de pH inició en 6.75, 6.52 y 6.13 para cada combinación, según menciona Cueva & Pazos, (2015) las mejores condiciones para

el proceso de hidrólisis enzimática se dio a un pH de 6, temperatura de 100°C, en comparación a Morales & Molina (2015) en su estudio recomienda un pH de 6.0 a 6.5 y temperatura de 93°C a 107 °C. En base al Anexo 4 donde menciona que la enzima trabaja en un medio con un pH 5.5 a 5.8 para lo cual se regulo adicionando HCl (0.1N) hasta alcanzar los rangos de 5.63, 5.57 y 5.54.

El proceso de sacarificación tuvo inicio con los valores de sólidos solubles y pH antes mencionados para cada una de las concentraciones, valores de 6.4, 17.1 y 26.4 °Brix respectivamente siendo valor más alto la concentración del 25% de almidón de papa, estos valores son superiores a los obtenidos por Guerrero & Yépez, (2018) quienes registraron una hidrólisis de la yuca obteniendo un valor de 24°Brix para la combinación 1:1 de yuca, zanahoria blanca y agua empleado las enzimas catalizadoras para obtener mayor cantidad de azúcar es fermentables, así también en comparación de Cueva & Pazos, (2015) donde menciona que la dilucion de 1:05 de pulpa de camote y agua con la que se obtuvo un mosto que inicio su fermentación con 13° Brix siendo un valor menor al obtenido en el presente estudio esto debido al tipo de almidón empleado en la hidrólisis. El almidón de papa según Alvis, Vélez, Villada, & Rada, (2008) presenta una cantidad superior al almidón yuca y al de camote ya que haciendo una valoración del (%) de amilosa presentan valores de 24 %, 14 % y 19% respectivamente.

4.2.2. Sólidos Solubles

La Tabla 22 indica los resultados del contenido de carbohidratos solubles iniciales antes de la fermentación, donde los tratamientos T9, T8 y T7 con (20 % miel, 20 % mora, 25 % jarabe de almidón; 20 % miel, 20 % mora, 15 % jarabe de almidón y 20 % miel, 20 % mora, 5 % jarabe de almidón) presentaron mayor contenido de azúcar es fermentables expresados en °Brix: 20.5;19.8 y 18.3 mientras que los tratamientos T5, T6, T4 Y T3 presentaron valores de: 14.9; 14.8; 13.5 y 12.8 los valores de los tratamientos con menos cantidad de azúcar es son el T2 y T1 con 11.1 y 8.2 valores los cuales según Strong & England (2015) certifican en su Guia de Estilos de Hidromiel donde las características de la OG (densidad inicial) de un agua miel donde previa a la fermentación el mosto debe permanecer en un rango de una densidad de 1.035 – 1.080 que expresados en °Brix: 8.7 – 19.3.

En la tabla 23 se indican los resultados de los sólidos solubles al a ver transcurrido 30 días de fermentación y 45 días de maduración en frío (10°C), donde los tratamientos T9, T8, T7 y T6 presentaron un alto contenido de azúcar es finales expresados en °Brix: 7.38; 6.90; 6.50 y 6.22 mientras que los tratamientos T5, T3, T4, T2 y T1 presentaron valores en °Brix de: 5.1; 4.9; 4.3; 3.9 y 3.1 respectivamente. De acuerdo con la norma INEN 372, el contenido de azúcar es para el vino seco tiene un máximo de 12 g/L. Por lo tanto, los resultados están dentro de los límites que exige la norma para una bebida fermentada, así mismos autores como Montoya, Londoño, & Márquez (2005) presentaron valores de 5.49 % de grado alcoholico para un vino de mora a una del 25% de pulpa en un vino de mora.

Strong & England (2015) presentan las características y descripciones para todo tipo de hidromiel donde la FG (densidad final) en un rango donde presente valores de 1.010 – 1.025 que expresados en °Brix: 2.5 – 6.32 se denomina hidromiel semi-dulce, los autores Basilio, Prieto, López, Mellado, & Pascual, (2020) en la elaboracion de su aguamiel presentaron valores finales: 3.4; 5.8; 6.3 y 7.5 °Brix siendo similares a los obtenidos y asi denominando tambien al producto final como vino semi-dulce.

4.2.3. pH

El pH es una medida del equilibrio de la concentración del ión de hidrógeno donde la lectura inicial no debe superar de un valor de 4 ya que se elevaria el riesgo de la oxidacion del sustrato, en esta investigacion los datos obtenidos que demuestra la Tabla 24 se presenta el indicativo de acidez inicial de todos los tratamientos, se observa que los valores se encuentran en un pH entre 3.42 y 3.29 los cuales coinciden con los recomendados por Ocaña, (2012) donde indica que entre 3.0 y 3.5 de pH la proliferación de bacterias ácido lácticas no se da así como también para las bacterias acéticas. Con respecto al pH final los tratamientos no presentaron mucha variabilidad, obteniedose a los 45 días después de a ver culminado la fermentación valores de 3.45 y 3.22, los resultados obtenidos por Bravo, (2011) quien en la leboración de un hidromiel relacion 1:1 (miel: agua) presento valores de pH iniciales de 4.20 y valores de 3.20 al finalizar la fermentación. La concentración de pH se ve afectada por la neutralizacion de los ácidos de la solucion donde los sólidos solubles se consumen de forma continua al estar en contacto con el sustrato que esta

fermentando tendiendo a subir la acidez del mosto debido a los componentes alcalino principalmente, sodio, calcio, potasio, magnesio extraído de los sólidos.
autor

4.2.4. Acidez

A los 45 días de haber envasado el producto se realizó la determinación de acidez a las mejores combinaciones basandonos en los resultados del analisis sensorial donde los mejores tratamientos T9,T8 y T6 fueron seleccionados para ser evaluadas según el parámetro establecido en la norma INEN 341 de la determinación de acidez en bebidas alcohólicas destiladas. En la Tabla 26 se identifica los resultados de la titulación al finalizar la maduración de la bebida con 0.65; 0.63 y 0.58. Según la norma INEN 372 los valores obtenidos se encuentran en el rango ya que el valor máximo de la acidez volátil es de 1.5 g/L. los resultados son similares a los obtenidos Basilio, Prieto, López, Mellado, & Pascual, (2020) quien en su producto a una concentración de 20% v/v y cuatro diferentes medios de cultivo obtuvieron valores de ácido acético de 0.8; 0.4; 0.8 y 0.9.

Así mismo Montoya, Londoño, & Márquez, (2005) en el vino de mora obtuvieron porcentajes de acidez de 0.65 en el mosto y 0.94 al finalizar la maduración. Por lo tanto, los valores de acidez volátil son similares y se encuentran dentro de los parámetros establecido por la normativa.

4.2.5. Grado alcohólico

En el proceso fermentativo se puede observar su evolución mediante la disminucion de los azúcar es fermentables causado por las levaduras *Saccharomyces Bayanus*, el mosto de los tratamientos inicio a diferentes concentraciones de azúcar es , en base a los resultados del analisis sensorial donde los mejores tratamientos T9,T8 y T6 fueron evaluadas según la norma INEN 360 que establece el método para determinar el grado alcohólico en vinos por destilación. Los tratamientos con mayor grado alcohólico fueron T9, T8, T7 y T6 con valores de 7.18%, 6.90%, 6.50% y 6.22 % respectivamente (Tabla 27), estos valores son superiores a los datos obtenidos por Montoya, Londoño, & Márquez, (2005) donde para un vino a una concentracion del 25% de mora los valores de grado alcohólico reflejaron 5.49%. Los resultados que se

obtuvo en el grado alcohólico de este estudio son menores, por lo tanto, todos los tratamientos no cumplen con el límite mínimo que establece la norma INEN 372.

La concentración de sólidos solubles iniciales y finales previo al proceso fermentativo según la Guía de Estilos de Hidromiel elaborada por Strong & England (2015) son de suma importancia ya que partiendo de los azúcares fermentables se obtiene el grado alcohólico: aguamiel de 3.5% – 7.5% v/v; estándar de 7.5% - 14.0% v/v y seca de 14.0% - 18.0% v/v. Los resultados del grado alcohólico de los tratamientos T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 Y T8, encajan con la descripción de un aguamiel, mientras que el T9 está cerca al grado alcohólico de un hidromiel estándar. De acuerdo con Vicuña, (2019) presenta un producto a base de capulí 30 % y miel 23.3 % con un grado alcohólico de 13.5 %. Así mismo, Basilio, Prieto, López, Mellado, & Pascual, (2020) al evaluar el proceso de fermentación de la miel al 20% obtuvo valores de alcohol (%) de: 12.0%, 11.0%, 11.6% y 11.0%. Los resultados de los estudios que usan como materia prima la miel son mayores a los que se obtuvo en el presente trabajo esto se debe a la baja concentración de mora en el sustrato, así mismo los estudios que usan la mora como materia prima presentan valores similares a los obtenidos.

