

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA Y AGROINDUSTRIA

ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA DE JÍCAMA (*Smallanthus sonchifolius*) Y MANZANA (*Pyrus malus L*)

PROYECTO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE INGENIERO AGROINDUSTRIAL

DAVID ESTEBAN RECALDE RODAS
david_esteban20@hotmail.com

DIRECTORA: Ing. FLORINELLA MUÑOZ (PhD)
florinella.muñoz@epn.edu.ec

Quito, Octubre de 2010

© Escuela Politécnica Nacional 2010
Reservados todos los derechos de reproducción

DECLARACIÓN

Yo David Esteban Recalde Rodas, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente

David Esteban Recalde Rodas

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por David Esteban Recalde Rodas, bajo mi supervisión.

Dra. Florinella Muñoz B.
DIRECTORA DE PROYECTO

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	viii
INTRODUCCIÓN	ix
1 REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	1
1.1 La jícama <i>Smallanthus sonchifolius</i>	1
1.1.1 Origen	1
1.1.2 Características generales de la jícama	1
1.1.3 Descripción botánica	2
1.1.4 Composición y propiedades	3
1.1.4.1 Hojas	3
1.1.4.2 Raíces	4
1.1.5. Manejo Agronómico	5
1.1.5.1 Sistema de cultivo	5
1.1.5.2 Época de siembra	6
1.1.5.3 Propagación	6
1.1.5.4 Cosecha y poscosecha	6
1.1.5.5 Rendimiento	7
1.1.6. Zonas de cultivo en el Ecuador	7
1.1.6.1 Morfotipo morado	7
1.1.6.2 Morfotipo verde oscuro	8
1.1.6.3 Morfotipo verde claro	8
1.2. La manzana <i>Pyrus malus L.</i>	8
1.2.1 Origen	8
1.2.2 Características generales de la manzana	9
1.2.3 Descripción botánica	10
1.2.4 Composición y propiedades	10
1.2.5. Manejo Agronómico	13
1.2.5.1 Plantación	13
1.2.5.2 Propagación	13
1.2.5.3 Recolección y conservación	14
1.2.5.4 Rendimiento	15
1.1.6. Zonas de cultivo en el Ecuador	16
1.3. Proceso de elaboración de bebidas alcohólicas fermentadas tipo vino	17
1.3.1 Preparación de la pulpa	18
1.3.2 Inoculación de levaduras	18
1.3.3 Fermentación alcohólica	21
1.3.4 Separación y clarificación del mosto	23
1.3.5 Envasado	24

2.	PARTE EXPERIMENTAL	27
2.1	Materiales	27
2.2	Caracterización físico-química de las materias primas	27
2.2.1	Determinación de humedad	28
2.2.2	Determinación de densidad	28
2.2.3	Determinación de sólidos solubles	29
2.2.4	Determinación de pH	29
2.2.5	Determinación de azúcares reductores y totales	29
2.2.6	Determinación de acidez total	31
2.3	Determinación del porcentaje de mezcla de jícama y manzana	32
2.4	Determinación de la cinética de generación de alcohol	33
2.4.1	Sustrato	33
2.4.2	Inóculo	34
2.4.3	Proceso de fermentación alcohólica	34
2.4.4	Efecto de la concentración de inóculo y concentración de sustrato	35
2.4.5	Determinación de la cinética de generación de alcohol	37
2.4.5.1	Velocidad de crecimiento de levaduras	37
2.4.5.2	Tiempo de duplicación de levaduras	38
2.4.5.3	Tasa de rendimiento del producto	38
2.4.5.4	Velocidad de generación de alcohol etílico	39
2.4.5.5	Productividad de formación de etanol	39
2.5	Fermentación alcohólica del mosto conformado por jícama y manzana	40
2.6	Operaciones de preparación del producto final	41
2.6.1	Trasiego del producto final	42
2.6.2	Clarificación	42
2.6.3	Pasteurización y embotellamiento	43
2.7	Caracterización físico-química y microbiológica del producto final	43
2.8	Análisis sensorial de aceptabilidad del producto final	46
2.9	Análisis de prefactibilidad para la elaboración del producto final	47
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
3.1	Caracterización físico-química de las materias primas	48
3.2	Determinación del porcentaje de mezcla de jícama y manzana	50
3.3	Determinación de la cinética de generación de alcohol	52
3.3.1	Efecto de la concentración de inóculo y concentración de sustrato	52
3.3.1.1	Tiempo de fermentación	55
3.3.1.2	Grado alcohólico	57
3.3.1.3	Comparación del tiempo de fermentación y grado alcohólico	58
3.3.2	Determinación de la cinética de generación de alcohol	59
3.3.2.1	Velocidad de crecimiento de levaduras	62
3.3.2.2	Tiempo de duplicación de levaduras	64
3.3.2.3	Tasa de rendimiento del producto	66
3.3.2.4	Velocidad de generación de alcohol etílico	67
3.3.2.5	Productividad de generación de etanol	68
3.4	Fermentación alcohólica del mosto conformado por jícama y manzana	69
3.5	Operaciones de preparación del producto final	70
3.5.1	Trasiegos del producto final	70

3.5.2	Clarificación	72
3.5.3	Pasteurización y embotellamiento	72
3.6	Caracterización físico-química y microbiológica del producto final	73
3.7	Análisis sensorial de aceptabilidad del producto final	76
3.8	Análisis financiero de prefactibilidad del producto final	78
4.	CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	87
4.1	Conclusiones	87
4.2	Recomendaciones	88
	BIBLIOGRAFÍA	89
	ANEXOS	95

ÍNDICE DE TABLAS

		PÁGINA
Tabla 1.1.	Composición química de las hojas de jícama	3
Tabla 1.2.	Composición química de las raíces de jícama	4
Tabla 1.3.	Valor energético y composición nutricional de 100 g de manzana.	11
Tabla 1.4.	Rendimiento de manzana según distancias de plantación en árboles por hectárea	16
Tabla 1.5.	Cambios producidos en la fermentación del mosto de manzanas	23
Tabla 2.1.	Escala de 9 puntos utilizada en el análisis sensorial para indicar preferencias en los diferentes porcentajes de mezcla	33
Tabla 2.2.	Métodos para la determinación físico-química utilizados en el laboratorio de Alimentos de la Universidad Central y en el laboratorio LASA	45
Tabla 2.3.	Métodos para la determinación microbiológica utilizados en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Central y en el laboratorio LASA	45
Tabla 2.4.	Escala de 7 puntos utilizada en análisis sensorial para evaluar aceptabilidad del producto	46
Tabla 3.1.	Resultados de la caracterización físico-química del jugo de jícama (<i>Smallanthus sonchifolius</i>), y el jugo de manzana (<i>Pyrus malus L.</i>)	48
Tabla 3.2.	Resultados del análisis sensorial de las mezclas de jícama y manzana, en la evaluación con test hedónico a 30 panelistas.	50
Tabla 3.3.	Resultados de la caracterización físico-química de la mezcla “D” y la mezcla “E”	51
Tabla 3.4.	Resultados de temperatura, pH y azúcares reductores como parámetros de control en el proceso fermentativo	54
Tabla 3.5.	Tiempos totales de fermentación de las muestras D y E con tres diferentes concentraciones de inóculo	56
Tabla 3.6.	Grado alcohólico final de las muestras D y E, con las diferentes concentraciones de inóculo	57
Tabla 3.7.	Tiempo de fermentación y grado alcohólico final de las muestras “D” y “E”, con concentraciones de inóculo	

	de 0,5 g/L y 1,5 g/L	58
Tabla 3.8.	Velocidades máximas de crecimiento de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo	63
Tabla 3.9.	Tiempo de duplicación de levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo	65
Tabla 3.10.	Tasa de rendimiento de etanol en las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo	66
Tabla 3.11.	Velocidad de generación de alcohol etílico en las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo	67
Tabla 3.12.	Productividad de formación de etanol en las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo	68
Tabla 3.13.	Parámetros de control del proceso fermentativo del mosto conformado por jícama y manzana	70
Tabla 3.14.	Turbidez y rendimiento de la bebida alcohólica fermentada en el trasiego	71
Tabla 3.15.	Comparación de los parámetros de control en el proceso de reposo o envejecimiento de la bebida alcohólica fermentada conformada por jícama y manzana y los rangos deseables en una bebida alcohólica fermentada tipo vino	73
Tabla 3.16.	Caracterización físico-química de la bebida alcohólica fermentada conformada por jícama y manzana	74
Tabla 3.17.	Análisis microbiológico de la bebida alcohólica fermentada conformada por jícama y manzana	76
Tabla 3.18.	Resultados del análisis sensorial de aceptabilidad del producto final	77
Tabla 3.19.	Inversiones para la fabricación de una bebida de bajo grado alcohólico de 70% jícama y 30 % manzana	82
Tabla 3.20.	Costos de producción de una bebida de bajo grado alcohólico de 70 % jícama y 30 % manzana	84
Tabla 3.21.	Estado de perdidas y ganancias en el proceso fabricación de una bebida de bajo grado alcohólico de 70% jícama y 30% manzana	85
Tabla 3.22.	TIR Y VAN del proyecto de elaboración de una bebida de bajo grado alcohólico de 70 % jícama y 30 % manzana	85

ÍNDICE DE FIGURAS

		PÁGINA
Figura 1.1.	Foto de la jícama <i>Smallanthus sonchifolius</i> .	2
Figura 1.2.	Foto de la manzana <i>Pyrus malus L.</i>	9
Figura 1.3.	Esquema de la fermentación alcohólica	22
Figura 1.4.	Diagrama de flujo de operaciones para la elaboración de una bebida alcohólica fermentada	26
Figura 2.1.	Esquema de las operaciones de preparación de una bebida alcohólica fermentada de jícama y manzana	41
Figura 3.1.	Variación de °Brix del mosto en función del tiempo de fermentación la mezcla “D” (70 % jícama – 30 % manzana)	52
Figura 3.2.	Variación de °Brix del mosto en función del tiempo de fermentación de la mezcla “E” (60 % jícama – 40 % manzana)	53
Figura 3.3.	Curvas de crecimiento de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> para la mezcla “D” (70 % jícama – 30 % manzana)	60
Figura 3.4.	Curvas de crecimiento de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> para la mezcla “E” (60 % jícama – 40 % manzana)	61
Figura 3.5.	Linealización de la fase de crecimiento exponencial logarítmica de la mezcla “D”, con tres diferentes concentraciones de inóculo	62
Figura 3.6.	Linealización de la fase de crecimiento exponencial logarítmica de la mezcla “E”, con tres diferentes concentraciones de inóculo	63
Figura 3.7.	Comparación de las velocidades máximas de crecimiento para las mezclas “D” y “E” para tres diferentes concentraciones de inóculo	64
Figura 3.8.	Aceptabilidad de la bebida alcohólica fermentada de jícama y manzana	78
Figura 3.9.	Proceso de elaboración de una bebida de baja graduación alcohólica de jícama y manzana	81

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I Análisis sensorial	96
ANEXO II Método de Fehling para la determinación de azúcares reductores	102
ANEXO III Determinación de azúcares reductores en vinos	105
ANEXO IV Método oficial para la determinación de grado alcohólico volumétrico en vinos	107
ANEXO V Ciclo de crecimiento microbiano	110
ANEXO VI Hoja de evaluación para el test de aceptabilidad del producto final	114
ANEXO VII Resultados de análisis sensorial y estadístico para identificar la mezcla de jícama y manzana	115
ANEXO VIII Resultados de análisis estadístico para los tiempos de fermentación y grado alcohólico	117
ANEXO IX Ejemplos de cálculo de los parámetros cinéticos	123
ANEXO X Resultado del análisis físico- químico y microbiológico del producto final	128
ANEXO XI Resultados del análisis sensorial de aceptabilidad del producto final	133
ANEXO XII Parámetros analizados en el estudio de prefactibilidad en la elaboración del producto	134

RESUMEN

El objetivo del presente trabajo fue elaborar una bebida alcohólica fermentada conformada por jícama y manzana. Para esto se utilizaron tres concentraciones diferentes de levadura *Saccharomyces cerevisiae*: 0,5 g/L, 1,5 g/L y 2,5 g/L como inóculo, en dos porcentajes de mezcla: 70 % jícama – 30% manzana y 60% jícama – 40% manzana. Se concluyó que el tratamiento que genera una mayor graduación alcohólica en función del tiempo de fermentación, fue el correspondiente al porcentaje de mezcla conformado por 70 % jícama y 30% manzana, con una concentración de inóculo de 1,5 g/L, pues con base en este tratamiento se consiguió una bebida de 6,27°G.L., en 192 horas de fermentación.

Los estudios cinéticos del proceso permitieron realizar el análisis del consumo de sustrato por medición de Brix, en relación al tiempo de fermentación para los diferentes tratamientos y, además, identificar la tasa de rendimiento de etanol y la productividad de formación de etanol. La mezcla conformada por 70 % de jícama y 30 % de manzana, y una concentración de inóculo de 1,5 g/L de *Saccharomyces cerevisiae*, fue la que mejores resultados obtuvo, al generar 0,23 g de etanol por L/h.

Como operaciones de preparación se realizaron trasiegos, clarificación y pasteurización, para mejorar las características organolépticas del producto final. Además se realizaron los respectivos análisis físico-químicos y microbiológicos para determinar la inocuidad y calidad de la bebida fermentada de baja graduación alcohólica. Se determinó la aceptabilidad del producto mediante el análisis sensorial y se concluyó que la bebida obtenida bajo estas consideraciones tuvo una muy buena aceptación por parte de los consumidores y, además, cumplió los parámetros establecidos para la producción de una bebida alcohólica.

INTRODUCCIÓN

Las raíces y los tubérculos han sido relativamente poco considerados desde el punto de vista de la alimentación, y desde el punto de vista agroindustrial. La jícama es muy rica en fécula azucarada de buena calidad que se extrae con facilidad como la de la yuca. A pesar de tener una cáscara gruesa y áspera, se pela fácilmente y deja expuesto un fruto carnoso, blanco, succulento, con sabor muy parecido a la manzana. Las raíces de jícama tienen un alto contenido de azúcares simples: glucosa, fructosa, sacarosa, razón por la cual pueden ser sometidas a un proceso de fermentación, que permitirá ofrecer al mercado una bebida con baja graduación alcohólica, con características organolépticas muy aceptables, con una vida de anaquel de más de dos años y un valor agregado mayor que la venta del tubérculo en fresco. (Salgado, 2006).

El sector industrial se debe renovar con productos de alto valor comercial, en este caso la creación de una bebida alcohólica fermentada con la proporción adecuada de mezcla de jícama y manzana, que brinde a los consumidores un producto natural de excelente sabor y aroma. Además, mediante la generación de una bebida natural, se reduce los perjuicios causados por el consumo de bebidas artificiales, y se ofrece al mercado una bebida con una vida de anaquel de más de dos años y un valor agregado mayor que la venta del tubérculo en fresco. (Torres, 2005).

El consumo de una bebida natural de bajo grado alcohólico, se convierte en una opción de mejor calidad, para remplazar, en parte, el consumo de bebidas alcohólicas de origen sintético que hay en el país.

GLOSARIO

Aceite de fusel: es una mezcla de ácidos orgánicos, alcoholes superiores (propilo, butilo y amilo), aldehídos y ésteres; que se producen en la fermentación alcohólica. Es incoloro, de olor y sabor desagradable.

Ácido caféico: es un compuesto orgánico natural, cristalino de color amarillo, que se funde a 225 °C; es soluble en agua y en alcohol. Su fórmula molecular es $C_9H_8O_4$.