4.2.6. Metanol

Trascurrido 45 días de haber envasado la bebida se realizó la determinación de metanol a las mejores muestras T9, T8 y T6 con (20 % miel, 20 % mora, 25 % jarabe de almidón; 20 % miel, 20 % mora, 15 % jarabe de almidón y 13.3 % miel, 20 % mora, 25 % jarabe de almidón) fueron evaluados según el parámetro establecido en la norma INEN 347 de la determinación de metanol de bebidas alcohólicas destiladas. En el Anexo 2 se muestra los resultados otorgados por LABOLAB con 4.34; 8.11 y 8.88 mg/100 ml. Según la norma INEN 372 los valores obtenidos se encuentran en el rango ya que el valor máximo de metanol es de 40,0 mg/100ml.

4.2.7. Análisis sensorial

En lo referente a la evaluación sensorial de la bebida de baja graduación alcohólica los parámetros de color, aroma, sabor y astringencia obtuvieron una buena aceptación para determinar los mejores tratamientos siendo los T9, T8 Y T6 (Tabla 32)

Tabla 32. Valores promedio del análisis sensorial de los mejores tratamientos.

Tratamientos	Color	Aroma	Sabor	Astringencia
T9	4.27 ^a	3.80 ^a	3.70 ^a	3.87 ^a
T8	4.10 ^a	3.76 ^a	3.41 ^{abc}	3.67 ^{ab}
T6	4.10 ^a	3.74 ^a	3.51 ^{ab}	3.53 ^{abc}

En base al criterio emitido por 70 jueces no entrenados, el tratamiento con mejor puntuación en la prueba hedónica verbal de preferencia es "me gusta" el tratamiento T9 con (20 % miel + 20 % mora + 25 % jarabe de almidón) que posee valores de color (4.27), aroma (3.80), sabor (3.70) y astringencia (3.87) lo cual indica que es la combinación que tiene mayor aceptabilidad entre las muestras y además es la muestra que más se acerca a los parámetros establecidos por la INEN 372.

Por lo que se puede afirmar que el uso del almidón de papa y su integración al sustrato como un jarabe de almidón en una bebida fermentada se observa una aceptabilidad en sus atributos organolépticos y nos permite validar la viabilidad técnica del proceso de la hidrólisis enzimática.

V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Los parámetros óptimos de la hidrólisis enzimática para obtener un jarabe de glucosa fue a una concentración de 25% entre almidón de papa y agua, un pH de 5.5 para el proceso de licuefacción una concentración de 0.1 ml de enzima (α -amilasa) en condiciones de una temperatura de 90°C, una homogenización a 250 rpm por tres horas, mientras que el proceso de sacarificación se llevó a cabo a un pH de 5, la concentración de enzima (glucoamilasa) fue de 0.1 ml, una homogenización a 200 rpm y una temperatura de 60 °C por 12 horas. La temperatura influye sobre la eficacia de las características de los sólidos solubles, al final del proceso de sacarificación se observó que la cantidad de °Brix es proporcional a la concentración de almidón de papa siendo 26,4 °Brix el valor más alto alcanzado.
- Las características fisicoquímicas de los tratamientos T9, T8 y T6 para sólidos solubles son (7.3; 6.9 y 6.2), pH en un rango de 3.22 - 3.45, acidez total con (0.65; 0.63 y 0.58), un grado alcohólico de 7.1%, 6.9%, 6.5 y el metanol cumple con la norma INEN 372 garantizando la calidad de la bebida. Se aceptó la hipótesis alternativa, la cual determina que las tres distintas concentraciones de jarabe de papa si influyen en las características fisicoquímicas y organolépticas en la elaboración una bebida saborizada con mora de baja graduación alcohólica.
- La concentración del grado alcohólico que se obtuvo para todos los tratamientos en el proceso de fermentación, el cual se llevó a cabo bajo una temperatura controlada de 28°C por 30 días. Se expresa en proporción equitativa con la concentración del jarabe de almidón (5%, 15%, 25%) y la miel de abeja (6.6%, 13.3%, 20%). El T9 con 7.18 % es el tratamiento con mayor

concentración de etanol así también es la combinación que más se ajusta a los parámetros establecidos por la norma INEN 372.

- En la prueba hedónica de preferencia los tratamientos con mejor aceptabilidad son los T9, T8 y T6 según los parámetros de sabor y astringencia ya que según el color y sabor las mejores combinaciones fueron T3, T4, T7 y T9 esto debido a una primera percepción olfativa y visual; en estos últimos la puntuación fue superior, sin embargo al momento de catar las muestras y medir su estado de acidez en boca las muestras con mayor concentración de azúcar es fermentables T9 que obtuvo mejor elegibilidad y puntuación.

5.2. Recomendaciones

- Utilizar almidón de varias fuentes amiláceas a partir de tubérculos en el proceso de hidrólisis enzimática. Desarrollar una comparación de métodos de hidrólisis enzimática para obtener jarabe de glucosa a partir de productos amiláceos.
- Desarrollar una comparación organoléptica y fisicoquímica de los diferentes tipos de miel que son obtenidas a partir de una amplia diversidad de flores y su implementación en el campo alimentario.
- Realizar una comparación de medidas de color y composición fenólica global en los tratamientos realizados, para obtener una diferencia significativa entre los tratamientos en los atributos de color y aroma.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alvis, A., Vélez, C., Villada, H., & Rada, M. (2008). *Análisis Físico-Químico y Morfológico de Almidones de Ñame, Yuca y Papa y Determinación de viscosidad de las pastas*. Córdoba: Universidad de Córdoba.
- Anaya, Y., & Mantero, G. (2019). *obtención de una bebida alcohólica tipo vodka a partir de almidones de tres variedades de papa (solanum tuberosum) por vía enzimática*. Huánuco: UNIVERSIDAD NACIONAL HERMILIO VALDIZÁN HUÁNUCO
- Astiasarán, I., & Martines, A. (2005). Alimentos Composición y Propiedades . En I. Astiasarán, *Alimentos Composición y Propiedades* (pág. 370). México: McGraw-Hill.
- Bacca, A., & Revelo, A. (2020). Obtención de bioetanol mediante proceso de extracción - fermentación de. *alimentos hoy* , 16.
- Badui, S. (2006). *Química de los Alimentos* . Mexico: Pearson Educación de México, S.A. de C.V.
- Basilio, A. M., Prieto, J. E., López, V. C., Mellado, L. M., & Pascual, G. (2020). EL PROCESO DE FERMENTACIÓN EN LA PRODUCCIÓN ARTESANAL DE HIDROMIEL Y SU EVALUACIÓN SENSORIAL. *agronomia&ambiente*, 15.
- Benavides, I., & Pozo, M. (2008). ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA DESTILADA (Vodka), A PARTIR DE TRES VARIEDADES DE PAPA (Solanum

tuberosum) UTILIZANDO DOS TIPOS DE ENZIMAS . *UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE* , 143.

Blanco, A., Cuenca, M., Alexander, T., & Palacios, A. (2014). Influencia de la adición de hierbas aromáticas y especias sobre la fermentación alcohólica de miel. *Researchgate*, 7.

Bravo, J. (2011). *Obtención de hidromiel por fermentación de la miel de abeja con una cepa nativa Saccharomyces sp y adición de polen*. Abancay: Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac.

Cajas, J. (2019). EFECTO DE TRES DILUCIONES Y DOS TIPOS DE LEVADURAS SOBRE LOS PARÁMETROS SENSORIALES, FÍSICOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS EN LA ELABORACIÓN DE HIDROMIEL. *UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR*, 67.

Carbonero, P. (2014). Bioquímica de las Fermentaciones . En P. Carbonero, *Bioquímica de las Fermentaciones* (pág. 50). Madrid: Universidad Politécnica Madrid.

Chuquin, H. (2012). Alternativas de uso de la papa de desecho en la Provincia del Carchi y la contaminación con Plástico. *SATHIRI*, 25.

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

Cueva, J., & Pazos, C. (2015). OBTENCIÓN DE ALCOHOL A PARTIR DE CAMOTE DE PULPA ANARANJADO. *UNIVERSIDAD NACIONAL PEDRO RUIZ GALLO*, 158.

Espitia, L. (2009). Determinación de la concentración de Alfa y Beta Amilasas comerciales en la producción de etanol a partir de almidón de cebada empleando *Saccharomyces cerevisiae*. *Universidad Javeriana* , 114.

- Ferreyra, M. (2006). ESTUDIO DEL PROCESO BIOTECNOLÓGICO PARA LA ELABORACION DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DE JUGO DE NARANJAS . *UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE VALENCIA* , 268.
- Franco, G., & Bernal, J. (2020). *Tecnoloóa para el cultivo de la mora (Rubus glacus Benth)*. Mosquera: AGROSAVIA.
- García, M., Quintero, R., & López, A. (2017). *Alimentaria Biotecnología*. CDMX: Limusa.
- Gómez, A., & Pérez, B. (2018). Materias primas usadas para la produccion de etanol de cuatro generaciones: retos y oportunidades. *SciELO*, 5.
- Guerrero, I., & Yépez, C. (2018). Elaboración de una Bebida Alcohólica Destilada a partir de Yuca (Manihot esculenta) y Zanahoria Blanca (Arracacia xanthorrhiza). *UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ*, 55.
- INEN, N. (1992). Bebidas Alcohólicas. *Norma Técnica Ecuatoriana* , 11.
- Layens, G. (2008). Curso completo de apicultura. *Pranava Books*, 395.
- Llamuca, J. C. (2016). Sector Agroalimenticio, Cadena de la papa del circuito destinada a la Industria. *Superintendencia de Control del Poder de Mercado*.
- Londoño, J., Montoya, Á., & Márquez, C. (2005). Licor de Mora de Castilla (Rubus glacus Benth) con dierentes porcentajes de pulpa. *Universidad Nacional de Colombia*, 11.
- Miranda. (2015). Análisis de la producción de almidón de papa alimenticio y su incidencia en las empresas productoras de embutidos en el Distrito Metropolitano de Quito 2014. *UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK*.

- Montalvo, A. (2010). *Evaluación de la calidad poscosecha de las accesiones seleccionadas de mora (rubus Bent) provenientes de las provincias de Tungurahua y Bolivar*. Quito: Escuela Politécnica Nacional.
- Montoya, Á., Londoño, J., & Márquez, J. (2005). Licor de mora de catilla (*Rubus glaucis Benth*) con diferentes porcentajes de pulpa. *Scielo*, 11.
- Morales, B., & Molina, M. (2015). EVALUACIÓN DE FACTORES QUE PUEDEN INFLUIR EN EL PROCESO DE SACARIFICACIÓN-FERMENTACIÓN SIMULTÁNEAS PARA LA PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR DE MATERIALES AMILÁCEOS. *UNIVERSIDAD DE COSTA RICA* , 16.
- 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 . *Universidad Técnica de Ambato* , 310.
- Peña, E. (2017). *Extracción y caracterización fisicoquímica y funcional de almidones de cinco variedades de papas nativas procedentes de llave(puno)*. Lima : Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Pozo, F., Lechón, B., & Anchundia, M. (2022). *CARACTERIZACIÓN FISICOQUÍMICA Y FUNCIONAL DEL ALMIDÓN DE PAPA SUPERCHOLA Y SU UTILIZACIÓN EN LA FORMULACIÓN DE SALCHICHA TIPO FRANKFURT*. Tulcán: Sathirí.
- Prada, R. (2012). Alternativa de aprovechamiento eficiente de residuos biodegradables: el caso del almidón residual derivado de la industrialización de la papa. *SciELO*, 7.
- Pumisacho, M., & Sherwood, S. (2002). *EL CULTIVO DE LA PAPA EN ECUADOR* . Quito: INIAP-CIP.

- Rosalino, W., Vivanco, I., Reyes, E., & Rodríguez, D. (2020). Análisis de las falencias del sector apicultor en la provincia del Guayas (Ecuador). *ESPACIOS*, 30.
- Ruiz, I., Molina, D., Torres, G., & Sanchez, I. (2009). DETERMINACIÓN DE LOS PARAMETROS HIDROLÍTICOS PARA LA PRODUCCIÓN DE JARABLES DE GLUCOSA A PARTIR DE ALMIDON DE YUCA. *sCieLo*, 10.
- Strong, G., & England, K. (2015). *Guía de Estilos de Hidromiel*. Copyright © 2015, BJCP, Inc.
- Telegrafo, E. (20 de Junio de 2018). En Ecuador hay 1.400 productores de miel. *El Telegrafo*.
- Téllez, P., Peraza, L., Feria, A., & Andrade, A. (2012). Optimización del proceso de fermentación para la producción de tequila, utilizando la metodología de superficie de respuesta (msr). *Scielo*, 4.
- Vázquez, H., & Dacosta, O. (2007). Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. *Scielo*, 4.
- Vicuña, G. (2019). ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA ARTESANAL DE BAJA GRADUACIÓN ALCOHÓLICA A BASE DE LA MIEL DE ABEJA (APIS MELLÍFERA) Y FRUTA CAPULÍ (PRUNUS SALICIFOLIA). *ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO*, 82.
- Villareal, L. (2013). Comercialización de mora de castilla producida en la provincia del Carchi sector Maldonado y la Demanda requerida en España. *Universidad Politecnica Estatal del Carchi*.

VI. ANEXOS

Anexo 1. Elaboración de la bebida fermentada sabor a mora



Figura 10. Almidón de papa.



Figura 11. Proceso de Licuefacción



Figura 12. Homogenización 200 rpm a 90°C



Figura 13. Proceso de sacarificación



Figura 14. Jarabe de almidón (5,15,25) %.



Figura 15. Recepción de la miel



Figura 16. Recepción de la mora



Figura 17. Análisis Fisicoquímico del mosto.



Figura 18. Fermentación alcohólica



Figura 19. Traslase de la bebida



Figura 20. Embotellado



Figura 21. Maduración



Figura 22. Destilación del vino.



Figura 23. Determinación de alcohol.



Figura 24. Acidez total



Figura 25. Análisis sensorial

Anexo 2. Acta y Rúbrica de la sustentación de pre defensa.



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:	JÁCOME CABASCANGO ANDRÉS JASSON	CÉDULA DE IDENTIDAD:	1724671167
PERIODO ACADÉMICO:	2022 B		
PRESIDENTE TRIBUNAL	MSC. MIGUEL ANGEL ANCHUNDIA LUCAS	DOCENTE TUTOR:	MSC. CARLOS ALBERTO RIVAS ROSERO
DOCENTE:	PHD. GUALBERTO LEÓN REVELO		
TEMA DEL TIC:	"Elaboración de una bebida saborizada con mora (<i>Rubus glaucus</i>) de baja graduación alcohólica, con sustitución parcial de miel por un jarabe sacarificado de almidón de papa (<i>Solanum tuberosum</i> L)"		
No.	CATEGORÍA	Evaluación cuantitativa	OBSERVACIONES Y RECOMENDACIONES
1	PROBLEMA - OBJETIVOS	7,33	Revisar redacción del planteamiento del problema y que los objetivos sean acorde a esta.
2	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	8,00	
3	METODOLOGÍA	7,67	Revisar metodologías
4	RESULTADOS	6,67	Revisar resultados de evaluación, indicar pies de páginas de cuantas determinaciones son la media y la desviación estandar. Indicar en las operaciones unitarias las condiciones de procesos.
5	DISCUSIÓN	8,00	
6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	7,00	Mejorar la redacción y deben estar acorde a los objetivos planteados. Revisar recomendaciones.
7	DEFENSA, ARGUMENTACIÓN Y VOCABULARIO PROFESIONAL	8,00	
8	FORMATO, ORGANIZACIÓN Y CALIDAD DE LA INFORMACIÓN	8,00	Revisar ortografía, formato, norma APA.