Ácido gálico: es un compuesto cristalino e incoloro, derivado de los taninos en el proceso fermentativo, y se usa como agente de curtido, también en la industria fotográfica y de papel. Su fórmula molecular es $C_7H_6O_5$.

Anaerobio facultativo: se denominan anaerobios, a aquellos organismos que no necesitan oxígeno (O_2) para desarrollarse; los organismos anaerobios facultativos, pueden usar el oxígeno, si está presente, caso contrario, trabajan sin su presencia.

Ascomicetos: grupo de hongos en el que se incluyen más de 10 000 especies. Están formados por un micelio amplio y ramificado, de membrana quitinosa. Dentro de este grupo se encuentra el orden de levadura *Saccharomyces*, de gran importancia en la fermentación alcohólica.

Bioreactor: los biorreactores son recipientes, en los cuales se llevan a cabo reacciones bioquímicas, las mismas que se aprovechan para la transformación y producción de sustancias químicas o biológicas.

Cepa: se denomina cepa, al conjunto de virus, bacterias u hongos que tienen el mismo patrimonio genético.

Dormancia: es la reducción de actividad y descenso del metabolismo en las plantas, y corresponde a un estado de inactividad de las mismas, debido a bajas temperaturas climáticas. En este período hay ausencia de crecimiento y floración.

Fenoles: son alcoholes, debido a que el grupo funcional de los alcoholes es R-OH, y en el caso de los fenoles es Ph-OH. Los principales usos de los fenoles son como antisépticos, en la síntesis de colorantes y en la obtención de resinas. Su fórmula química es C_6H_5OH .

Flavonoide: son compuestos fenólicos, que aumentan conforme envejece el vino blanco. Son compuestos que poseen varios grupos hidroxilo (OH), unidos a su estructura de anillo. Su estructura es de tipo $C_6 - C_3 - C_6$.

Floculación: se denomina floculación, al proceso por el cual, una sustancia dispersa coloidalmente, se separa del líquido que la contiene en forma de partículas pequeñas y no como una masa continua.

Fosfolípidos: son lípidos que contienen fosfato y son los principales constituyentes lipídicos de la membrana plasmática. Están conformados por una cabeza hidrófila y una cola hidrófoba. Entre sus principales constituyentes están: las grasas, los ácidos grasos esenciales, el ácido fosfórico y las vitaminas del grupo B.

Inóculo: es la suspensión de microorganismos, que se transfieren a un ser vivo o a un medio de cultivo.

Mosto: es el zumo que se obtiene de las frutas sin fermentar.

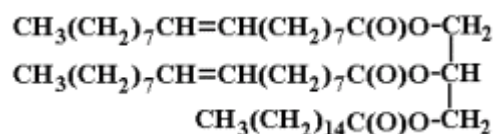
Organolépticas: son las propiedades que pueden ser percibidas por los órganos de los sentidos.

Perenne: en botánica, se denomina perenne, a las plantas que poseen un ciclo de vida de más de dos años.

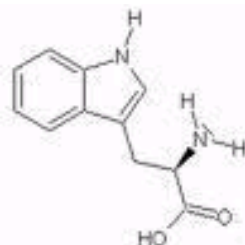
Polifenoles: son un conjunto heterogéneo de moléculas, que tienen la característica estructural de poseer varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas. Los polifenoles son importantes en la fisiología de las plantas, pues contribuyen a la resistencia de microorganismos e insectos.

Rosácea: es una familia que presenta alrededor de 3 000 especies. En esta especie están incluidas la mayor parte de especies de frutas. Esta familia se encuentra distribuida en todo el mundo. La característica más común de esta familia, es la presencia de un receptáculo floral o tálamo, muy desarrollado.

Triglicéridos: son los principales constituyentes de los aceites vegetales y las grasas animales. Son ésteres constituidos por una molécula de glicerol, en la que los tres grupos hidroxilo, se encuentran eterificados por ácidos grasos. Cuando son sólidos se llaman grasas, y cuando son líquidos se denominan aceites. Su estructura es la siguiente:



Triptófano: es un aminoácido esencial, es decir, que el cuerpo no lo puede producir por si mismo. El triptófano en el cuerpo humano, ayuda a producir la niacina y la serotonina, que producen un efecto tranquilizante en el organismo. La fórmula molecular del triptófano es $\text{C}_{11}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$, y su estructura molecular es la siguiente:



1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 LA JÍCAMA *Smallanthus sonchifolius*

1.1.1 ORIGEN

El centro de origen de la jícama no ha sido determinado con exactitud, pero debido a las evidencias arqueológicas encontradas en Colombia, Perú, Ecuador, Bolivia y Argentina, que demuestran el uso de esta planta en diversas culturas de dichos países, se conoce que esta planta es originaria de la región andina y fue consumida desde la época preincaica. Además en la actualidad se encuentra en algunos países como Brasil, Japón, Corea, República Checa, China y Estados Unidos. (Seminario *et al.*, 2003; Mansilla *et al.*, 2006).

La jícama recibe varios nombres de acuerdo al país de origen, así en Colombia y Venezuela se la conoce como jíquima y jiquimilla, en Perú y Bolivia como yacón y en Ecuador con el nombre de jícama. (Seminario *et al.*, 2003; Villacrés, 2002).

1.1.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA JÍCAMA

La jícama es un tubérculo, como se muestra en la figura 1.1, cuyo nombre científico es *Smallanthus sonchifolius*. ha sido conocida y consumida desde la antigüedad; aún así no ha llegado a tener la trascendencia de otros cultivos andinos como la papa, la oca y el camote; sin embargo, en la actualidad, el cultivo de jícama ha alcanzado un mayor impacto en los pequeños y medianos agriculturas, e incluso se desarrolla, en diversos países como Perú, Venezuela y Bolivia actividades, comerciales en torno a su cultivo y procesamiento. (Manrique *et al.*, 2003; Córdova y Galecio, 2006).



Figura 1.1. Foto de la jícama *Smallanthus sonchifolius*.

El género *Smallanthus* presenta en total 21 especies, que se encuentran distribuidas desde el sur de México hasta el noroeste Argentino. (Córdova y Galecio, 2006).

1.1.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La jícama (*Smallanthus sonchifolius*) pertenece a la familia de las compuestas y la clase de las dicotiledóneas. (Barrera *et al.*, 2003).

La planta es herbácea perenne y puede alcanzar de 1,5 a 2,5 m de altura. Los tallos son cilíndricos, pilosos y vigorosos, con varias ramas y huecos en la madurez. Las hojas, por su posición, son opuestas, y tienen forma triangular de base trunca o cordada, hasta la floración se producen de 13 a 16 pares de hojas, una vez que se ha producido la floración solo se producen hojas pequeñas. (Seminario *et al.*, 2003).

El sistema radicular esta compuesto de dos tipos de raíces: fibrosas y reservantes. Las raíces fibrosas son delgadas y sus funciones son la fijación de la planta al suelo y la absorción de agua y nutrientes. Las raíces reservantes son gruesas, de forma oval o fusiformes, tienen una fina cáscara adherida a la pulpa. Esta presenta colores blancos, cremas y anaranjados. El tejido interno de las raíces es muy blando, debido a que almacena una gran cantidad de agua. La planta de jícama produce entre 5 y 25 raíces, que pueden alcanzar 25 cm de

altura y 10 cm de diámetro, con un peso que varía de 50 a 1000 g cada una, y un rendimiento que fluctúa de 28 a 100 toneladas por hectárea. (Seminario *et al.*, 2003; Córdova y Galecio, 2006).

1.1.4 COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES

Las partes utilizables de la planta de jícama, para consumo humano, son las hojas y en especial las raíces, las mismas que se describen a continuación.

1.1.4.1 Hojas

Las hojas de la jícama pertenecen a la categoría de alimentos de consumo frecuente, pueden ser utilizadas como verduras y para la preparación de infusiones medicinales. La composición química de las hojas de jícama, se presenta en la tabla 1.1. (Villacrés *et al.*, 2007).

Tabla 1.1. Composición química de las hojas de jícama.

Parámetro	Porcentaje en base seca
Carbohidratos	45,00 – 57,00
Proteínas	21,00 – 36,00
Lípidos	7,48
Minerales	18,36
Fibra	12,32

Fuente: Villacrés *et al.*, 2007.

Las hojas presentan una alta cantidad de polifenoles, alrededor de 250 mg/100g de materia fresca. Los polifenoles son compuestos químicos con actividad antioxidante, es decir inhiben la actividad oxidante de las moléculas inestables que ingresan al organismo por diferentes medios de contaminación externo. Estas moléculas inestables son radicales libres causantes de deterioro y daño en la membrana celular; pueden llegar a destruir y mutar la información genética de las células, por lo que se produce graves enfermedades como el cáncer y algunas enfermedades degenerativas (Villacrés *et al.*, 2007; Manrique *et al.*, 2003).

1.1.4.2 Raíces

Las raíces de la jícama son comestibles en estado fresco o procesadas industrialmente. En estado fresco, la jícama, generalmente, se comercializa como una fruta por su sabor agradable y dulce, mientras que industrialmente se pretende incursionar en la fabricación de jugos dietéticos, chips secos, encurtidos de jícama y jarabe con alto contenido de fructooligosacáridos. (UNALM, 2007; Fairlie *et al.*, 2002).

Entre el 85 y el 90 % en peso fresco de las raíces, se encuentra en forma de agua. A diferencia de la mayoría de tubérculos comestibles, los mismos que presentan un alto contenido de almidón, la jícama almacena sus carbohidratos en forma de fructooligosacáridos (FOS) y azúcares comunes (fructosa, glucosa y sacarosa), y no en forma de almidón. La composición química de la raíz de la jícama, se presenta en la tabla 1.2 (Villacrés *et al.*, 2007; Manrique *et al.*, 2003).

Tabla 1.2. Composición química de las raíces de jícama.

Parámetro	Porcentaje en base seca
FOS	40,00 – 70,00
Sacarosa	5,00 – 15,00
Fructosa	5,00 – 15,00
Glucosa	3,00 – 5,00
Proteínas	2,42 – 4,30
Lípidos	0,14 – 0,43
Minerales	2,50 – 3,73
Fibra	1,53 – 2,64

Fuente: Villacrés *et al.*, 2007.

Al igual que las hojas, las raíces de jícama presentan una alta cantidad de polifenoles, alrededor de 200 mg/100 g de materia fresca comestible. Entre los polifenoles presentes, los más abundantes son: el ácido clorogénico y fenoles solubles derivados del ácido caféico. (Manrique *et al.*, 2003).

Otros compuestos químicos importantes, con actividad antioxidante presentes en las raíces son: el triptófano, la quercetina, el ácido ferúlico y el ácido gálico. (Manrique *et al.*, 2003).

Los fructooligosacáridos son azúcares de reserva, cuya principal característica estructural es poseer una molécula de glucosa ligada a un número variable entre 2 a 10 moléculas de fructosa. Los enlaces que mantienen unidas a las moléculas de fructosa resisten la hidrólisis de las enzimas digestivas humanas, por esta razón los FOS alcanzan el colon sin sufrir ninguna modificación química, y tienen una muy baja contribución calórica en el organismo. Además en el colon, los FOS nutren selectivamente a un grupo de bacterias benéficas que forman parte de la microflora intestinal, contribuyen a mejorar la función gastrointestinal, favorecen el metabolismo sistémico de los lípidos, y ayudan a disminuir el nivel de colesterol, fosfolípidos y triglicéridos en el suero sanguíneo. (Villacrés *et al.*, 2007; Manrique *et al.*, 2003).

Durante el almacenamiento poscosecha y la exposición de las raíces de jícama al sol, se generan procesos bioenzimáticos de transformación de los fructooligosacáridos en azúcares simples o comunes (fructosa, glucosa y sacarosa), por acción de la enzima fructano-hidrolasa, que determina una disminución de hasta 39%. (Villacrés *et al.*, 2007; Manrique *et al.*, 2003).

1.1.5 MANEJO AGRONÓMICO

1.1.5.1 Sistema de cultivo

La jícama se cultiva en tres sistemas: el monocultivo, el cultivo asociado y el cultivo en huertos; entre las principales asociaciones están el fréjol arbustivo y semiarbustivo, el maíz, y el tomate. En el Ecuador, su cultivo no ha sido extendido y, generalmente, se siembra alrededor de los cultivos de papa. (UNALM, 2007; Seminario *et al.*, 2003).

1.1.5.2 Época de siembra

Debido a las características climáticas de la región interandina, la jícama se puede sembrar en cualquier época del año, pero se debe garantizar la humedad del suelo por riego, o coincidir la época de siembra con los meses de lluvia. (UNALM, 2007; Fairlie *et al.*, 2002).

1.1.5.3 Propagación

La jícama forma un rizoma carnoso y ramificado denominado cepa, en cuya superficie se desarrollan varias yemas; una vez que la cepa se encuentre madura alcanza un tamaño considerable y se procede a dividirla en 10 o 20 partes o propágulos, los mismos que se usan como semilla. Cada propágulo contiene de tres a cinco yemas que originarán brotes y estos, a su vez, los tallos principales de la planta.

Un adecuado distanciamiento entre plantas es de 0,5 a 0,6 m; y entre surcos de 1,0 a 1,2 m, con lo que se consigue una producción de alrededor de 12 000 plantas por hectárea. (UNALM, 2007; Manrique *et al.*, 2003).

1.1.5.4 Cosecha y Poscosecha

La cosecha de la jícama se realiza entre el sexto y noveno mes después de la siembra, pues depende de la localidad y el suelo, de forma manual, las raíces reservantes son separadas o arrancadas de la cepa; en esta operación se pueden producir laceraciones o heridas en el cuello de la raíz, por lo que es recomendable utilizar la herramienta adecuada y tener los cuidados necesarios para evitar una contaminación microbiológica. Si se planifica la utilización de las hojas para infusiones, se ensayan otras alternativas de cosecha. En este caso se extraen las hojas una vez que han madurado, lo cual se identifica con el cambio de coloración de verde a un marrón claro, y posteriormente se extrae la raíz. (Manrique *et al.*, 2003; Maldonado *et al.*, 2008).

Para el aprovechamiento de los FOS, reducir la tasa de deterioro y la pérdida de humedad y evitar la pudrición de la raíz, el almacenamiento poscosecha de la jícama se debe realizar a temperaturas de refrigeración y una humedad relativa entre el 60 y 70 %. (Villacrés *et al.*, 2007; Manrique *et al.*, 2003).

1.1.5.5 Rendimiento

Un adecuado manejo agronómico, el uso apropiado de fertilizantes y semillas de buena calidad, inciden en un alto rendimiento de jícama por hectárea, que puede variar entre 28 y 100 toneladas. (Manrique *et al.*, 2003).

1.1.6 ZONAS DE CULTIVO EN ECUADOR

En el Ecuador las principales zonas de cultivo están en las provincias de Carchi, Pichincha, Cotopaxi, Tungurahua, Bolívar, Chimborazo, Cañar y con mayor variabilidad en el sur del país en las Provincias de Azuay y Loja, debido principalmente a su cercanía con la región de Cajamarca en Perú, que es considerada como la mayor productora de jícama a nivel de Sudamérica, y donde el cultivo de la jícama está ampliamente extendido (Villacrés *et al.*, 2007; Barrera *et al.*, 2003).

Se han identificado 3 morfotipos de jícama bien diferenciados en Ecuador, en los cuales la variabilidad de color de los tallos y de las hojas, son los caracteres más relevantes para la separación de los distintos grupos, así, se tienen los siguientes grupos o morfotipos con sus características:

1.1.6.1 Morfotipo morado

La planta es alta, con entrenudos largos y tallos púrpuras, con ramificaciones abundantes, hojas largas y flores de coloración amarilla, anaranjada o una mezcla de ambas, sus raíces presentan una pulpa de color amarillo y, a su vez, presenta el mayor porcentaje de materia seca y de carbohidratos. Este grupo posee el

rendimiento más alto, entre 1,3 y 1,5 kg por cada planta y, además es cultivado en todas las provincias donde se reporta esta especie.

1.1.6.2 Morfotipo verde oscuro

La planta es pequeña, con pocas ramificaciones, pero abundante floración, presenta tallos delgados y hojas pequeñas, es el grupo más precoz en florecer, por la coloración de la pulpa de la raíz se divide en dos subgrupos, el primero presenta una pulpa de color blanco y, el segundo muestra una pulpa color amarillo. Este morfotipo es cultivado en la provincia de Bolívar, principalmente.

1.1.6.3 Morfotipo verde claro

La planta es mediana, con tallos gruesos y de color verde claro, posee hojas anchas, es el más tardío de todos los morfotipos en florecer y sus flores son de color amarillo, sus raíces son de color blanco, voluminosas, y tienen el menor porcentaje de materia seca y carbohidratos. Este grupo se cultiva principalmente en Loja y Azuay (Barrera *et al.*, 2003).

1.2 LA MANZANA *Pyrus malus L.*

1.2.1 ORIGEN

El origen de la manzana (*Pyrus malus L.*), o el manzano como se conoce al fruto, es desconocido, sin embargo se presume que proviene del cruzamiento de varias especies de manzanos silvestres europeos y asiáticos. La teoría de mayor aceptación acerca del origen de este fruto es la que indica que proviene de la especie silvestre *Malus sieversii* (Ledeb.) Roem, que crece de forma salvaje o natural en la región montañosa de Asia media, y fue domesticada por los aborígenes hace 15 000 ó 20 000 años, y se dio así origen a los primeros cultivares de manzana (INFOAGRO, 2003).

En el siglo XVI, el cultivo de manzana fue extendido a los países de Ibero América, posteriormente hacia América del Norte, y de este continente, a su vez, hacia África y Australia. (Eroski, 2004).

1.2.2 CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LA MANZANA

La manzana que se muestra en la figura 1.2, es la fruta de mayor consumo en el mundo, y la más cultivada, se adapta muy bien a gran variedad de climas y suelos y, además, es uno de los frutos más completos, tanto por sus valores alimentarios, como por sus formas, sabores y colores. En la actualidad su cultivo está extendido en la mayor parte de países del mundo, particularmente en los países de Europa (Sánchez, 2004; INFOAGRO, 2003).

Los mayores productores de manzana a nivel mundial son China, Estados Unidos, Alemania, Italia, Polonia, Francia, India y Chile, y además este último es el mayor proveedor de Sudamérica. (INFOAGRO, 2003; Eroski, 2004).



Figura 1.2. Foto de la manzana *Pyrus malus L.*

En la actualidad, se comercializan alrededor de 40 variedades de manzana en todo el mundo, sin embargo, existen más de 5 000 variedades, pues han acompañado al hombre desde la antigüedad. (Sánchez, 2004).

1.2.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

La manzana *Pyrus malus L.*, pertenece a la familia rosácea; esta familia incluye más de 2 000 especies de plantas arbustivas y herbáceas, distribuidas generalmente en las regiones templadas alrededor del mundo (Sánchez, 2004; INFOAGRO, 2003).

La planta de manzana alcanza hasta los 10,0 m de altura, aunque, normalmente, oscila entre 2,0 y 2,5 m de altura; posee un tallo o tronco grueso, de color verde oscuro, en el cual se insertan las ramas. Las hojas son de forma oval, aserradas y blandas, de color verde claro; las flores son grandes, pedunculadas y hermafroditas (INFOAGRO, 2003).

Los frutos, generalmente, son ovoides, la pulpa puede ser dura o blanda, esto depende de la variedad y madurez del fruto, con un sabor agradable y dulce por su contenido de azúcares comunes (fructosa y glucosa) y presenta numerosas semillas de color pardo. Las manzanas para su comercialización deben alcanzar un calibre entre 75 y 85 mm o superiores. (Sánchez, 2004).

1.2.4 COMPOSICIÓN Y PROPIEDADES

La manzana presenta varias características nutricionales importantes, especialmente en la cáscara o piel, por lo que se recomienda consumir esta fruta sin pelar; el valor energético y la composición nutricional de 100 g de manzana se indica en la tabla 1.3 (Sánchez, 2004).

La manzana es consumida principalmente en estado fresco, sin embargo, con base en esta fruta se elaboran varios productos tales como: compotas, mermeladas, pasteles; de la fermentación de su jugo se obtiene la sidra. También se puede utilizar la manzana para la mejora de las características y el sabor de otros alimentos. (Sánchez, 2004; PROCIANDINO, 1997).

Tabla 1.3. Valor energético y composición nutricional de 100 g de manzana.

	Parámetro	Valor	Unidad
Valor energético	Julios	217	kJ
	Calorías	52	kcal
Composición Nutricional	Proteínas	0,30	g
	Grasas	0,30	g
	Carbohidratos	12,10	g
	Fibra	1,70	g
	Vitamina A	10,00	mg
	Vitamina C	12,00	mg
	Vitamina B3	0,10	mg
	Calcio (Ca)	8,00	mg
	Sodio (Na)	2,00	mg
	Potasio (K)	140,00	mg
	Magnesio (Mg)	3,00	mg
	Fósforo (P)	10,00	mg
	Hierro (Fe)	0,30	mg
	Vitamina B1	30,00	ug
Vitamina B2	27,00	ug	

Fuente: Sánchez 2004; Eroski 2004.

Dentro de los principales componentes presentes en la manzana están los azúcares comunes, en su mayor parte fructosa, que al ser consumidos constituyen un elemento energético para el organismo. También se encuentran diversos ácidos, entre los principales: el ácido tartárico, el ácido cítrico y el ácido málico, los mismos que estimulan las funciones digestivas, y favorecen así al apetito. Además, a la manzana se le atribuyen propiedades dietéticas, pues en su composición están presentes flavonoides y quercitina, que actúan como antioxidantes. (Torres, 1988; Eroski, 2004).

La manzana es reconocida por ser una fuente de fibra, que mejora el tránsito intestinal. También es rica en pectina, fibra soluble, que retiene agua; tanto la

pectina como la fibra están presentes en la cáscara y pulpa de la manzana, por lo cual, no es recomendable pelarla para su mayor aprovechamiento.

Esta fruta presenta un alto contenido de potasio, indispensable en la transmisión de impulsos nerviosos, que favorece el tratamiento de enfermedades cardiovasculares. (Eroski, 2004).

Las principales variedades de manzana cultivadas en el mundo son:

- Fuji: el fruto tiene forma redondeada, tamaño mediano, color rosa, su pulpa es crujiente y de excelente sabor dulce. Es aromática y jugosa.

- Gloster: presenta un fruto mediano, de forma irregular, color rojo y, con frecuencia, presenta una parte verde; su pulpa es crujiente, de sabor dulce y aromática.

- Golden: es la variedad más popular, su fruto es grande y de color amarillo, su pulpa es dulce y aromática, es una de las variedades más productivas.

- Golden Supreme: presenta un fruto de tamaño y forma irregular, de coloración verde, la pulpa es crujiente, ligeramente ácida y muy aromática.

- Granny Smith: esta variedad presenta uniformidad en el color verde brillante del fruto, de gran tamaño y forma esférica, además, su pulpa es muy ácida y jugosa.

- Red Chief: tiene un fruto de gran tamaño de color rojo intenso, la mayor particularidad de esta variedad, es su forma alargada; su pulpa es dulce y poco aromática.

- Reineta: presenta un fruto de gran tamaño, achatado en su base, su color varía entre verde, marrón y amarillo, presenta un sabor dulce y ácido a la vez.

- Royal Gala: el tamaño de su fruto es mediano, de color rojo, su pulpa es crujiente, dulce y jugosa.

- Verde Doncella: esta variedad presenta un fruto mediano de forma aplanada, y color amarillo – blanquecino. Su sabor es muy dulce, jugoso y su textura harinosa. (Sánchez, 2004; INFOAGRO, 2003).

1.2.5 MANEJO AGRONÓMICO

1.2.5.1 Plantación

Debido a que el árbol de manzana permanece plantado por varios años, es importante preparar el suelo antes de la plantación, para esto se debe aflojar el suelo mediante arado, se recomienda que se realice esta operación hasta unos 60 cm de profundidad; es preferible escoger suelos sueltos y profundos, de textura liviana, con tendencia a franco arenoso, para los cultivos de manzana.

Existen diversas opciones para los sistemas de plantación de manzana, sin embargo, principalmente, se utiliza el sistema cuadrado, rectangular o el tres bolillo, que mantiene un espacio entre plantas de 2,0 a 3,0 m y 4,0 a 4,5 m entre hileras. Un adecuado espaciamiento reduce el sombreado excesivo entre la plantación, y evita así efectos negativos en cuanto a productividad y calidad del cultivo (Viteri, 1995; INFOAGRO, 2003).

La plantación se puede realizar en cualquier época, pero se debe garantizar la humedad del suelo y, además, se recomienda no plantar en época de vientos, para evitar la deformación, inclinación o destrucción de los árboles. Los sistemas de riego para este cultivo son muy variados, sin embargo el más utilizado es la inundación aunque también es recomendable el riego por goteo o microaspersión, en cuyo caso, se complementa con fertirrigación. (Viteri, 1995).

1.2.5.2 Propagación

Para la multiplicación del manzano existen tres métodos: por semilla, por injerto y por estaca, sin embargo el método más utilizado para variedades comerciales es

la injertación sobre el patrón seleccionado. Los tipos de injerto más utilizados en el manzano son el de yema y el de púa.

El injerto de yema se realiza cuando la planta está en crecimiento, a una altura de 20 a 25 cm; y el injerto de púa, se realiza en el período de dormancia de las plantas; se denomina púa a un pedazo de brote con 3 yemas útiles, el mismo que es colocado como lateral o vertical en la planta (Viteri, 1995).

1.2.5.3 Recolección y conservación

La recolección de la manzana se realiza de forma manual o mecánica en cultivos extensivos, se evita principalmente cualquier golpe o laceración, que impida la libre comercialización de la fruta.

Las pérdidas por un mal manejo poscosecha en manzanas fluctúan entre el 5 y el 50 %; la principal causa es el daño mecánico, pues los golpes aceleran la pérdida de agua y la actividad metabólica, y originan la degradación del producto. Para reducir estos porcentajes y, debido a que el consumo de manzana está principalmente orientado al consumo en fresco, es necesario el empleo de sistemas de conservación para prolongar la vida útil del producto y reducir las pérdidas poscosecha. Estos sistemas de almacenamiento o conservación pueden ser cámaras frigoríficas o atmósferas controladas (Torres, 1988; Sastré, 1999).

Además, es importante tomar en cuenta que la manzana es una fruta climatérica, es decir continúa con la respiración y sus procesos metabólicos después de haber sido recolectada; y consume así las reservas de energías presentes, razón por la cual el almacenamiento de esta fruta debe ser controlado, para prolongar su vida útil (Sánchez, 2004).

El almacenamiento en cámaras frigoríficas o refrigeradas es el sistema más utilizado para la conservación de las manzanas, las condiciones de almacenamiento bajo este sistema son:

- Temperatura: -1 a - 3 °C.
- Humedad relativa: 88 % – 93 %
- Tiempo de vida en almacenamiento: 8 – 9 meses.

Al utilizar cámaras frigoríficas, se reduce la velocidad de respiración de los frutos y se impide la deshidratación, la misma que es controlada mediante una alta humedad relativa.

El tiempo de vida de almacenamiento, bajo estas condiciones, depende de varios factores, como son la variedad, la madurez del fruto, la manipulación durante la recolección y el transporte.

Para garantizar el tiempo de almacenamiento y la calidad de la fruta, es necesario realizar la recolección únicamente de manzanas sanas y maduras, además, evitar la manipulación excesiva y golpes o laceraciones que incidirán en la conservación (Sánchez, 2004; Torres, 1988).

Además del almacenamiento en cámaras de refrigeración, también se utiliza el almacenamiento en atmósferas controladas, para disminuir las funciones metabólicas de la maduración; en este sistema se manipula la composición del aire, y se adapta los porcentajes de CO₂ a las necesidades de conservación. Para un adecuado almacenamiento y, al depender de la variedad de manzana, se considera que no se deben superar los límites de 2%, mínimo para O₂, y de 10%, máximo para CO₂. El sistema de atmósferas controladas presenta ciertas ventajas sobre el almacenamiento en cámaras frigoríficas, tales como: se eliminan los fenómenos de sobre-maduración, la calidad del fruto se mantiene por un tiempo más prolongado, la deshidratación de los frutos es menor y los riesgos de daño por frío desaparecen. (Torres, 1988).

1.2.5.4 Rendimiento

El número de árboles de manzana varía ampliamente al depender del sistema de plantación utilizado y el distanciamiento entre árboles e hileras; como se indica en

la tabla 1.4 (Viteri, 1995).

Tabla 1.4. Rendimiento de manzana según distancias de plantación en árboles por hectárea.

Espaciamiento entre hileras (m)	Espaciamiento entre árboles (m)						
	2,0	2,5	3,0	3,5	4,0	4,5	5,0
2,0	2 500	2 000	1 677	1 428	1 250	1 111	1 000
2,5	2 000	1 600	1 333	1 143	1 000	889	800
3,0	1 667	1 333	1 111	952	833	741	667
3,5	1 428	1 143	952	816	714	635	571
4,0	1 250	1 000	833	714	625	556	500
4,5	1 111	889	741	635	556	494	444

Fuente: Viteri 1995

Además, el rendimiento de manzanas por cada árbol varía, al depender del comportamiento y vigor de la variedad, la influencia que ejerza el patrón sobre la variedad injertada y las condiciones generales del cultivo. (PROCIANDINO, 1997).

1.2.6 ZONAS DE CULTIVO EN ECUADOR

Las principales zonas de cultivo de manzana en el Ecuador se encuentran en las regiones templadas altas de la sierra ecuatoriana (2 500 msnm), donde existen principalmente variedades de mediano y alto requerimiento de frío. En estas zonas, comercialmente, se manejan cerca de 450 ha, en sistemas de producción forzada, con rendimientos que varían de 10 a 25 toneladas por hectárea (Viteri, 1995; Acuña y Soria, 1981).

Las principales áreas productoras están en las provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha, Tungurahua, Azuay y Loja.

En los valles donde se cultiva la manzana, la temperatura fluctúa entre los 16 y 18 °C, con máximas y mínimas medias de 24 y 12 °C, respectivamente; las precipitaciones registradas, varían entre los 400 y 1 000 mm anuales, y la humedad relativa ambiental registrada oscila entre 50% y 85%. Estas condiciones permiten que las plantas puedan mantenerse en continua actividad en el sistema de producción forzada. (Acuna y Soria, 1981; Camacho 1980).

En la actualidad, en el Ecuador existen alrededor de 500 ha de manzana cultivadas, de las cuales el 70 – 80 % corresponden a la variedad Emilia. Existen varias limitaciones para el cultivo de esta fruta en el país, y el principal problema es la falta de frío, en la mayor parte de regiones, que provoca escasez de floración, falta de brotación en todas las yemas y, en consecuencia bajos rendimientos. (Viteri, 1995; Camacho, 1980).