Obteniendo una nota de: **7,67** 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 **viernes, 24 de febrero de 2023**

MSC. MIGUEL ANGEL ANCHUNDIA LUCAS
PRESIDENTE TRIBUNAL

MSC. CARLOS ALBERTO RIVAS ROSERO
DOCENTE TUTOR

PHD. GUALBERTO LEÓN REVELO
DOCENTE



CARRERA DE ALIMENTOS
RÚBRICA DE EVALUACIÓN DE LA SUSTENTACIÓN ORAL DE LA PREDEFENSA DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

ESTUDIANTE:	JÁCOME CABASCANGO ANDRÉS JASSON	CÉDULA DE IDENTIDAD:	1724671167
PERIODO ACADÉMICO:	2022B	FECHA:	24 de febrero de 2023
PRESIDENTE TRIBUNAL:	MSC. MIGUEL ANGEL ANCHUNDIA LUCAS	DOCENTE TUTOR:	MSC. CARLOS ALBERTO RIVAS ROSERO
DOCENTE:	PHD. GUALBERTO LEÓN REVELO	AULA:	101 EDIFICIO DE AULAS: 4
TEMA DEL TIC:	"Elaboración de una bebida saborizada con mora (Rubus glaucus) de baja graduación alcohólica, con sustitución parcial de miel por un jarabe sacarificado de almidón de papa (Solanum tuberosum L)"		

No.	CATEGORÍA	CRITERIO ÓPTIMO DE EVALUACIÓN	PRESIDENTE	TUTOR	DOCENTE	
SUSTENTACIÓN ORAL - DEFENSA	1	PROBLEMA - OBJETIVOS	Se expone el planteamiento, formulación y justificación, los objetivos son expuestos como sistémicos para alcanzar el objetivo general; las preguntas de investigación aportan a entender lo que se quiere investigar y son coherentes con los objetivos.	7	8	7
	2	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	Es un marco de referencia para el desarrollo e interpretación de los resultados de la investigación. Los antecedentes investigativos incluidos tienen relación con el tema planteado.	8	8	8
	3	METODOLOGÍA	El estudiante explicó el enfoque de la investigación de manera lógica al análisis estadístico, la población, muestra, técnicas e instrumentos presentados, permitiendo entender que el informe es consistente en resultados y discusión.	7	8	8
	4	RESULTADOS	Se analizó la relación entre las variables de manera cualitativa, cuantitativa y fueron representativas a la profesión. Expuso gráficos, figuras, tablas de frecuencia y contingencia coherentes y de acuerdo a la metodología de investigación. Los datos fueron presentados de forma clara y efectiva a lo observado y no exigen interpretaciones.	6	7	7
	5	DISCUSIÓN	La discusión expuesta y defendida establece la relación de los objetivos propuestos, con los antecedentes de la investigación y el tema.	8	8	8
	6	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	Las conclusiones y recomendaciones expuestas, son claras, concisas y acordes a los objetivos y resultados de la investigación.	7	7	7
	7	DEFENSA, ARGUMENTACIÓN Y VOCABULARIO PROFESIONAL	El estudiante demostró conocimiento y seguridad del objeto de estudio. Relacionó conceptos y teorías. El vocabulario utilizado fue acorde a la terminología de la profesión con un volumen de voz adecuado. Hizo un uso correcto del tiempo. Utilizó recursos didácticos apropiados.	8	8	8
PROMEDIO SOBRE SIETE			5,27			
DOCUMENTO ESCRITO	8	FORMATO, ORGANIZACIÓN Y CALIDAD DE LA INFORMACIÓN	El formato, la organización de contenidos, redacción, uso de gramática y ortografía, aplicación de normas de citas y referencias cumplen con el formato de la UPEC.	8	8	8
PROMEDIO SOBRE TRES			2,40			
			7,67			

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.

Art. 35.- De la aprobación de la pre-defensa del informe final del TIC.- De la aprobación de la pre-defensa del informe final del TIC.- El estudiante deberá obtener una nota mínima de 7/10; el estudiante que no obtenga esta nota mínima, se presentará a un segundo proceso de sustentación, transcurrido el término de 10 días desde la fecha primera



MSC. CARLOS ALBERTO RIVAS ROSERO
DOCENTE TUTOR



MSC. MIGUEL ANGEL ANCHUNDIA LUCAS
PRESIDENTE



PHD. GUALBERTO LEÓN REVELO
DOCENTE

Anexo 3. Certificado del Abstract por parte del centro de Idiomas



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

Informe sobre el Abstract de Artículo Científico o Investigación.

Autor: Jácome Cabascango Jasson Andrés

Fecha de recepción del abstract: 24 de marzo de 2023

Fecha de entrega del informe: 24 de marzo de 2023

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 9,5 por lo cual se valida dicho trabajo.

Atentamente



Ing. Edison Peñafiel Arcos MSc
Coordinador del CIDEN



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

ABSTRACT- EVALUATION SHEET

NAME: Jácome Cabascango Jasson Andrés

DATE: 24 de marzo de 2023

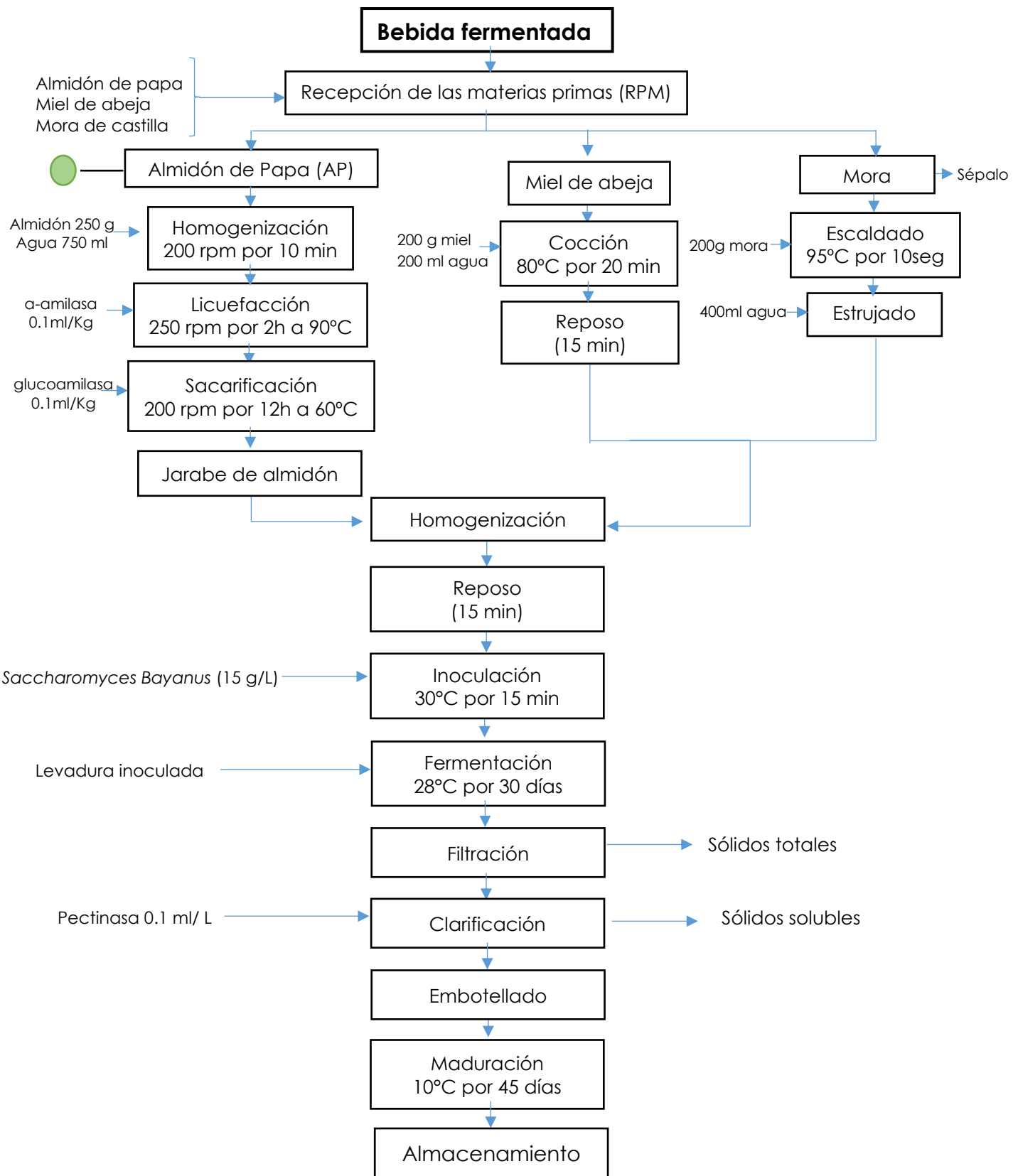
TOPIC: "Elaboración de una bebida saborizada con mora (Rubus glaucus) de baja graduación alcohólica, con sustitución parcial de miel por un jarabe sacarificado de almidón de papa (Solanum tuberosum L)"

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 Jácome Jasson 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	TOTAL 9,5	
	5 - 6,9: AVERAGE	0 - 4,9: LIMITED		

Anexo 4. Flujograma de proceso del mejor tratamiento (T9)



Elaboración de la bebida fermentada del mejor tratamiento

Recepción: Se seleccionaron materias primas (RMP) cumpliendo parámetros de calidad para elaborar el producto, es así como la miel de abeja fue adquirida del apiario "El Capulí", la mora fue seleccionada de la localidad de "Maldonado" y el almidón de papa seleccionado del proceso de extracción de almidón de papa.