1.3 PROCESO DE ELABORACIÓN DE BEBIDAS ALCOHÓLICAS FERMENTADAS TIPO VINO

Bebidas alcohólicas son todas aquellas que en su composición presentan más de 0,5 % de alcohol. La fabricación de bebidas fermentadas fue descubierta por el hombre primitivo y se practica desde hace miles de años. (Mendiola, 1997).

El vino constituye una de las bebidas alcohólicas más difundidas en el mundo y se relaciona directamente con las uvas, por lo que la fabricación de estas bebidas, se produce en los lugares del mundo, en los que esta fruta puede cultivarse de una forma más económica; sin embargo se puede elaborar una bebida alcohólica tipo vino, al reemplazar las uvas por cualquier fruta con elevada cantidad de azúcares comunes en su composición.

El proceso de elaboración de bebidas alcohólicas consta de cinco etapas generales que se describen a continuación: (Covas, 2004; Mora, 2000).

1.3.1 PREPARACIÓN DE LA PULPA

Para la elaboración de bebidas alcohólicas, inicialmente, es necesario seleccionar la fruta a utilizarse en el proceso; las frutas deben ser de buena calidad y se deben controlar parámetros como: sólidos solubles, pH, sabor y peso. De esta manera se procede a la etapa de recolección y lavado de las frutas. (Covas, 2004).

Para la extracción del jugo de las frutas se realiza el triturado y prensado. El primero consiste en el aplastamiento y troceado de las frutas, por medios manuales o mecánicos. A nivel industrial se utilizan enzimas para incrementar la extracción del jugo, el prensado se realiza con prensas neumáticas, con lo que se consigue la extracción del 60 a 70 % del mosto de la pulpa. (Garmendia, 2003; Mendiola, 1997).

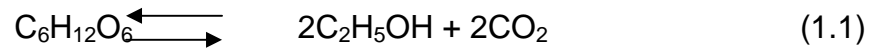
El jugo extraído se puede someter a un tratamiento térmico, con la finalidad de eliminar la carga microbiana presente. Este procedimiento se realiza a una temperatura de 120 °C, 20 psi de presión y 10 minutos, con lo cual se garantiza la esterilización del mosto. (Hernández, 2003; Navas y Culqui, 2008).

Posteriormente, es recomendable realizar el análisis del extracto obtenido, con el propósito de cuantificar la cantidad de sacarosa y ácido cítrico que se debe añadir para su corrección si es necesario. (Covas, 2004).

1.3.2 INOCULACIÓN DE LEVADURAS

Las levaduras son hongos ascomicetos, de tamaño microscópico y unicelulares, que durante su desarrollo, en un medio azucarado, producen etanol y dióxido de

carbono en el proceso de fermentación alcohólica, cuya reacción final es expresada por la ecuación 1.1 (Moulinj *et al.*, 2001; González y Valenzuela, 2007).



Para la elaboración de bebidas alcohólicas fermentadas se utiliza la levadura *Saccharomyces cerevisiae*; esta levadura de forma salvaje o natural está presente en el hollejo de la uva, en este medio no puede desarrollar la fermentación, pero en un medio anaerobio, es cuando las levaduras inician el proceso fermentativo (Garmendia, 2003; Navarro, 2006).

Las levaduras son microorganismos muy utilizados en la industria, como por ejemplo en la elaboración de cerveza y vinos. También se emplean para la fabricación de pan, y como fuente de alimento de vitaminas. (Madigan *et al.*, 2004; González y Valenzuela, 2007).

Para iniciar el proceso fermentativo es necesaria la inoculación de *Saccharomyces cerevisiae* en el mosto. La concentración de inóculo utilizada para la elaboración de bebidas alcohólicas, varía entre 1,0 y 2,5 % de levadura. De igual manera, el tiempo de fermentación, varía al depender de la concentración de inóculo utilizado, entre 72 y 120 horas. La presencia de aire es fundamental para que las levaduras inoculadas se reproduzcan, al utilizar el azúcar como fuente de energía y carbono. Una vez que se ha obtenido el número deseado de levaduras se debe suspender la aireación, para que estas produzcan energía y las sustancias que su metabolismo requiere; entre las cuales se encuentra el alcohol etílico. (Hernández, 2003; Prescott y Harley, 1993).

Generalmente, para la fermentación de vinos, se utiliza la levadura prensada húmeda, la misma que contiene un promedio de 10 000 millones de células por gramo de levadura (Hernández, 2003).

Para inocular la levadura en la industria, se necesitan cantidades altas de iniciador debido a que se trabaja con cantidades elevadas de mosto. Para

preparar el iniciador, primero se coloca en tubos de ensayo la levadura y posteriormente se la deja crecer en grandes contenedores, hasta que esta alcance de 2 a 25% del volumen total del mosto. Luego se procede a la inoculación final. (Madigan *et al.*, 2004; Prescott y Harley, 1993).

1.3.2.1 Condiciones del medio para *Saccharomyces cerevisiae*

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* requiere ciertas condiciones del medio para su crecimiento, desarrollo y actividad; estas son:

- Temperatura: *Saccharomyces cerevisiae* soporta amplios rangos de temperatura, sin embargo, a bajas temperaturas no genera actividad es decir no fermenta el medio. Por otro lado no soporta temperaturas superiores a los 35 °C, los mejores rangos de temperatura para su desarrollo y crecimiento oscilan entre 18 y 21 °C. Además, la temperatura influye en la cantidad de etanol que se obtiene en la fermentación, así, si se quiere obtener mayor grado alcohólico en la bebida se emplean temperaturas bajas, por el contrario si se requiere baja graduación alcohólica se utilizan temperaturas mayores.

Es importante señalar que si se emplean temperaturas bajas entre los 16 y 18 °C, el proceso fermentativo tomará mayor tiempo y, en el caso de utilizar mayores temperaturas, el tiempo será menor.

- pH: El pH es un factor importante para el crecimiento de levaduras; un pH neutro cuyo rango varíe entre 4,5 y 6,5 es el más apropiado para *Saccharomyces cerevisiae*; sin embargo puede soportar como mínimo un pH de 2,0 y máximo un pH de 8,0. A valores de pH ácidos, las levaduras realizarán el proceso fermentativo en mayor tiempo y el mosto se encontrará protegido contra posibles ataques bacterianos.
- Oxígeno: La levadura *Saccharomyces cerevisiae*, inicialmente, requiere de oxígeno para su multiplicación, sin embargo para fermentar el medio, el proceso debe ser anaerobio, $[O_2] = 0$.

- Alcohol: Con respecto al contenido de alcohol, esta levadura fermenta rápidamente a concentraciones bajas de alcohol, a los 14 grados de alcohol el trabajo de la misma se vuelve lento y, a concentraciones mayores a 18 grados de alcohol, culmina su actividad. (Navarro, 2006; Collado, 2001).

1.3.3 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

El proceso por el cual las levaduras transforman los azúcares presentes en el mosto en alcohol etílico se denomina fermentación alcohólica, esta etapa es considerada la parte central en el proceso de elaboración de vinos, pues de ella depende el grado alcohólico final que alcanzará la bebida. (Prescott y Harley, 1993).

Según Gay – Lussac, para la formación de alcohol etílico y dióxido de carbono, se requiere el hidrógeno, el oxígeno y el carbono del azúcar; 100,00 g de azúcar generan o se convierten durante la fermentación en 51,34 g de alcohol etílico y en 48,66 g de dióxido de carbono. (Orfila y Rotger, 1982).

En el proceso fermentativo además de etanol y dióxido de carbono, se producen otros compuestos en cantidades mucho menores a los anteriores. Estos compuestos son alcoholes diferentes al etanol, ésteres, aldehídos, compuestos azufrados, ácidos orgánicos entre otros; que confieren las características organolépticas del producto fermentado, en especial, el aroma. (Madigan *et al.*, 2004).

La fermentación alcohólica inicia con la glucólisis, la cual a su vez consta de dos etapas; en la primera la glucosa se fosforila, es decir incorpora el fósforo a expensas de una molécula de ATP. Una vez fosforilada, se rompe y forma el gliceraldehído 3 fosfato. En la segunda etapa el gliceraldehído 3 fosfato se convierte en ácido pirúvico por la oxidación del NAD (dinucleótido de nicotinamida y adenina). El ácido pirúvico es el producto final de la glucólisis. Posteriormente a la glucólisis y si las condiciones son anaerobias, continúa el proceso de

fermentación alcohólica, por la conversión enzimática del ácido pirúvico hasta etanol por intermedio del NADH_2 , como se muestra en la figura 1.3 (Hernández, 2003).

A escala de laboratorio resulta conveniente utilizar microfermentadores en el proceso fermentativo, pues de esta manera se tiene un mayor control del proceso y se alcanzan los mayores rendimientos de etanol. A nivel industrial, la fermentación se lleva a cabo en el sistema por lotes, en el cual se realizan ajustes de pH y azúcares, principalmente (Madigan *et al.*, 2004; Mendiola, 1997).

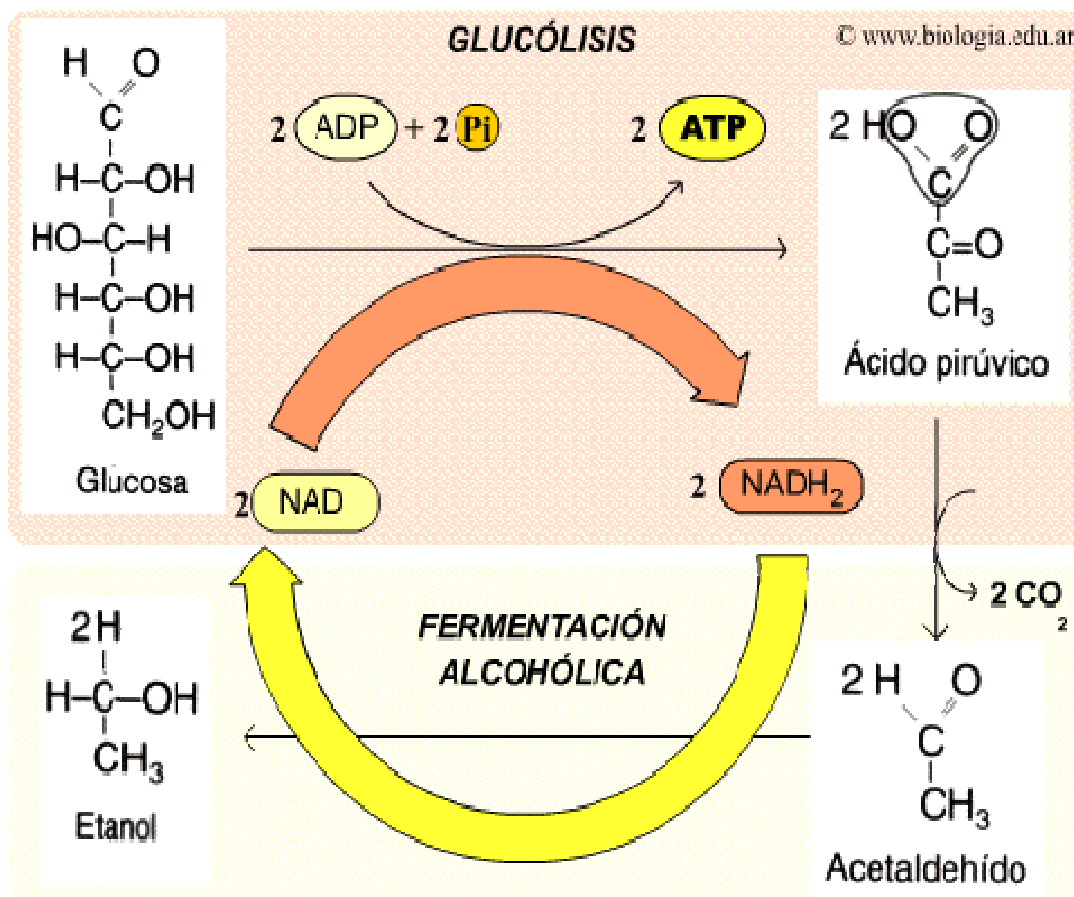


Figura 1.3. Esquema de la fermentación alcohólica

Fuente: Saenz 2004

En la tabla 1.5, se indican los principales compuestos generados en la fermentación de pulpa de manzanas.

El rendimiento de etanol que se obtiene en la fermentación alcohólica depende de dos factores: el tipo de materia prima utilizada y las condiciones en que se lleva a cabo el proceso, entre ellas principalmente la temperatura y el porcentaje de inóculo (Prescott y Harley, 1993).

Tabla 1.5. Cambios producidos en la fermentación del mosto de manzanas.

Composición del mosto	Transformación durante la fermentación
Agua	Agua
Azúcares	- CO ₂ - Alcoholes etílicos y metílico, glicerina y aceites de fusel - Ácido láctico, acético, succínico y otros; aldehídos, éteres, ésteres, etc.
Sustancias fenólicas	Otras sustancias pécticas generalmente más degradadas, alcohol metílico, pentosas, otros
Sustancias nitrogenadas	Sustancias nitrogenadas y derivadas del mismo tipo, originados en la hidrólisis de las levaduras y bacterias

Fuente: Garmendia 2003

1.3.4 SEPARACIÓN Y CLARIFICACIÓN DEL MOSTO

El proceso de separación de la biomasa o de los residuos sólidos precipitados en el fondo del tanque de fermentación se conoce como trasiego o descube del vino. Una vez finalizado el proceso fermentativo, se deja reposar el mosto por un período de 15 días, aproximadamente, y se realiza el primer trasiego. Posteriormente, se deja reposar el vino por 15 días más y se realiza un segundo trasiego, para asegurar la eliminación completa de cualquier residuo sólido presente en el vino. (Garmendia, 2003).

El trasiego se realiza mediante centrifugación a nivel industrial y, filtración, a escala de laboratorio, y este último no es muy recomendable pues si se realiza en forma excesiva se pierde la calidad del vino. (Covas, 2004).

En la operación de trasiego, es conveniente controlar parámetros como la turbidez, pues de ello depende la calidad de la bebida, además de la temperatura y el pH, los mismos que deben tener valores bajos, inferiores a 18 °C y 4,0, respectivamente; con lo cual se inhibe la acción enzimática y el producto será más estable. (Covas, 2004).

Una vez realizados los trasiegos, es conveniente dejar reposar el vino por unos 30 días, para proceder a la clarificación, proceso por el cual se elimina el resto de sólidos suspendidos que pudiesen existir en el producto final. La clarificación se lleva a cabo al añadir sustancias químicas permitidas, como taninos, pectinasas o bentonita. (Mora, 2000; Covas, 2004).

Para disminuir el número de microorganismos presentes y garantizar la inocuidad del producto final obtenido, se realiza la pasteurización del vino previo al envasado. Esta operación se realiza a una temperatura de 65 °C, por 5 ó 6 minutos. (Navas y Culqui, 2008).

1.3.5 ENVASADO

Para realizar el envasado se debe verificar la inocuidad del producto mediante análisis microbiológicos, además, se deben verificar la brillantez y transparencia de la bebida alcohólica. El envasado es la última etapa del proceso, generalmente se realiza en botellas de 750 ml, transparentes y de vidrio. En la etapa de envasado o embotellado, es necesario considerar ciertos aspectos para que el vino no pierda su calidad, estos son:

- Utilizar botellas limpias y sometidas a un proceso previo de desinfección.

- Evitar cualquier tipo de aireación en el interior de la botella, puesto que las reacciones oxidativas pueden perjudicar las características organolépticas de la bebida. y;
- Procurar temperaturas bajas en el proceso, para mantener la estabilidad del vino.

Una vez que el producto final ha sido envasado está listo para la etapa de reposo o añejamiento. En esta fase el vino mejora sus características organolépticas. Se recomienda etapas de reposo de 3 meses a 2 años. (Navas y Culqui, 2008; Garmendia, 2003). La figura 1.4 indica el diagrama de flujo de las operaciones que intervienen en el proceso de elaboración de una bebida alcohólica fermentada tipo vino.

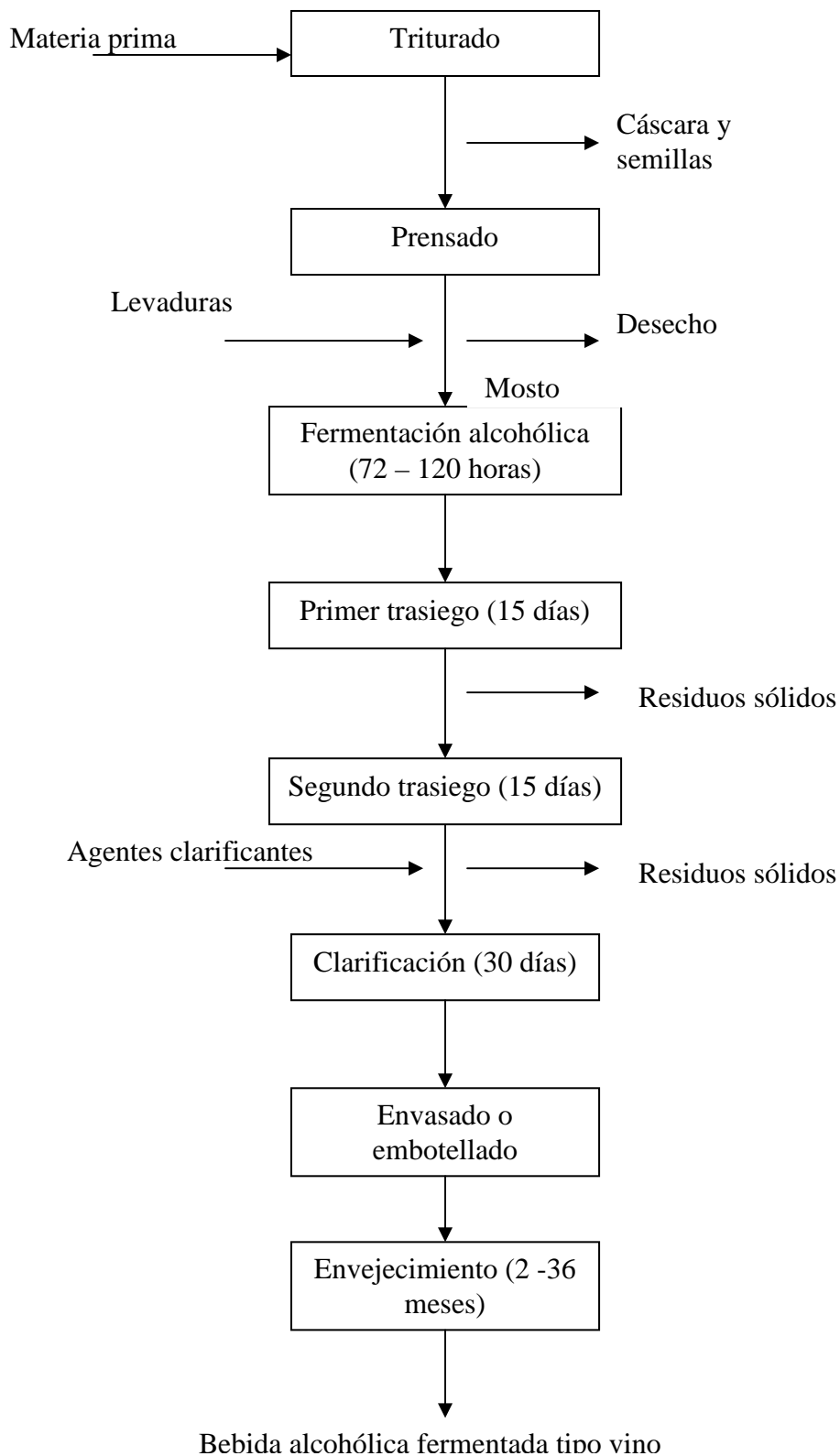


Figura 1.4. Diagrama de flujo de operaciones para la elaboración de una bebida alcohólica fermentada.

Fuente: Madigan *et al.*, 2004.

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1 MATERIALES

Para la elaboración de una bebida alcohólica fermentada, se utilizaron como sustratos, jícama *Smallanthus sonchifolius*, cultivada en la provincia de Pichincha, en la zona de Machachi y la variedad Emilia de manzana *Pyrus malus L.*, cultivada en Pichincha, en el valle de Guayllabamba,

La levadura *Saccharomyces cerevisiae*, LEVAPAN, en presentación prensada y fresca que se emplea en panificación, fue utilizada como inóculo para la fermentación. Se adquirió en los supermercados Santa María de la ciudad de Quito.

Como clarificantes se emplearon, bentonita y gelatina sin sabor, la primera se obtuvo en el DECAB, de la E.P.N y la gelatina fue adquirida en los supermercados Supermaxi de la ciudad de Quito. Las botellas de vidrio de 750 cm³, utilizadas en el envasado del producto final se adquirieron en la empresa I.C.C International S.A.; en la ciudad de Quito.

2.2 CARACTERIZACIÓN FÍSICO - QUÍMICA DE LAS MATERIAS PRIMAS JÍCAMA *Smallanthus sonchifolius* Y MANZANA *Pyrus malus L.*

Para la caracterización físico – química de las materias primas se realizaron los análisis de laboratorio correspondientes a: humedad, densidad, sólidos solubles, pH, azúcares reductores, azúcares totales, y acidez total.

La jícama y la manzana fueron recolectadas en un estado de madurez avanzado, para aprovechar el mayor contenido de azúcares presentes. La jícama se dejó

expuesta al sol durante 72 h, para que el contenido promedio de azúcares comunes aumentara, mientras que las manzanas fueron almacenadas en un lugar fresco y seco. Una vez transcurridas las 72 h, de la exposición al sol de la jícama, se extrajo el jugo tanto de la jícama como de las manzanas peladas. Posteriormente, se procedió a realizar los análisis correspondientes en el jugo de jícama, y en el jugo de manzana. Los análisis realizados fueron los siguientes:

2.2.1 DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

La determinación de la humedad se realizó por el método de secado en estufa, descrito por Badui, 1993. Para preparar las muestras se tomaron de 5,00 a 6,00 mL del jugo en análisis. Se pesaron 5,00 g de cada muestra en cajas petri y estas muestras se calentaron en una estufa marca MEMMERT a 130 °C durante 30 minutos. Posteriormente, para determinar la pérdida en peso de las muestras se realizó el pesaje final de cada una de ellas. Para esto se utilizó una balanza analítica marca DENVER INSTRUMENT. La humedad fue expresada como porcentaje en peso, con la fórmula [2.1].

$$\frac{P_i - P_f}{P_i} \times 100 = H \quad [2.1]$$

Donde:

H : Humedad en porcentaje

P_i : Peso inicial (g)

P_f : Peso final (g)

2.2.2 DETERMINACIÓN DE DENSIDAD

Para determinar la densidad se utilizó un picnómetro marca DURÁN de 25 cm³. El procedimiento consistió en el pesaje inicial del picnómetro vacío y el posterior pesaje del volumen exacto de 25 mL de cada muestra en el picnómetro, a una

temperatura promedio de 20 °C. Mediante este procedimiento se calculó el peso exacto de 25 mL de muestra. La densidad fue expresada en g/cm³ y se determinó con la fórmula [2.2].

$$\frac{P_f - P_i}{V_p} = D \quad [2.2]$$

Donde:

D : Densidad (g/cm³)

P_i : Peso inicial del picnómetro (g)

P_f : Peso final (picnómetro mas muestra), (g)

V_p : Volumen del picnómetro (25 cm³).

2.2.3 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES

La determinación del contenido de sólidos solubles en las muestras se realizó por lectura directa, al colocar una gota de muestra a 18 °C en un refractómetro marca BELLINGHAM & STANLEY, con rango de medición de 0 a 50 °Brix.

2.2.4 DETERMINACIÓN DE pH

Se determinó el pH de las muestras con un pH – metro marca HANDY LAB 1, a una temperatura ambiental aproximada de 18 °C.

2.2.5 DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES Y AZÚCARES TOTALES

Se determinaron los azúcares reductores y los azúcares totales de las diferentes muestras según el método de Fehling descrito por Cortés, 2005. Los detalles del procedimiento se pueden encontrar en el anexo II.

Para realizar la determinación de azúcares reductores mediante el método de licor de Fehling, fue necesario realizar una dilución (10/250) de cada muestra, para que se pueda obtener una solución transparente que no interfiera en la visualización del cambio de color en el proceso.

En un matraz se colocaron 5 mL de solución A (cúprica), 5 mL de solución B (sódica) y 25 mL de agua destilada. Esta mezcla (solución Fehling) se calentó en una plancha agitadora marca COLEPARMER, hasta su ebullición, y se utilizó como indicador en la titulación.

Se colocaron 50 mL de disolución de la muestra en una bureta, se difundió paulatinamente sobre la solución Fehling y se midió el gasto. El cambio de coloración de la solución Fehling de azul intenso a rojo, fue indicativo del final de la titulación. Para realizar el cálculo, se consideró el factor de dilución que se utilizó para preparar la muestra. La cantidad de azúcares reductores fue expresada como porcentaje peso/peso, con las fórmulas [2.3] y [2.4].

$$X = \frac{10f}{a} \quad [2.3]$$

Donde:

X: Gramos de azúcares reductores o azúcares totales

a: Volumen de muestra gastado en ml

f: Factor de titulación (0,05020 glucosa)

$$AR = \frac{X}{Pm} \times 100 \quad [2.4]$$

Donde:

AR: Azúcares reductores en porcentaje

Pm: Peso de la muestra en gramos

Para realizar la determinación de azúcares totales se realizó la disolución (10/250) de cada muestra. A esta disolución se añadió 1 mL de ácido clorhídrico, y se calentó a 70 °C, durante 15 minutos, para que la sacarosa se hidrolizara en los monosacáridos que la forman, glucosa y fructosa, los mismos que sí pueden ser detectados por el método de Fehling. Posteriormente, se dejó enfriar y se neutralizó con hidróxido de sodio (0,1 N), para realizar la titulación sobre la solución Fehling. Se determinó la cantidad de azúcares totales en porcentaje peso/peso, por medio de las fórmulas [2.3] y [2.5].

$$AT = \frac{X}{Pm} \times 100 \quad [2.5]$$

Donde:

AT: Azúcares totales en porcentaje.

Pm: Peso de la muestra en gramos.

2.2.6 DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TOTAL

La acidez total se determinó por titulación. Se utilizaron 50 mL de muestra diluida (10/250) y se tituló con hidróxido de sodio (0,1 N), y fenolftaleína como indicador. La acidez total fue expresada en porcentaje peso/volumen, por medio de la fórmula [2.6].

$$A = \frac{V \times N \times F}{Vm} \times f \times 100 \quad [2.6]$$

Donde:

A: Acidez en porcentaje

V: Volumen que se gastó en ml de NaOH

N: 0,1 N

F: Factor de corrección de la solución de NaOH

Vm: Volumen de la muestra en ml

f: factor del ácido en que se expresa la acidez total (0.075 ácido tartárico)

2.3 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE MEZCLA DE JÍCAMA *Smallanthus sonchifolius* Y MANZANA *Pyrus malus L.*

Para determinar la cantidad de mezcla de jícama *Smallanthus sonchifolius* y, manzana *Pyrus malus L.*, se realizó un estudio de las características sensoriales con cinco diferentes porcentajes:

- A: 95 % jícama – 5 % manzana.
- B: 90 % jícama – 10 % manzana.
- C: 80 % jícama – 20 % manzana.
- D: 70 % jícama – 30 % manzana.
- E: 60 % jícama – 40 % manzana.

Para la extracción del jugo de jícama y de manzana, se utilizó un extractor OSTER II, en el cual, se introdujeron los sustratos pelados y sin adición de agua ni azúcar; se obtuvo el jugo de los mismos con una eficiencia de 70%. Una vez extraído el jugo de jícama y manzana y mezclado en las proporciones indicadas, un panel conformado por treinta miembros, realizó la evaluación. Las muestras se valoraron a temperatura ambiente, el panel identificó y seleccionó las mejores muestras según el método descrito en Witting, 2001; que se detalla en el anexo I.1

El análisis sensorial se realizó para determinar las propiedades organolépticas de las diferentes mezclas por los órganos de los sentidos, es decir, el panel percibió, identificó, apreció un cierto número de propiedades características de los jugos, evaluó cada una de las muestras por medio del test hedónico, e identificó el mejor porcentaje de mezcla.

El análisis sensorial indicó las preferencias de los panelistas por los diferentes tratamientos, se trabajó con una escala de 1 a 9 como se indica en la tabla 2.1.

Tabla 2.1. Escala de 9 puntos utilizada en análisis sensorial para indicar preferencias en los diferentes porcentajes de mezcla

Puntuación	Preferencia
1	me disgusta extremadamente
2	me disgusta mucho
3	me disgusta moderadamente
4	me disgusta levemente
5	no me gusta ni me disgusta
6	me gusta levemente
7	me gusta moderadamente
8	me gusta mucho
9	me gusta extremadamente

Fuente: Witting 2001.

El modelo de hoja para la evaluación sensorial de las mezclas se detalla en el anexo I.2.

Para determinar si existieron diferencias significativas entre las diferentes muestras se utilizó el análisis de varianza ANOVA y para establecer las muestras de mayor aceptación, se realizó la prueba de significación de Tukey al 95 % de confianza. Posteriormente, se efectuó la caracterización físico química de las muestras que obtuvieron la mayor aceptación por el panel que realizó la evaluación sensorial.

2.4 DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE GENERACIÓN DE ALCOHOL EN EL PROCESO FERMENTATIVO

2.4.1 SUSTRATO

Para la determinación de la cinética en el proceso fermentativo, se utilizaron como sustratos en el proceso fermentativo, los jugos de jícama y manzana, sin adición

de agua, ni azúcar. Los sustratos se mantuvieron en botellas de plástico con tapa a temperatura de refrigeración de -1 °C a -2 °C, en un refrigerador marca DUREX, hasta su utilización.

2.4.2 INÓCULO

Se utilizó la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, que fue adquirida en presentación de 500 g, fresca y prensada como inóculo; la levadura se almacenó a temperatura de refrigeración de 4°C, en un refrigerador marca DUREX, hasta el momento de su utilización.

2.4.3 PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Se colocaron 1,2 L de sustrato en un bioreactor de vidrio pyrex de 2,0 L de capacidad y 50,0 mL de sustrato en un matraz erlenmeyer, y se los llevó a esterilización. En este proceso se utilizó un autoclave marca NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC, modelo AE 15-10. El proceso de esterilización se llevó a cabo bajo las condiciones descritas por Fernández, 2005 y Ertola, 2004; es decir, temperatura de 120 °C, 20 psi de presión y tiempo de 10 minutos, para eliminar en su totalidad los microorganismos presentes.