Homogenización Almidón de Papa (AP): El almidón, fue sumergido en un litro de agua limpia según la NTE INEN 2200 a una concentración de (25) % m/v para posteriormente llevar la solución a homogenizar.

Hidrólisis enzimática: se preparó, en un vaso de precipitación de 2000 ml, una solución a de almidón al (25) % m/v. Para regular el pH se empleó una solución de ácido clorhídrico a una concentración de 0.1N. El equipo empleado fue un homogeneizador de hélice marca BOECO GERMANY modelo OSD-20 S66, la homogenización consto de dos etapas:

- Licuefacción: el proceso se llevó a 250 rpm, una temperatura de 90°C y una dosificación de la enzima α -(amilasa) empleada para la licuefacción de almidón molido en húmedo es de 0,04 a 0,08% p/p DS, las condiciones de uso se las menciona en la (Tabla 3)
- Sacarificación: el proceso se llevó a 200 rpm, la tasa de dosificación de la enzima (glucoamilasa) es de 0.1ml/kg siendo sometida a 60°C pH 4.3 y con un tiempo de espera de 24 a 72 horas, las condiciones de uso se las menciona en la (Tabla 4)

Jarabe de almidón: Una vez que se obtuvo un sustrato rico en azúcar es a partir de almidón, se almacenó y se colocó las muestras en refrigeración para posteriormente adicionar al mosto en la etapa de homogenización.

Miel de abeja: en la (RMP) la miel fue pesada (200g) y sometida a un registro de parámetros fisicoquímicos previo a la cocción.

Cocción: se colocó en un vaso precipitado de 1000 ml de miel y agua con la finalidad de mezclar ambos ingredientes, se dejó en cocción hasta alcanzar los 80°C por 20 min, se procedió a separar la capa de burbujas generada, para posteriormente adicionar la miel al mosto en la etapa de homogenización.

Mora: posterior a la (RMP) de la mora fue separado el sépalo, fue pesada (200g) y sometida a un registro de parámetros fisicoquímicos.

Escaldado: se llevó a cabo una limpieza por inmersión de la mora en agua a una temperatura de 95°C por 10 segundos para la inactivación enzimática para eliminar el polvo y agentes patógenos no deseables.

Macerado: la mora colocada en un vaso precipitado de 2000 ml fue triturada con el objetivo de destruir parcialmente la materia prima, posteriormente se deja reposar.

Homogenización: se preparó por separado los insumos de las anteriores etapas (miel 200g, mora 200g, jarabe de almidón 1000g y agua 600ml) se homogenizó todas las materias primas pesándolas según las formulaciones ya planteadas.

Inoculación: se seleccionó y se agregó 15 g/L la levadura (*Saccharomyces Bayanus*) con la cual se adiciono al mosto, misma que llevó un proceso de hidratación en 50 ml de mosto en un vaso de precipitado a 35°C. La levadura hidratada con el mosto se dejó en reposo durante cinco minutos hasta que la levadura se active y presente espuma sobre la superficie. Esto indica que la levadura esta lista para inocular el resto del mosto.

Fermentación: las levaduras se alimentan del mosto rico en azúcar es que presentan la miel, el almidón hidrolizado y la mora transformándolos en alcohol y gas carbónico, el tiempo de fermentación fue de 30 días a una temperatura de 28°C, en un lugar oscuro evitando la luz solar. En este proceso se controló los parámetros de fermentación (°Brix, pH y la Temperatura)

Filtración: Culminada la etapa de fermentación se filtró el mosto con ayuda de un una tela lienzo eliminando la mayoría de sólidos posibles y de este modo evitar la presencia de turbidez, los sólidos que se observa en la base del fermentador contienen levaduras muertas y materia orgánica que al no ser filtrada adecuadamente aportaría aromas desapropiados a la bebida alterando sus características finales, posteriormente se trasvasó a otro fermentador utilizando una manguera para terminar el proceso.

Clarificación: en este paso se utilizó pectinasa 0,5 ml/L directamente en el sustrato previamente filtrado, una vez disuelta se mezcla con el producto y se espera 7 días hasta que los sólidos solubles se acumulen en el fondo.

Embotellado: Luego de haber filtrado la bebida alcohólica se envasó en botellas de vidrio de 750 ml.

Maduración. Proceso permite mejorar los aromas y las características organolépticas, además produce una gasificación natural a la bebida, transcurrido un tiempo mínimo de 3 días ya puede ser consumida.

Anexo 5. Resultados de Metanol en LABOLAB



Orden de trabajo N°230240
Informe N° 230240
Hoja 1 de 1

DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE

Nombre: JASSON ANDRÉS JÁCOME CABASCANGO
Dirección: Cayambe, Calle Gran Colombia y Rumiñahui casa S11-72
Muestra: **Vino de mora A3 B3**
Descripción de la muestra: Líquido
Fecha Elaboración: 19 de octubre del 2022
Fecha Vencimiento: 15 de septiembre del 2023
Fecha de Toma: 15 de enero del 2023
Lote: ---
Localización: ---
Envase: PET
Conservación de la muestra: Ambiente

DATOS DEL LABORATORIO

Fecha de recepción: 18 de enero del 2023
Toma de muestra por: Cliente
Fecha de realización del ensayo: 18 - 25 de enero del 2023
Fecha de emisión del informe: 27 de enero del 2023
Condiciones ambientales: 21,2°C 60%HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADOS
Metanol	mg/100 ml	INEN 347	4,34

Cecilia Luzuriaga
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.



Figura 26. Análisis metanol T9 (A3B3)

DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE

Nombre: JASSON ANDRÉS JÁCOME CABASCANGO
Dirección: Cayambe, Calle Gran Colombia y Rumiñahui casa S11-72
Muestra: **Vino de mora A3 B2**
Descripción de la muestra: Líquido
Fecha Elaboración: 19 de octubre del 2022
Fecha Vencimiento: 15 de septiembre del 2023
Fecha de Toma: 15 de enero del 2023
Lote: ---
Localización: ---
Envase: PET
Conservación de la muestra: Ambiente

DATOS DEL LABORATORIO

Fecha de recepción: 18 de enero del 2023
Toma de muestra por: Cliente
Fecha de realización del ensayo: 18 - 25 de enero del 2023
Fecha de emisión del informe: 27 de enero del 2023
Condiciones ambientales: 21,2°C 60%HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADOS
Metanol	mg/100 ml	INEN 347	8,11

Cecilia Luzuriaga
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.

Figura 27. Análisis de metanol T8 (A3B2)

DATOS PROPORCIONADOS POR EL CLIENTE

Nombre: JASSON ANDRÉS JÁCOME CABASCANGO
Dirección: Cayambe, Calle Gran Colombia y Rumiñahui casa S11-72
Muestra: **Vino de mora A2 B3**
Descripción de la muestra: Líquido
Fecha Elaboración: 19 de octubre del 2022
Fecha Vencimiento: 15 de septiembre del 2023
Fecha de Toma: 15 de enero del 2023
Lote: ---
Localización: ---
Envase: PET
Conservación de la muestra: Ambiente

DATOS DEL LABORATORIO

Fecha de recepción: 18 de enero del 2023
Toma de muestra por: Cliente
Fecha de realización del ensayo: 18 – 25 de enero del 2023
Fecha de emisión del informe: 27 de enero del 2023
Condiciones ambientales: 21,2°C 60%HR

ANÁLISIS QUÍMICO:

PARÁMETRO	UNIDAD	MÉTODO	RESULTADOS
Metanol	mg/100 ml	INEN 347	8,88

Cecilia Luzuriaga
Dra. Cecilia Luzuriaga
GERENTE GENERAL

LABOLAB
ANÁLISIS DE ALIMENTOS, AGUAS Y AFINES

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.

Figura 28. Análisis de metanol T6 (A2B3)

Anexo 6. Evaluación sensorial



UNIVERSIDAD POLITÉCNICA ESTATAL DEL CARCHI
FACULTAD DE INDUSTRIAS AGROPECUARIAS Y CIENCIAS AMBIENTALES
INGENIERÍA EN ALIMENTOS
HOJA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

Fecha: _____ Edad: _____ Género: Femenino Masculin

Se solicita su colaboración para realizar el análisis de evaluación sensorial de calidad y aceptabilidad del tema de tesis:

“Elaboración de una bebida saborizada con mora (*Rubus glaucus*) de baja graduación alcohólica, con sustitución parcial de miel por un jarabe sacarificado de almidón de papa (*Solanum tuberosum L*)”

Indicaciones.