Los sustratos esterilizados permanecieron en reposo fuera del autoclave durante 24 horas para que se enfriaran y se pudiera iniciar el proceso de fermentación en un micro fermentador marca NEW BRUNSWICK SCIENTIFIC, modelo MF-102.

La levadura *Saccharomyces cerevisiae*, que se utilizó como inóculo en el proceso fermentativo, fue pesada en una balanza analítica OHAUS SCOUT en las proporciones indicadas en el acápite 2.4.4. Previo al proceso de inoculación en el sustrato, la levadura fue activada. Para este proceso, se utilizó el mosto esterilizado en el matraz erlenmeyer, se colocó la levadura y se elevó la temperatura hasta 30 °C en un baño termostático marca JULABO, modelo SW 22,

donde permaneció 10 minutos; según el proceso descrito en Collado, 2001. Una vez activa, se inoculó en el bioreactor de 2,0 L de capacidad, para que inicie la fermentación.

2.4.4 EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE INÓCULO Y LA CANTIDAD DE SUSTRATO EN EL PROCESO FERMENTATIVO

Para determinar el efecto de la concentración de inóculo y la cantidad de sustrato en el proceso fermentativo, se desarrolló un diseño experimental, en el cual, se trabajó con estas 2 variables a 3 niveles la primera variable y 2 niveles la segunda variable. Para la variable concentración de inóculo se escogieron concentraciones de 0,5; 1,5 y 2,5 g de inóculo por L de mosto (g/L); y para la variable cantidad de sustrato se trabajó con las dos mezclas seleccionadas. Se realizaron tres repeticiones de cada ensayo.

En cada tratamiento se midió la variación de los Brix del mosto, con relación al tiempo de fermentación, se inició con un mosto que presentaba 13 Brix y un pH entre 4,0 y 4,5, en todos los tratamientos.

Se realizó la curva de disminución de los Brix con respecto al tiempo, por medio de la cual, se determinó el tiempo total de las fermentaciones y los Brix finales.

Se estableció el mejor tratamiento mediante la comparación del tiempo de fermentación, parámetros organolépticos como color y aroma de las muestras y el grado alcohólico final, determinado mediante el método volumétrico oficial, descrito por Madrid *et al.*, 2003.

Se determinó la diferencia estadísticamente significativa de los experimentos, mediante el análisis de varianza ANOVA, con la concentración de inóculo y el porcentaje de mezcla, como variables de análisis. Adicionalmente, para identificar el mejor tratamiento, se realizó la prueba de significación de Tukey, al 95% de confianza.

Además, como indicativos del correcto desarrollo del proceso fermentativo, se midieron a lo largo del proceso los valores de pH, temperatura y el contenido de azúcares reductores finales presentes en las muestras, mediante el método titulométrico de Rebelein descrito por Madrid *et al.*, 2003, que se detalla en el anexo III.

Los azúcares reductores fueron expresados como porcentaje peso/volumen por medio de la fórmula [2.7], descrita por Madrid *et al.*, (2003).

$$AR = (G_b - G_t) \times f \quad [2.7]$$

Donde:

AR: Porcentaje de azúcares reductores (g/L)

G_b : Gasto de titulación del blanco (mL)

G_t : Gasto de titulación de la muestra (mL)

F : factor de dilución

El grado alcohólico que presentan las muestras al final del proceso fermentativo se determinó por el método volumétrico oficial, descrito por Madrid *et al.*, 2003.

Este método permite identificar el número de litros de etanol contenidos en 100 litros de vino, es decir es un indicativo del porcentaje en volumen y su símbolo es (% vol). Los detalles del procedimiento se pueden encontrar en el anexo IV.

El mosto fermentado se filtró mediante papel filtro WHATMAN de 125 mm de diámetro y un compresor para succión marca EMERSON, en un matraz de 250 mL. Se colocaron 200 mL del mosto filtrado en el balón para destilación de 1,0 L de capacidad, el mismo que fue conectado a un refrigerante con circulación de agua fría. Se adicionaron 10 mL de hidróxido de calcio, para iniciar la destilación con la ayuda de un mechero bunsen, como fuente de calor. Se extrajeron, aproximadamente, 140 mL, es decir un 70% del volumen inicial, en un matraz y se aforaron a 200 mL con agua destilada. En una probeta de 250 mL se colocó el

destilado y se determinó tanto la temperatura como el grado alcohólico aparente con un alcoholímetro. Finalmente, se realizaron las correcciones correspondientes al factor de la temperatura por medio de la tabla que se presenta en el anexo IV.

2.4.5 DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE GENERACIÓN DE ALCOHOL

Para realizar la cinética de generación de alcohol se determinó la variación de la concentración de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, en función del tiempo; al emplear como método para detectar y medir el crecimiento de microorganismos, el conteo directo al microscopio descrito por Scriban, 1985 y Madigan *et al.*, 2004. Este es un método directo rápido y eficaz, que consiste en el uso de laminillas calibradas y cuadrículadas, denominadas cámaras de recuento de Petroff-Hausser, que encierran las células por contar en un volumen conocido.

Por medio del conteo directo al microscopio, como método de evaluación cuantitativo de la población de levaduras, se realizó la curva de crecimiento microbiano y se identificaron las distintas fases de crecimiento descritas por Scriban, 1985 y Madigan *et al.*, 2004, que se enumeran en el anexo V.

2.4.5.1 Velocidad de crecimiento de levaduras

Para establecer la velocidad de crecimiento de levaduras en el proceso fermentativo, se identificó la fase logarítmica o exponencial de crecimiento; pues en esta fase, el crecimiento celular aumenta proporcionalmente con relación al tiempo; además debido al hecho de que el etanol o alcohol etílico es un metabolito primario, se deduce que las curvas de crecimiento y producción tienen igual perfil, es decir la producción de etanol está directamente ligada al crecimiento de las levaduras. Por medio de la fórmula [2.8] se calcula la velocidad de crecimiento de las levaduras.

$$U_m = \frac{\ln X_f - \ln X_o}{t} \quad [2.8]$$

Donde:

X_f : Concentración final de levaduras (# levaduras/ml)

X_o : Concentración inicial de levaduras (# levaduras/ml)

t : Variación de tiempo (h)

U_m : Velocidad máxima de crecimiento (h^{-1})

2.4.5.2 Tiempo de duplicación de levaduras

El tiempo de duplicación, según Scriban, 1985 y Madigan, *et al.*, 2004 se define como el tiempo en que se duplica la población microbiana; también se lo llama tiempo de generación. Para determinar el tiempo de duplicación, se utilizó la fórmula [2.9].

$$td = \frac{\ln 2}{U_m} \quad [2.9.]$$

Donde:

td : Tiempo de duplicación (h)

U_m : Velocidad máxima de crecimiento (h^{-1})

2.4.5.3 Tasa de rendimiento del producto

Según Scriban, 1985, la tasa de rendimiento es un indicativo de la cantidad en gramos de metabolitos producidos por los gramos de sustrato consumido; en este caso, se determinaron los gramos de etanol producidos por gramos de mosto, según la fórmula [2.10]. Además, se utilizó la tasa de rendimiento del producto, en el cálculo de la velocidad de generación de alcohol etílico y la productividad del mismo.

$$Y_{p/s} = \frac{P_f - P_o}{S_o - S} \quad [2.10]$$

Donde:

$Y_{p/s}$: Tasa de rendimiento de etanol (g_p/g_s)

P_f : Concentración final de producto (g)

P_o : Concentración inicial de producto (g)

S_o : Concentración inicial de sustrato (g)

S : Concentración final de sustrato (residual) (g)

2.4.5.4 Velocidad de generación de alcohol etílico

Como se mencionó en el acápite 2.4.5.1, la velocidad de generación de etanol, está ligada directamente al crecimiento celular de *Saccharomyces cerevisiae* en el proceso fermentativo, específicamente, en la fase exponencial. Para determinar la velocidad de generación de etanol, se utilizó la fórmula [2.11], descrita por Scriban, 1985.

$$q_p = U_m / Y_{p/x} \quad [2.11]$$

Donde:

q_p : Velocidad específica de formación de etanol ($g_p/g_s \times h$)

U_m : Velocidad máxima de crecimiento (h^{-1})

$Y_{p/x}$: Tasa de rendimiento del producto (g_p/g_s)

2.4.5.5 Productividad de formación de etanol

La productividad es un parámetro importante para representar la formación de etanol o alcohol etílico en el proceso fermentativo y, con frecuencia, es el criterio utilizado en la determinación de las dimensiones de una instalación para fermentación. Para establecer la productividad de formación de etanol se utilizó la fórmula [2.12], descrita por Scriban, 1985 y Madigan, *et al.*, 2004.

$$P_E = \Delta p / \Delta t \quad [2.12]$$

Donde:

P_E : Productividad de formación de etanol ($g_p/L \times h$)

Δp : Cambio de concentración del producto (g_p/L)

Δt : Intervalo de tiempo (h)

2.5 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DEL MOSTO CONFORMADO POR JÍCAMA *Smallanthus sonchifolius* Y MANZANA *Pyrus malus L.*

Para realizar el proceso de fermentación alcohólica, se partió del tratamiento que obtuvo la mejor tasa de crecimiento, productividad en la formación de etanol y, además, aquel que presentó las mejores cualidades organolépticas como el color y el aroma.

Se colocaron 15,0 L de sustrato en un bioreactor de vidrio de 20,0 L de capacidad y 1,0 L de sustrato en un matraz y se los llevó a esterilización a una temperatura de 120 °C, 20 psi de presión, por un período de 10 min, en un autoclave.

Luego del proceso de esterilización del sustrato, se inoculó la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en la muestra de 1,0 L para su activación. Para este proceso se llevó la muestra a una temperatura de 30 °C, en un baño termostático. Una vez activada, la levadura se inoculó en el sustrato para que inicie la fermentación en un micro fermentador, sin aireación inicial, con una agitación de 200 rpm y a una temperatura entre 17 y 18 °C.

Durante la fermentación se realizó la lectura de los valores de pH, Brix y la temperatura del mosto cada 24 horas aproximadamente, para controlar el correcto desarrollo del proceso.

Al final del proceso fermentativo, se determinó la graduación alcohólica del producto final, por medio del método que se detalla en el acápite 2.4.4; y el

contenido de azúcares reductores mediante el método de Rebelein descrito por Madrid *et al.*, 2003, que se detalla en el anexo III.

2.6 OPERACIONES DE PREPARACIÓN DEL PRODUCTO FINAL

La figura 2.1, muestra las operaciones de preparación o maduración que se realizaron en la bebida alcohólica fermentada de jícama (*Smallanthus sonchifolius*) y manzana *Pyrus malus L.*

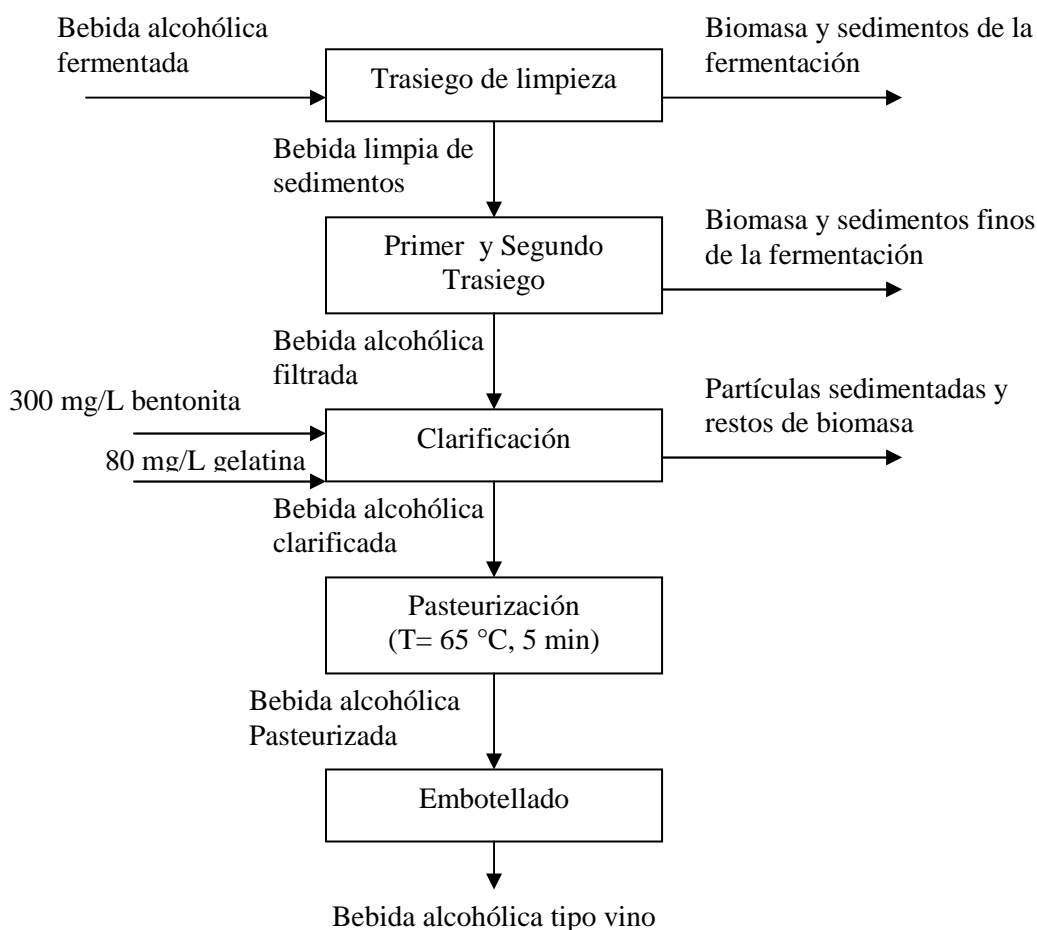


Figura 2.1. Esquema de las operaciones de preparación de una bebida alcohólica fermentada de jícama y manzana.

2.6.1 TRASIEGOS DEL PRODUCTO FINAL

Para ejecutar el trasiego o separación del mosto fermentado y los sedimentos producidos en la fermentación, se realizó una filtración con una tela de cedazo común. Se trasladó el mosto del bioreactor, en que se realizó la fermentación, hacia un recipiente de 15 L de capacidad, con lo cual se consiguió una limpieza del producto, para que no adquiriera olores ni sabores desagradables. Una vez que todo el producto fue trasvasado, se tapó herméticamente el recipiente para evitar la entrada de oxígeno y el posterior ataque bacteriano. Este proceso se realizó inmediatamente después de finalizada la fermentación y se lo conoce como trasiego de limpieza.

Posteriormente al trasiego de limpieza, se dejó reposar la bebida fermentada durante 15 días a una temperatura inferior a 17 °C, para realizar el primer trasiego. Para este proceso se trasladó la bebida del recipiente de 15 L mediante filtración, por medio de la utilización de papel filtro WHATMAN, hacia otro recipiente de similar capacidad. Finalmente, se dejó reposar durante 15 días más y se realizó un segundo trasiego con la finalidad de extraer la biomasa restante de la bebida alcohólica.

En cada trasiego se analizaron los parámetros de pH, Brix y, además, se determinó la turbidez mediante un turbidímetro HACH 2100 P.

2.6.2 CLARIFICACIÓN

La clarificación se realizó para arrastrar todas las partículas sedimentadas en el fondo del recipiente y extraer el resto de biomasa presente en la bebida alcohólica, para este proceso se utilizó bentonita y gelatina sin sabor.

El día previo a la clarificación se preparó la dilución de la bentonita. Para este proceso se colocó por cada litro de bebida a clarificarse 300 mg de bentonita en 3 mL de agua y se dejó reposar durante 24 horas, para añadir a la bebida fermentada en movimiento. La gelatina sin sabor se añadió directamente en

proporción de 80 mg/L, 12 horas después de la adición de bentonita, según el proceso descrito por Hernández, 2002. Posteriormente, se dejó sedimentar las partículas sólidas por un período de 7 días y, luego, se filtró la bebida alcohólica fermentada con papel filtro. Finalmente, se analizó la turbidez, como parámetro de control del proceso.

2.6.3 PASTEURIZACIÓN Y EMBOTELLAMIENTO

El proceso de pasteurización de la bebida alcohólica fermentada de jícama y manzana, se realizó en el laboratorio de Bioprocesos de la E.P.N. Se colocó el vino precalentado a 45 °C, en botellas de vidrio, que fueron esterilizadas para realizar el evacuado previo al proceso. Posteriormente, para la pasteurización, se colocaron las botellas con vino, en la marmita llena de agua a 65 °C, durante 5 minutos. Una vez transcurridos los 5 minutos, se colocaron las botellas en agua tibia que fue enfriada poco a poco para finalizar el proceso.

Finalizado el proceso de pasteurización y embotellamiento, se dejó reposar al producto final para que adquiriera mejores características organolépticas por un período de 1 mes. En esta etapa del proceso, se controlaron parámetros como pH y azúcares reductores. Además, se analizó la acidez total según el método descrito en el acápite 2.3.6 y se realizó un análisis de acidez volátil, cuya determinación se realizó en el Laboratorio de Alimentos de la Universidad Central del Ecuador, según el método INEN 341.

2.7 CARACTERIZACIÓN FÍSICO - QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DEL PRODUCTO FINAL OBTENIDO

Para caracterizar física y químicamente al producto final, se realizaron análisis de Brix, pH, turbidez, densidad relativa y extracto seco, azúcares reductores y grados de alcohol.

Para determinar la densidad relativa, se usó un picnómetro marca DURÁN de 25 cm³. El procedimiento utilizado fue similar al que se describe en el acápite 2.3.2. Por medio de este método se tomó la densidad del producto final y se la comparó con la del agua destilada con la fórmula [2.13]

$$d_r = \frac{dm}{da} \quad [2.13]$$

Donde:

d_r : Densidad relativa (Adimensional)

dm : Densidad de la muestra (g/mL)

da : Densidad del agua destilada (g/mL)

Para determinar el contenido de extracto seco en el producto final, se usó el método de evaporación descrito por Madrid *et al.*, 2003. Se colocaron 10 mL de muestra en una caja petri y se llevó a baño maría. Posteriormente, se dejaron enfriar las muestras en el desecador y se las pesó en una balanza marca OHAUS SCOUT II. Finalmente, se llevaron las muestras nuevamente al desecador durante 20 minutos y se realizó el pesaje hasta que su valor fuera constante. Para calcular el porcentaje de extracto seco se utilizó la fórmula [2.14].

$$Es = (P_f - P_i) \times 100 \quad [2.14]$$

Donde:

Es : Extracto seco (g/L)

P_f : Peso final de las muestras + cajas petri (g/10mL)

P_i : Peso cajas petri (g/10mL)

Para determinar los azúcares reductores presentes en las muestras finales, se utilizó el método volumétrico de Rebelein que se detalla en el anexo III. Además, el grado alcohólico, se determinó según el procedimiento que se detalla en el acápite 2.4.4.

Como parte de la caracterización físico química, se realizaron análisis de acidez total y acidez volátil en el laboratorio de alimentos OSP de la Universidad Central

del Ecuador, y análisis de azúcares totales, sulfatos fosfatos y cloruros en el Laboratorio de Análisis de Alimentos y Productos Procesados “LASA”, de la ciudad de Quito. Los métodos específicos que se utilizaron en estos análisis se detallan en la tabla 2.2.

Tabla 2.2. Métodos para las determinaciones físico-químicas utilizados en el Laboratorio de Alimentos de la Universidad Central y en el Laboratorio LASA.

Parámetro	Método
Acidez total	INEN 341
Acidez volátil	INEN 341
Azúcares totales	AOAC 974.06
Sulfatos	APHA 4 500 E
Fosfatos	APHA 4 500 C
Cloruros	APHA 4 500 B-CI

Para determinar la inocuidad del producto final, se realizaron análisis microbiológicos de bacterias totales, bacterias acéticas, mohos y levaduras, en el laboratorio LASA de la ciudad de Quito y *Lactobacillus* spp., en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Central del Ecuador. Los métodos utilizados en los análisis microbiológicos mencionados se detallan en la tabla 2.3.

Tabla 2.3. Métodos para la determinación microbiológica utilizados en el laboratorio de Microbiología de la Universidad Central y en el laboratorio LASA.

Parámetro	Método
Bacterias Totales	BAM CAP 3 FDA MODIFICADO
Bacterias Acéticas	BAM CAP 3 FDA MODIFICADO
Mohos y levaduras	BAM CAP 18 FDA
<i>Lactobacillus</i> spp.	MMI – 20

2.8 ANÁLISIS SENSORIAL DE ACEPTABILIDAD DEL PRODUCTO FINAL

Para determinar la aceptabilidad del producto final obtenido en el proceso de fermentación alcohólica de jícama y manzana, se realizó una evaluación sensorial, con un panel conformado por 30 miembros. Los atributos de color, aroma, sabor y apariencia fueron evaluados por el panel en una escala hedónica de 7 puntos desde una calificación de pésimo a excelente como se indica en la tabla 2.4, con la finalidad de establecer el grado de aprobación o no por el producto elaborado.

Tabla 2.4. Escala de 7 puntos utilizada en el análisis sensorial para evaluar aceptabilidad del producto

Puntuación	Preferencia
1	Pésimo
2	Muya malo
3	Malo
4	Regular
5	Bueno
6	Muy Bueno
7	Excelente

Se presentaron las muestras en copas de 25 mL a una temperatura ambiente entre 17 y 18 °C. Además, se escogió como panelistas a potenciales consumidores del producto, es decir hombres y mujeres mayores de 21 años de edad de la ciudad de Quito. Los individuos fueron separados entre sí y se realizó la evaluación en un área limpia con iluminación natural, buena ventilación, para impedir acumulación de olores que interfieran en el proceso de degustación y libre de ruidos, que puedan distraer a los panelistas.

Los resultados de las evaluaciones se procesaron por cómputos para determinar el promedio de aceptación de cada atributo analizado. El modelo de hoja para la evaluación sensorial de las mezclas se detalla en el anexo VI.

2.9 ANÁLISIS DE PREFACTIBILIDAD FINANCIERA PARA LA ELABORACIÓN DEL PRODUCTO

Para realizar el análisis de prefactibilidad financiera para la elaboración de una bebida alcohólica fermentada de jícama y manzana se estimó un procesamiento de 35 Ton/año de jícama, que corresponde a la producción aproximada de una hectárea. Así, el requerimiento de manzana fue de 16 Ton/año, correspondiente al 30 % restante para la elaboración de la bebida en las proporciones determinadas.

Con base en la disponibilidad de materia prima, se determinó la producción mensual del producto, además de todos los parámetros necesarios en cuanto a capacidad instalada, insumos, inversiones, capital de operación y carga fabril. Por otro lado, se estableció el proceso de obtención de la bebida alcohólica fermentada de jícama y manzana.

El diseño completo de las instalaciones y el estudio técnico para la implantación de una fábrica procesadora de esta bebida alcohólica, está fuera del alcance del presente trabajo de titulación, debido al desconocimiento de parámetros importantes que influyen directamente en el estudio técnico, como son la ubicación de la planta procesadora, los proveedores, y el estudio de mercado. Por esta razón, en el análisis de prefactibilidad, se determinaron únicamente las inversiones, el capital de operación, el estado de pérdidas y ganancias, los costos de producción, el punto de equilibrio y los indicadores financieros VAN y TIR.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA DE LAS MATERIAS PRIMAS JÍCAMA *Smallanthus sonchifolius*, MANZANA *Pyrus malus L.*

Previa la preparación de la bebida alcohólica de jícama *Smallanthus sonchifolius* y manzana *Pyrus malus L.*, fue necesario realizar la caracterización físico-química de estas materias primas. Los resultados de la caracterización físico-química del jugo de manzana *Pyrus malus L.*, y jugo de jícama *Smallanthus sonchifolius*, se presentan en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Resultados de la caracterización físico-química del jugo de jícama *Smallanthus sonchifolius*, y jugo de manzana *Pyrus malus L.*

Característica	Jícama	Manzana	n
Humedad (% peso)	87,38 ± 0,29	88,75 ± 0,09	10
Densidad (g/cm ³)	1,053 ± 0,001	1,048 ± 0,0025	5
Sólidos Solubles (°Brix)	12,60 ± 0,55	11,60 ± 0,55	5
pH	5,79 ± 0,106	4,13 ± 0, 063	5
Azúcares reductores (porcentaje en peso)	8,93 ± 1,23	10,44 ± 1,32	4
Azúcares totales (porcentaje en peso)	9,80 ± 0,56	10,89 ± 0,93	4
Acidez total (g ácido tartárico/100mL)	0,375 ± 0,048	0,530 ± 0,053	4

Se puede observar que el porcentaje de humedad fue muy similar entre la manzana, y la jícama. La humedad indica el contenido de agua presente en las

muestras y, por tanto, constituye un indicativo de rendimiento en la extracción de jugo de las mismas. Al igual que la humedad, la densidad del jugo de jícama y de manzana fue muy similar. El contenido de sólidos solubles en las muestras de jugo de jícama es mayor que el de las muestras de manzana. Según Cortés, 2005, los azúcares representan más de 90% de la materia soluble en el jugo de manzana y de jícama, por esta razón, los Brix, permiten estimar el contenido de azúcares totales presentes en las muestras y constituyen el principal indicativo de referencia del avance del proceso fermentativo.

Se puede observar también, que el pH del jugo de jícama es mayor que el de manzana. Un valor de pH ácido permite el trabajo de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y, a su vez, protege al mosto contra posibles ataques microbianos, como se describe en el acápite 1.3.2.1.

El contenido de azúcares reductores y azúcares totales es mayor en el jugo de manzana comparado con el jugo de jícama y la mayor variación se observa para azúcares reductores.

Según Villacrés, 2007, durante el almacenamiento de la jícama, sobre todo bajo exposición a la luz solar, se producen procesos bioenzimáticos, que transforman los FOS en azúcares comunes (fructosa, glucosa y sacarosa). Por esta razón se dejaron expuestas a la luz solar las raíces de jícama, para que el contenido de azúcares reductores y azúcares totales aumentara, con respecto a aquellos tubérculos que se almacenaron bajo refrigeración.

La manzana es una fruta climatérica, es decir continúa con su proceso de maduración una vez que ha sido cosechada. En el caso de las manzanas que fueron utilizadas para los análisis y el proceso fermentativo, se recolectaron en estado de madurez avanzado, para aprovechar la mayor cantidad de azúcares posibles, por lo que se almacenaron a temperatura ambiente y no hubo cambios significativos en sus características y composición, referida al contenido de azúcares reductores y totales. La acidez total, expresada en g de ácido tartárico

por 100 mL de mezcla, tiene valores inferiores a 1, para las diferentes muestras analizadas, y el de mayor acidez es el jugo de manzana.

3.2 DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE MEZCLA DE JÍCAMA *Smallanthus sonchifolius* Y MANZANA *Pyrus malus* L.

Para seleccionar la mezcla más apropiada para la preparación de la bebida alcohólica, se efectuó un análisis sensorial. Los resultados de este análisis sensorial se presentan en la tabla 3.2. Se puede observar que la mezcla “E” tuvo un mayor promedio, es decir fue la preferida por el panel que realizó la evaluación, seguida por la muestra “D”.

Los promedios de calificaciones demostraron que se tuvieron preferencias por las mezclas “D” y “E” y, además, el análisis estadístico ANOVA evidenció que ambas muestras fueron significativamente diferentes en un nivel de 5% de las demás muestras. Este comportamiento puede deberse, sobre todo, a la mejora de las características organolépticas, principalmente en cuanto al olor y al sabor, que brinda la adición de jugo de manzana al jugo de jícama.

Tabla 3.2. Resultados del análisis sensorial de las mezclas de jícama y manzana, en la evaluación con test hedónico a 30 panelistas.

Muestras	Total de Calificaciones	Promedio Calificaciones
A (95 % jícama - 5% manzana)	188	6,27 ^c
B (90 % jícama -10% manzana)	200	6,67 ^b
C (80 % jícama -20% manzana)	209	6,97 ^b
D (70 % jícama -30% manzana)	234	7,80 ^a
E (60 % jícama -40% manzana)	241	8,03 ^a

Los superíndices indican diferencia significativa al 5 % ($p < 0,05$)

El análisis estadístico ANOVA de los promedios de calificación para las muestras “A”, “B”, y “C” permitió establecer que existieron diferencias significativas ($p < 0,05$), entre las muestras “B” y “C” con respecto a la muestra “A”. La muestra “A” es la que presenta un mayor contenido de jícama y, en el análisis sensorial realizado, obtuvo el menor promedio, comparado con las demás mezclas. El análisis estadístico confirmó que esta muestra presentaba diferencias significativas ($p < 0,05$) con los demás tratamientos y, por tanto, era la de menor preferencia por el panel representativo que realizó la evaluación.

La muestra “E” presentó un mayor promedio, por lo que se dedujo que a mayor porcentaje de manzana, se tendría una mayor aceptabilidad de la mezcla. Finalmente, debido a que no existieron diferencias significativas entre la mezclas “D” y “E”, se escogieron ambas para proceder a la caracterización físico-química, la fermentación y la determinación de la cinética de generación de alcohol. Los resultados de la caracterización físico-química de la mezcla “D” y la mezcla “E”, se presentan en la tabla 3.3.

Tabla 3.3. Resultados de la caracterización físico-química de la mezcla “D” y la mezcla “E”

Característica	Mezcla “D”	Mezcla “E”	n
Humedad (% peso)	87,61 ± 0,02	87,46 ± 0,03	10
Densidad (g/cm ³)	1,055 ± 0,0034	1,056 ± 0,0027	5
Sólidos Solubles (°Brix)	12,80 ± 0,45	13,20 ± 0,84	5
pH	4,33 ± 0,275	4,27 ± 0,291	5
Azúcares reductores (porcentaje en peso)	9,11 ± 1,13	9,35 ± 0,92	4
Azúcares totales (porcentaje en peso)	10,70 ± 0,49	10,92 ± 0,82	4
Acidez total (g ácido tartárico/100mL)	0,454 ± 0,039	0,492 ± 0,025	4

Se puede observar que los parámetros analizados entre las mezclas “D” y “E” obtuvieron valores análogos, esto puede deberse principalmente a que la composición entre ambas mezclas es similar. Según Covas, 2004 el valor obtenido de 12 a 13 °Brix, en las mezclas “D” y “E”, permite estimar que se obtendrá una bebida fermentada en un rango entre 5 y 7 G.L. Los resultados de la evaluación del test hedónico y el análisis estadístico ANOVA, para identificar la mezcla de jícama y manzana, se pueden encontrar en el anexo VII.