1. Pruebe las muestras en el orden en el cual se presentan en la hoja.
2. Tome agua cada vez que termine de probar la muestra.
3. Evalúe el color, aroma, sabor, astringencia y apariencia global

Califique su nivel de aceptabilidad de acuerdo con la escala de equivalencia de la tabla 1 y anote sus respuestas en la tabla 2:

Tabla 33. Escala de aceptabilidad.

Valor	Aceptabilidad
1	Me disgusta mucho
2	Me disgusta
3	No me gusta ni me disgusta
4	Me gusta
5	Me gusta mucho

Tabla 34. Atributos de las muestras de la bebida de baja graduación alcohólica

ATRIBUTO	MUESTRAS								
	190	558	341	686	490	544	727	296	685
Color									
Aroma									
Sabor									
Astringencia									

Mejor muestra:

.....

¡GRACIAS POR SU COLABORACIÓN!

Anexo 7. Fichas Técnicas de las enzimas (α -amilasa, glucoamilasa)



SPEZYME® FRED

Low Calcium, Low pH, Thermostable Alpha-Amylase

DESCRIPTION

SPEZYME® FRED is a starch hydrolyzing α -amylase with high heat and low pH stability derived from a genetically modified strain of *Bacillus licheniformis*. The enzyme does not require additional calcium for operating under industrial liquefaction conditions. SPEZYME® FRED is an endo-amylase that randomly hydrolyzes α -1,4-glycosidic bonds to reduce the viscosity of gelatinized starch, producing soluble dextrans and oligosaccharides.

SPEZYME® FRED complies with the current FAO/WHO and Food Chemical Codex recommended specifications for food-grade enzymes and is GRAS (Generally Recognized As Safe) in the United States.

TYPICAL CHARACTERISTICS

Activity: 17,400 LU/g (minimum)

Appearance: Clear brown liquid

pH: > 5.0

Specific gravity: 1.18 to 1.20 g/ml

The activity of SPEZYME® FRED is expressed in Liquefon Units (LU). One Liquefon Unit is the measure of the digestion time required to produce a color change with iodine solution, indicating a definite stage of dextrinization of starch substrate under specified conditions. A detailed assay method is available upon request.

PERFORMANCE BENEFITS

SPEZYME® FRED is engineered to provide:

- Excellent performance with no added calcium, under most conditions
- Improved high temperature stability
- Improved low pH stability
- Improved robustness
- Improved flexibility in process control

SPEZYME® FRED operates safely under conditions that result in:

- No maltulose formation
- Reduced chemical consumption

- Reduced ion-exchange cost
- Reduced color formation and refining needs
- Significantly reduced overall process cost

APPLICATIONS

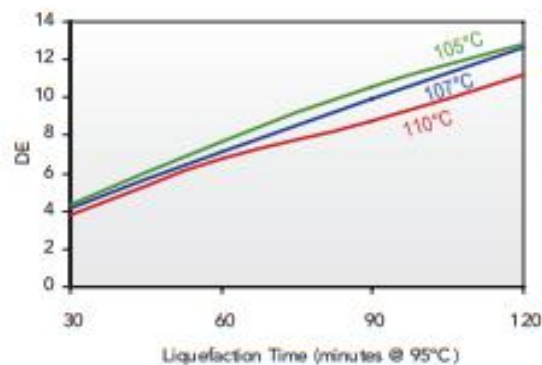


Figure 1: Effect of pH on DE (Dextrose Equivalent)
Conditions: 35% DS, primary liquefaction at 107°C for 5 minutes, 12 LU/g enzyme, 20 ppm added calcium, 50 ppm sulfite

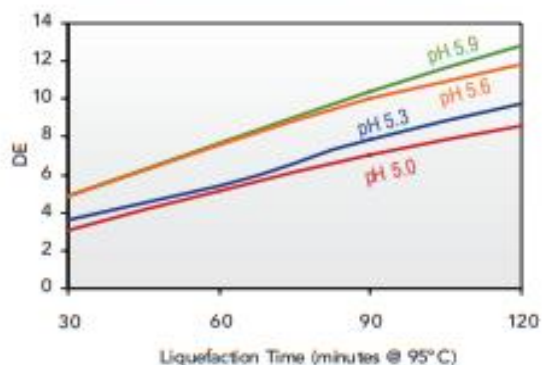


Figure 2: Effect of Jet Temperature on DE
Conditions: 35% DS, primary liquefaction for 5 minutes, pH 5-6, 12 LU/g enzyme, 20 ppm added calcium, 50 ppm sulfite



RECOMMENDED OPERATIONAL CONDITIONS	
pH	5.5 to 5.8
Dry Substance	32 - 35% w/w
Liquefaction Conditions	Primary: 105 - 110°C for 5 - 7 minutes
	Secondary:
	95°C for 90 - 120 minutes (Wet Mill) 85 - 93°C for 90 - 120 minutes (Dry Mill)

EFFECT OF pH AND TEMPERATURE

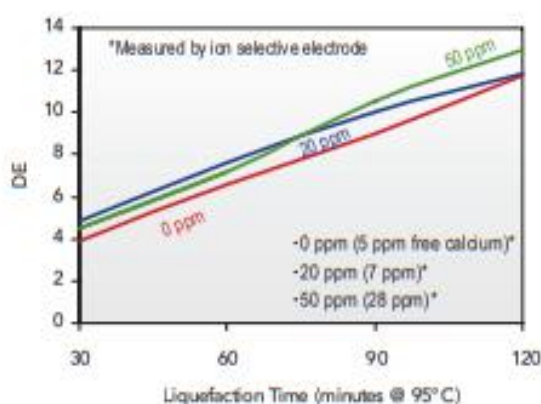


Figure 3: Effect of Added Calcium on DE
Conditions: 35% DS, primary liquefaction at 107°C for 5 minutes, 12 LU/g enzyme, pH 5.6, 50 ppm sulfite

EFFECT OF CALCIUM DOSAGE GUIDELINES

The optimal usage level of SPEZYME® FRED in liquefaction depends upon processing parameters such as type of raw material, processing time, pH, temperature and DS (Dry Substance).

A typical SPEZYME® FRED dosage rate for liquefaction of wet milled starch is 0.04 to 0.08% w/w DS. A minimum enzyme starting dosage of 10 to 12 LU/g DS (0.57 to 0.69 kg/MT DS) is recommended under most conditions. A starting dose of 20 to 24 LU/g DS (1.2 to 1.4 kg/MT DS) is recommended for dry milled grain mash under most conditions.

PROPERTIES OF LIQUEFIED STARCH

Starch hydrolyzed by SPEZYME® FRED produces soluble dextrans comparable to those produced by conventional high temperature α -amylase, such as SPEZYME® AA enzyme. Saccharification of the liquefied starch, at DE as low as

8, results in a negative iodine test indicating the absence of undesirable starch fragments in the finished product. SPEZYME® FRED performs equally well at low pH on starch from different sources, as shown in Figure 4.

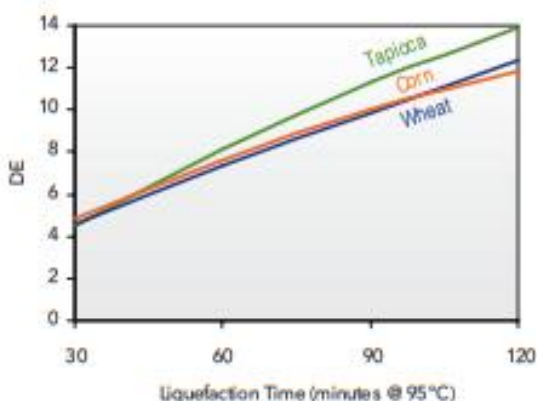


Figure 4: Comparison of Starch Liquefaction from Different Sources at pH 5.6

PACKAGING

SPEZYME® FRED enzyme is available in various standard package sizes. Please contact DuPont for detailed information.

STORAGE

SPEZYME® FRED can be stored at 20°C (68°F) with less than 3% loss in activity per month. Refrigeration at 0 - 5°C (32 - 41°F) is recommended for long-term storage.

SAFETY & ENZYME HANDLING

Inhalation of enzyme dust and mists should be avoided. In case of contact with the skin or eyes, promptly rinse with water for at least 15 minutes.

For detailed handling information, please refer to the appropriate Material Safety Data Sheet, the Enzyme Technical Association (ETA) handbook *Working Safely With Enzymes*, and the Association of Manufacturers and Formulators of Enzyme Products (AMFEP) handbook *Guide to the Safe Handling of Microbial Enzyme Preparations*. All are available from DuPont.

TECHNICAL SERVICE

Information covering specific applications of this product is available. DuPont will work with customers to enhance processes and solve problems.



OPTIDEX[®] L-400

Saccharifying Enzyme

DESCRIPTION

OPTIDEX[®] L-400 enzyme is intended for the production of glucose from liquefied starch. The enzyme is a fungal 1,4- α -D-glucan glucohydrolase (E.C.3.2.1.3) commonly referred to as a glucoamylase or amyloglucosidase. It is an exo-amylase that catalyzes the release of successive glucose units from non-reducing ends of dextrin and oligosaccharide chains by hydrolyzing both linear (1,4- α -D) and branched (1,6- α -D) glucosidic linkages. OPTIDEX L-400 glucoamylase is produced by controlled fermentation of a selected strain of *Aspergillus niger*.

This product complies with the current recommended purity specifications for food-grade enzymes given by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA) and the Food Chemicals Codex (FCC) and is GRAS (Generally Recognized As Safe) in the United States.

TYPICAL CHARACTERISTICS

Activity: 350 GAU/g (minimum)

Appearance: Light brown liquid

pH: 4.0 to 4.5

Specific gravity: 1.13 to 1.15 g/ml

One Glucoamylase Unit (GAU) is the amount of enzyme that will liberate one gram of reducing sugars calculated as glucose from a soluble starch substrate per hour under the specified conditions of the assay. A detailed assay method is available upon request.

OPTIDEX[®] L-400 enzyme is essentially free of transglucosidase activity, and therefore produces nearly quantitative yields of glucose from liquefied starch.

APPLICATIONS

The glucose syrup industry uses OPTIDEX[®] L-400 enzyme to saccharify liquefied starch from various sources including corn, wheat, milo, tapioca, barley, rice and potatoes. The resultant glucose-rich syrups can be purified to meet various specifications: crystallized to produce dextrose, isomerized to produce high fructose syrup, or fermented to produce products including alcohol and citric acid.

EFFECT OF PH

For maximum OPTIDEX[®] L-400 glucoamylase activity the optimum pH range is from pH 4.0 to 4.4. The operational range is from pH 3.5 to 5.0 as shown in Figure 1. For maximum OPTIDEX[®] L-400 enzyme stability, the pH range is from 3.5 to 5.5 as shown in Figure 2.

EFFECT OF TEMPERATURE

For maximum OPTIDEX[®] L-400 glucoamylase activity the optimum temperature range is from 58 to 65°C (137 to 149°F) as shown in Figure 3. OPTIDEX[®] L-400 enzyme demonstrates excellent stability up to a temperature of 65°C (149°F) as shown in Figure 4.

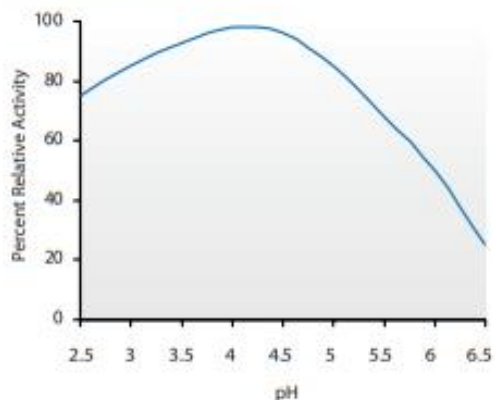


Figure 1: Effect of pH on Enzyme Activity
Conditions: 1 hour, pH 4.2, 4% w/v soluble starch

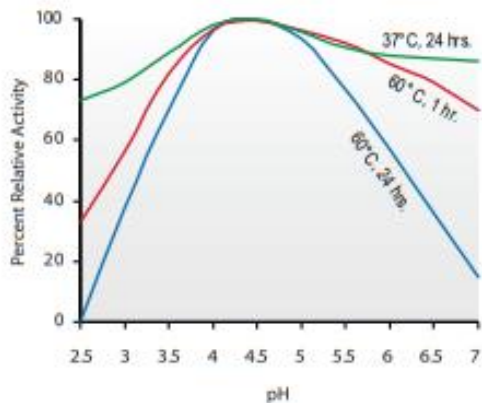


Figure 2: Effect of pH on Enzyme Stability
Conditions: pH 4.2, 30% w/w glucose

DOSAGE GUIDELINES

In a typical saccharification at 60°C (140°F), pH 4.3 and with a holding time from 24 to 72 hours, the recommended dosage is 0.36 to 1 kg (0.29 to 0.88 liters) of OPTIDEX® L-400 enzyme per metric ton of starch dry substance.

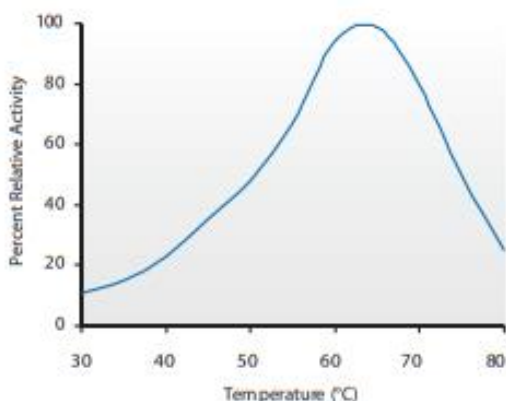


Figure 3: Effect of Temperature on Enzyme Activity
Conditions: pH 4.2, 30% w/w glucose

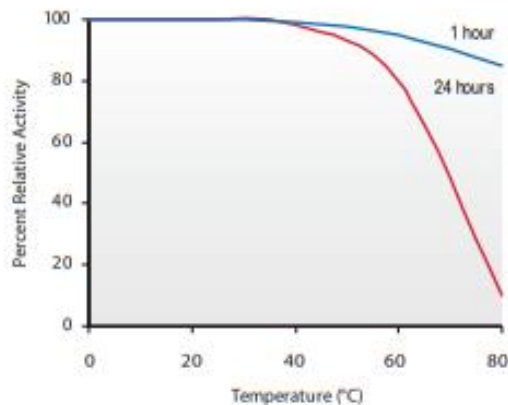


Figure 4: Effect of Temperature on Enzyme Stability
Conditions: pH 4.2, 30% w/w glucose

PACKAGING

OPTIDEX® L-400 enzyme is available in various package sizes. Please consult your DuPont representative for detailed information.

STORAGE

OPTIDEX® L-400 enzyme will meet the declared activity upon arrival at the customer's plant. OPTIDEX® L-400 enzyme can be safely stored in unopened and sealed original containers. For maximum stability, enzyme containers should be stored below 20°C (70°F), preferentially refrigerated and sheltered against direct sunlight. Refrigeration at 5°C (41°F) is recommended for long-term storage.

SAFETY & ENZYME HANDLING

Inhalation of enzyme dust and mists should be avoided. In case of contact with the skin or eyes, promptly rinse with water for at least 15 minutes.

For detailed handling information, please refer to the appropriate Material Safety Data Sheet, the Enzyme Technical Association (ETA) handbook *Working Safely With Enzymes*, and the Association of Manufacturers and Formulators of Enzyme Products (AMFEP) handbook *Guide to the Safe Handling of Microbial Enzyme Preparations*. All are available from DuPont.

TECHNICAL SERVICE

Information covering specific applications of this product is available. DuPont will work with customers to enhance processes and solve problems. Let us know what you need and we will assist you.

¡La cepa para condiciones extremas!

Safœno™ BC S103



INGREDIENTES

Levadura (*Saccharomyces bayanus**), agente emulsionante E491 (monoesterato de sorbitán)

ORIGEN

Safœno™ BC S103 ha sido aislada por sus excelentes propiedades fermentativas y gran resistencia a condiciones de vinificación extremas

CARACTERÍSTICAS ENOLÓGICAS

Características fermentativas:	<ul style="list-style-type: none">- Excelente fuerza de implantación- Amplio rango de temperaturas de fermentación: 10 °C - 35 °C- Excelente asimilación de fructosa- Muy buena tolerancia al alcohol: hasta 18% vol./vol.- Bajos requerimientos de nitrógeno
Características metabólicas:	<ul style="list-style-type: none">- Rendimiento azúcar/alcohol: 16,2 g/l por grado alcohólico (vol./vol.)- No produce compuestos azufrados- Baja producción de espuma- Baja producción de alcoholes superiores- Producción de acidez volátil inferior a 0,20 g/l

APLICACIONES SUGERIDAS

▪ Para asegurar fermentaciones en condiciones difíciles:

Safœno™ BC S103 se adapta a todo tipo de mostos, tales como aquellos con alto potencial alcohólico, muy clarificados o con elevadas dosis de SO₂.

▪ Respeto de la tipicidad varietal

Safœno™ BC S103 enalteece las características varietales y contribuye a la producción de vinos finos con tipicidad de su terruño. Se recomienda particularmente para la obtención de vinos Chardonnay frescos y limpios.

▪ Tratamientos curativos

Debido a su alta resistencia al alcohol (18% vol./vol.) y SO₂, la **Safœno™ BC S103** responde muy bien al ser empleada para reiniciar fermentaciones (con alto grado alcohólico y contenido de SO₂). Consultar nuestro protocolo Fermentis® para reiniciar fermentaciones paralizadas.

▪ Para toma de espuma / prise de mousse

Por sus características técnicas, **Safœno™ BC S103** puede ser utilizada en fermentaciones secundarias, ya sea en botellas, según el método tradicional, o en tanques (en este último caso es preferible la **Safœno™ VR 44**).

De acuerdo a "The Yeasts, A Taxonomic Study" 5ta edición, C.P. Kurtzman, J.W. Fell y T. Boekhout, 2011.

The obvious choice for beverage fermentation    

Fermentis Division of S.L. Lesaffre - BP 3029 - 137 Rue Gabriel Péri - 59703 Marcq-en-Barœul Cedex - FRANCE - Tel. +33 (0)3 20 81 62 75 - Fax. +33 (0)3 20 81 62 70 - www.fermentis.com



UTILIZACIÓN

- ☞ Colocar en un tanque amplio, un volumen de **agua equivalente a 10 veces el peso de la levadura a resuspender, a una temperatura de 30 – 35 °C. Esparcir la levadura suavemente sobre el agua, prestando atención en formar una capa fina y homogénea sobre la superficie.**
- ☞ **Dejar reposar durante 20 minutos.**
- ☞ **Mezclar suavemente** hasta completar la rehidratación, para evitar la presencia de grumos antes de la fase de aclimatación.
- ☞ **En forma progresiva y con agitación, agregar mosto del tanque de fermentación al inóculo, hasta duplicar su volumen.** La temperatura del inóculo irá descendiendo gradualmente, dando lugar a la activación de la levadura.
- ☞ **Dejar descansar por 10 minutos.**
- ☞ Homogenizar e incorporar el inóculo de levadura en el tanque de fermentación, **utilizando un proceso de remontaje con aireación.**

DOSIFICACIÓN

Vinos tranquilos, blancos y tintos: 10 a 20 g/hl

Fermentación en barricas: Adicionar la levadura en dos partes, para permitir una fermentación regular, sin generar importantes incrementos de temperatura.

Reinicio de fermentaciones: 30 a 40 g/hl

Toma de espuma / Prise the mousse: 15 a 40 g/h

PACKAGING

Caja conteniendo 20 sachets de 500 g envasados al vacío (Peso neto total de la caja: 10 kg)

Caja conteniendo 1 paquete envasado al vacío de 10 kg (Peso neto total de la caja: 10 kg)

GARANTÍA

El elevado contenido de materia seca del producto, asegura una conservación óptima en su embalaje original, a una temperatura que no sobrepase los 20 °C (durante 3 años), o 10 °C para un almacenamiento extendido (4 años).

Fermentis® garantiza la conformidad del producto respecto a lo establecido en el **Codex Enológico Internacional** hasta la fecha límite recomendada para su uso, mientras el producto permanezca en las condiciones de almacenamiento descritas anteriormente.

Todas las levaduras Fermentis® son elaboradas bajo un esquema de producción específico, de acuerdo al “know-how” del grupo Lesaffre, líder mundial en levaduras. Esto garantiza la más alta pureza microbiológica y actividad fermentativa.

Las informaciones contenidas en esta ficha técnica son la transcripción exacta del estado de nuestros conocimientos sobre producto a la fecha indicada. Estas informaciones son propiedad exclusiva de Fermentis®, Division of S.I.Lesaffre. Es responsabilidad del usuario asegurar que el uso de este producto en particular sea conforme a las leyes y reglamentaciones en vigencia.

The obvious choice for beverage fermentation

Anexo 9. Ficha Técnica de Vinos INEN 372



**NORMA
TÉCNICA
ECUATORIANA**

NTE INEN 372
Cuarta revisión
2016-11

BEBIDAS ALCOHÓLICAS. VINO. REQUISITOS

ALCOHOLICS BEVERAGES. WINE. REQUIREMENTS

ICS: 67.160.10

7
Páginas

BEBIDAS ALCOHÓLICAS VINO REQUISITOS

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma establece los requisitos para el vino.

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 Códex para los aditivos alimentarios (MOD)*

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 339, *Bebidas alcohólicas. Muestreo*

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

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:

3.1

vino

Bebida obtenida exclusivamente de la fermentación alcohólica completa o parcial de la uva fresca, o del mosto concentrado de uva.

3.2

vino tranquilo (no gasificado)

Vino que contiene anhídrido carbónico (CO₂) natural, procedente de la fermentación alcohólica.

3.3

vino espumoso (espumante)

Vino que contiene anhídrido carbónico (CO₂), el cual es obtenido por fermentación alcohólica en recipiente cerrado. Esta fermentación se puede obtener por la adición de sacarosa o mosto concentrado y levadura.

3.4

vino gasificado (carbonatado)

Vino que contiene anhídrido carbónico (CO₂) adicionado en el momento del embotellado.

4. CLASIFICACIÓN

4.1 Vino según el color:

4.1.1 Vino blanco

4.1.2 Vino tinto

4.1.3 Vino rosado

4.2 Vino según los gases disueltos:

4.2.1 Vino tranquilo (no gasificado)

4.2.2 Vino espumoso (espumante)

4.2.3 Vino gasificado (carbonatado)

4.3 Vinos tranquilos según el contenido de azúcar añadida después de la fermentación:

4.3.1 Vino seco

4.3.2 Vino semidulce (semiseco)

4.3.3 Vino dulce

4.4 Vinos espumosos y gasificados según el contenido de azúcar añadida después de la fermentación:

4.4.1 Extra bruto

4.4.2 Bruto

4.4.3 Extra seco

4.4.4 Seco

4.4.5 Semidulce (semiseco)

4.4.6 Dulce

4.5 Vinos fortificados

5. REQUISITOS

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

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

TABLA 1. Requisitos físicos y químicos para los vinos

Requisitos	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Alcohol, fracción volumétrica	%	8,0	23,0	NTE INEN 360
Acidez volátil, como ácido acético	g/L	-	1,5	OIV-MA-AS313-02
Anhidrido sulfuroso total	mg/L*	-	400,0	NTE INEN 356
Metanol	mg/L *		400,0	OIV-MA-AS312-03A
Contenido de azúcares				
- Vino seco	g/L	-	12,0	OIV-MA-AS311-01A
- Vino semidulce		12,1	45,0	
- Vino dulce		45,1	-	
* El volumen de 1 L corresponden al volumen real del vino.				
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 Los vinos espumosos y gasificados deben cumplir con los requisitos indicados en la Tabla 2.

TABLA 2. Requisitos físicos y químicos para los vinos espumosos y gasificados

Requisitos	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Alcohol, fracción volumétrica	%	7,0	14,0	NTE INEN 360
Acidez volátil, como ácido acético	g/L	-	1,5	OIV-MA-AS313-02
Metanol	mg/L *		400,0	OIV-MA-AS312-03A
Contenido de azúcares	g/L			
- Extra bruto		-	6	OIV-MA-AS311-01 *
- Bruto		-	12	
- Extra seco		12,1	17	
- Seco		17,1	32	
- Semiseco (semidulce)		32,1	50	
- Dulce		50,1	-	
Contenido de CO ₂ a 20 °C				
- Vino no gasificado	g/L	-	4,0	OIV-MA-AS314-01
- Vino espumoso	kPa	300,0	-	
- Vino gasificado	kPa		350,0	
* El volumen de 1 L corresponden al volumen real del vino.				
* 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.				

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

6. MUESTREO

El muestreo debe realizarse de acuerdo con NTE INEN 339.

7. ROTULADO

El rotulado debe realizarse de acuerdo con NTE INEN 1933.