3.3 DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE GENERACIÓN DE ALCOHOL EN EL PROCESO FERMENTATIVO

3.3.1 EFECTO DE LA CONCENTRACIÓN DE INÓCULO Y LA CANTIDAD DE SUSTRATO EN EL PROCESO FERMENTATIVO

Las figuras 3.1 y 3.2 presentan la variación de °Brix del mosto, en función del tiempo de fermentación de las mezclas “D” y “E”, respectivamente. Este parámetro es el principal indicativo del transcurso de la fermentación. Se partió de un tiempo 0 y 13 °Brix, como medidas iniciales del proceso fermentativo.

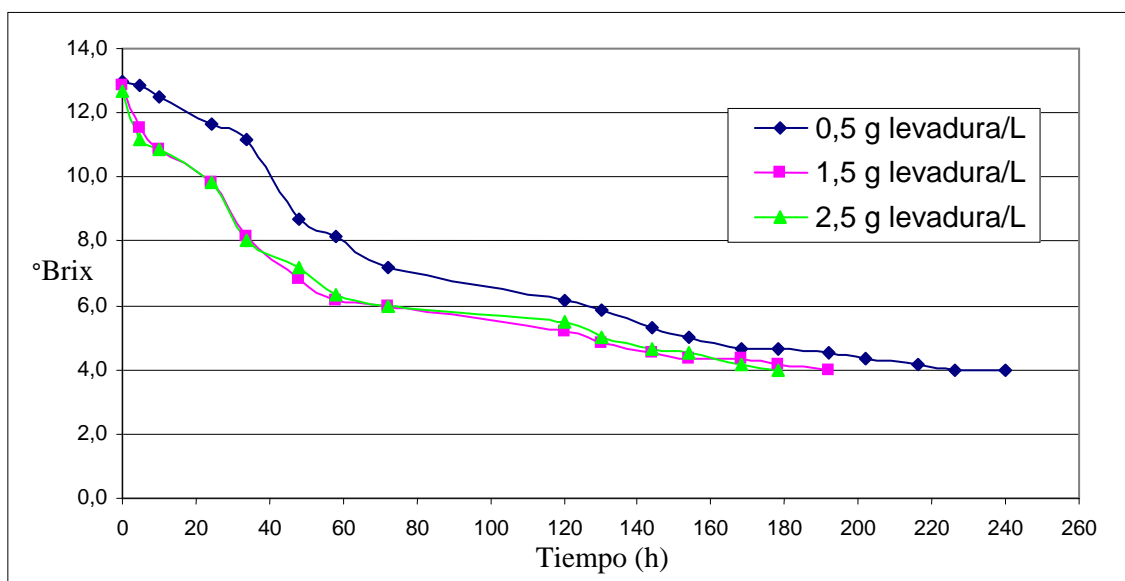


Figura 3.1. Variación de °Brix del mosto en función del tiempo de fermentación de la mezcla “D” (70 % jícama – 30 % manzana)

Como se puede observar en la figura 3.1, la tendencia de las tres curvas es similar y decreciente en todos los puntos, lo que indica el correcto desarrollo de la fermentación. Además, se puede observar que al final del proceso, se llegó a una lectura de 4 °Brix en todos los estudios realizados. Los inóculos de 1,5 g/L y 2,5 g/L presentan similar variación de los °Brix en función del tiempo; mientras que el inóculo de 0,5 g/L muestra una menor disminución con respecto al tiempo y es el tratamiento que tuvo mayor duración con respecto a los dos anteriores.

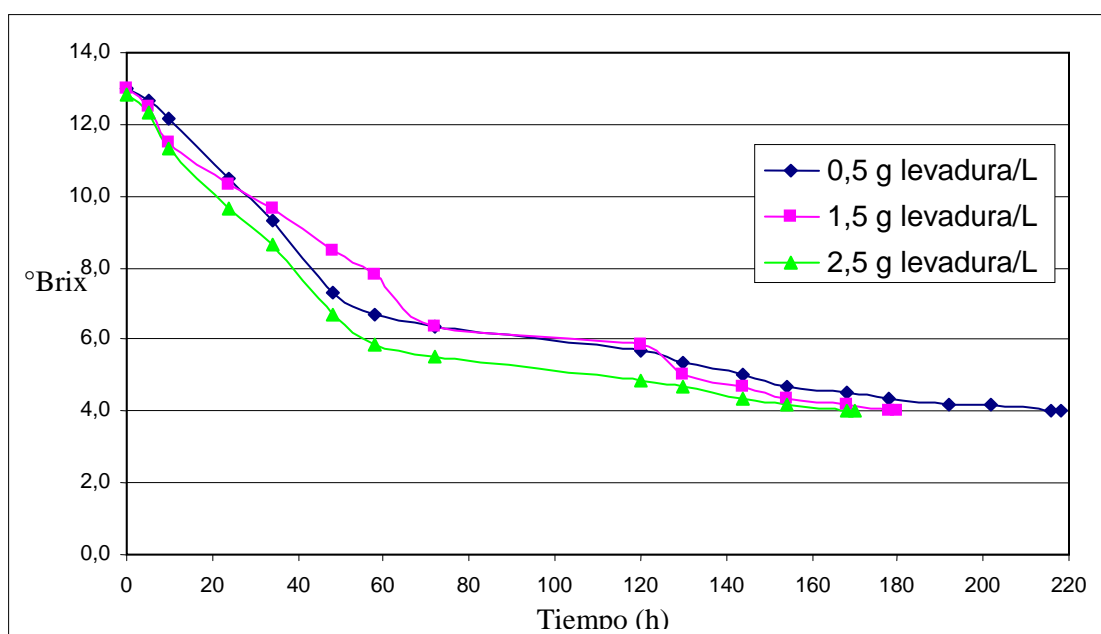


Figura 3.2. Variación de los °Brix del mosto en función del tiempo de fermentación de la mezcla “E” (60 % jícama – 40 % manzana)

En la figura 3.2, se puede observar el correcto desarrollo de las curvas de fermentación, para los distintos inóculos en la mezcla “E”. En este caso, las tres concentraciones presentan un descenso similar de los °Brix, con respecto al tiempo; sin embargo, el menor porcentaje de inóculo (0,5 g/L), es el que mayor tiempo tarda en fermentar el mosto, y viceversa, el mayor porcentaje de inóculo tarda un menor tiempo en el proceso; similar a lo ocurrido con la mezcla “D”. Esto puede deberse a que una mayor concentración de inóculo, genera una mayor población de levaduras, que consumen los azúcares reductores para la fermentación alcohólica más rápidamente. El detalle de los tiempos totales de

fermentación para cada tratamiento, tanto de la mezcla “D” como de la mezcla “E”, se detallan en el acápite 3.3.1.1.

Los inicios de la fermentación en ambas mezclas, ocurrieron en un período corto de tiempo, comparado con el tiempo total de fermentación. El tiempo de arranque fue de aproximadamente 72 horas. En este tiempo se produjo el mayor descenso de los Brix, entre 5 y 7 Brix, y se caracterizó por una fermentación tumultuosa, que generó grandes cantidades de CO₂ y la formación de espuma en la superficie del mosto.

Durante la fermentación, se controlaron los parámetros más importantes que influyen en este proceso, como son la temperatura, el valor de pH, y al final de la misma, el contenido de azúcares reductores finales. Los resultados se pueden observar en la tabla 3.4.

Tabla 3.4. Resultados de temperatura, pH y azúcares reductores como parámetros de control en el proceso fermentativo.

Concentración de Inóculo (g/L)	Porcentaje de mezclas (%)	Temperatura*		pH*		Azúcares Reductores**	
		(°C)	n	pH	n	(g/L)	n
0,5	D (70-30)	17,7 ± 0,59	19	3,93 ± 0,44	19	1,20 ± 0,36	3
	E (60-40)	17,4 ± 0,32	17	3,91 ± 0,39	17	1,37 ± 0,40	3
1,5	D (70-30)	17,4 ± 0,43	15	3,73 ± 0,45	15	1,23 ± 0,21	3
	E (60-40)	17,5 ± 0,33	14	3,86 ± 0,47	14	1,33 ± 0,25	3
2,5	D (70-30)	18,4 ± 0,47	14	3,84 ± 0,46	14	1,03 ± 0,29	3
	E (60-40)	18,6 ± 0,29	13	3,82 ± 0,52	13	1,13 ± 0,25	3

* Los datos de temperatura y pH, corresponden a los valores promedio durante toda la fermentación.

** Los datos de azúcares reductores corresponden a los obtenidos al final de la fermentación.

El promedio de temperatura en todos los estudios realizados se mantuvo constante entre 17 y 18 °C, que corresponde al valor promedio de temperatura ambiental en la ciudad de Quito, de acuerdo con las mediciones realizadas en los meses en que se ejecutó la experimentación: Junio y Julio. Además, se puede observar, que los procesos desarrollados con el inóculo de 2,5 g/L presentaron un mayor promedio de temperatura, comparado con los procesos que utilizaron los inóculos de 0,5 y 1,5 g/L. Esto puede deberse a que, a mayor concentración, la velocidad del proceso aumenta, y genera mayor cantidad de calor, el mismo que

al acumularse provoca un ligero aumento en la temperatura al interior del microfermentador.

Según Pérez, 2006 y Madigan *et al.*, 2004, el pH óptimo para el desarrollo de bacterias se encuentra en el rango de 4,20 a 4,50. Un valor de pH menor a 4,00 asegura que el mosto se encuentra protegido contra el ataque bacteriano y, a su vez, permite el correcto desarrollo de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. En la tabla 3.3, se puede observar que el promedio de pH en todos los tratamientos es similar e inferior a 4,00; con lo que se aseguraría la inocuidad y desarrollo del proceso fermentativo.

El contenido de azúcares reductores, en el producto obtenido, fue semejante en todos los tratamientos y no superó el valor de 1,5 g/L, es decir representa menos del 2% del contenido inicial en el mosto, lo que demuestra que se consumieron, prácticamente, todos los azúcares reductores en la fermentación, y se genera un vino seco o agotado de azúcares fermentables.

3.3.1.1 Tiempos de fermentación

Los resultados de los tiempos de fermentación totales, para las pruebas que utilizaron como inóculo tres concentraciones de levadura *Saccharomyces cerevisiae*; en dos diferentes porcentajes de muestra, se presentan en la tabla 3.5.

Se escogieron inóculos de 0,5 g/L, 1,5 g/L y 2,5 g/L de concentración, puesto que se encuentran dentro del rango recomendado por Hernández, 2003, para realizar la fermentación alcohólica en vinos; a rangos inferiores la levadura podría no activarse y no iniciar el proceso fermentativo, o resultar muy lento, y a rangos mayores se produciría una fermentación muy tumultuosa que ocasionaría un grado alcohólico muy bajo, por la competitividad inicial de las células por los nutrientes, para su subsistencia y desarrollo, además, el exceso de levadura podría producir sabores y olores desagradables en el vino.

Tabla 3.5. Tiempos totales de fermentación de las muestras D y E con tres diferentes concentraciones de inóculo.

Concentración de Inóculo	Porcentaje de mezclas	Tiempo de fermentación (h)
(0,5 g/L) ^b	D	242 ^a
	E	218 ^b
(1,5 g/L) ^a	D	192 ^c
	E	180 ^d
(2,5 g/L) ^a	D	178 ^e
	E	170 ^f

D: 70 % jícama – 30 % manzana.

E: 60 % jícama – 40 % manzana.

g/L: gramos de levadura / litro de mezcla

* Los superíndices indican diferencia significativa al 5 % ($p < 0,05$)

Y la letra a y la letra a' corresponden a los mejores tratamientos.

Además, se puede observar que, en todos los casos, la mezcla “E” presenta un menor tiempo de fermentación en comparación con la mezcla “D”. Esto puede deberse a que durante la esterilización, por el aumento de temperatura, se presentaron rupturas de los enlaces que mantienen unidas a las moléculas de fructosa y glucosa (formadoras de los FOS) en la jícama y, dado que la muestra “D”, tiene una mayor cantidad de jícama, se pudo originar un aumento significativo en el porcentaje de azúcares reductores y producirse un ligero incremento en el tiempo de fermentación.

El análisis estadístico ANOVA evidenció que existieron diferencias significativas al 5% en el tiempo total de fermentación en ambas mezclas, al comparar la menor concentración de inóculo (0,5 g/L) con respecto a las dos restantes. Este comportamiento muestra que a bajas concentraciones de inóculo, el proceso fermentativo se vuelve lento.

De la comparación de los tiempos de fermentación de las mezclas “D” y “E”, para las distintas concentraciones de inóculo, se encontró que el porcentaje de mezcla no influye significativamente a nivel de 5%, sobre el tiempo total de fermentación, es decir, ambos porcentajes de mezcla tuvieron un comportamiento similar a lo largo del tiempo de fermentación.

3.3.1.2 Grado Alcohólico

En la tabla 3.6 se presenta el porcentaje de grado alcohólico final de las mezclas “D” y “E”, con inóculos de 0,5 g/L, 1,5 g/L y 2,5 g/L. Se destilaron aproximadamente, 200 mL de cada muestra para realizar la determinación del grado alcohólico.

Como se puede observar, el mayor grado alcohólico se obtuvo con una concentración de inóculo de 1,5 g/L en la mezcla “D” (T3), le siguieron los tratamientos T1 y T4 respectivamente, con porcentajes de grado alcohólico mayores a 6,00; mientras que T2, T5 y T6 obtuvieron un porcentaje menor a 6,00, y, así, el inóculo de 2,5 g/L en la mezcla “E”, es el que menor grado alcohólico obtuvo.

Tabla 3.6. Grado alcohólico final de las muestras D y E, con las diferentes concentraciones de inóculo.

Concentración de Inóculo	Porcentaje de mezclas	Grado alcohólico final (%vol)	Tratamiento
(0,5 g/l) ^b	D	6,14 ^b	T1
	E	5,97 ^d	T2
(1,5 g/l) ^a	D	6,27 ^a	T3
	E	6,10 ^c	T4
(2,5 g/l) ^c	D	5,43 ^e	T5
	E	5,13 ^f	T6

D: 70 % jícama – 30 % manzana.

E: 60 % jícama – 40 % manzana.

* Los superíndices para la columna 1 y 3 indican diferencia significativa al 5 % ($p < 0,05$). La letra a y la letra a' son los mejor tratamiento.

El análisis estadístico mostró que existieron diferencias significativas a nivel de 5%, para el grado alcohólico final, tanto en el porcentaje de mezcla, como en las distintas concentraciones de inóculo.

Para la mayor concentración de inóculo, es decir 2,5 g/L, se observó un grado alcohólico muy bajo, mientras que con los inóculos de 1,5 g/L y 0,5 g/L, el grado alcohólico obtenido fue muy similar.

Además, con el inóculo de 2,5 g/L se generó una bebida de aroma desagradable y de consistencia turbia, que no justificaba su utilización aunque requiriera un menor tiempo de fermentación. Por los resultados obtenidos, se descartó el uso de un inóculo de 2,5 g/L, puesto que no se obtuvo un producto final satisfactorio.

El análisis estadístico ANOVA, tanto para los tiempos de fermentación, como para el grado alcohólico, se puede observar en el anexo VIII.1.

3.3.1.3 Comparación del tiempo de fermentación y el grado alcohólico

En la tabla 3.7 se pueden observar los resultados del tiempo de fermentación y del grado alcohólico para las mezclas “D” y “E”, con un porcentaje de inóculo de 0,5 g/L y 1,5 g/L.

Tabla 3.7. Tiempo de fermentación y grado alcohólico final de las muestras “D” y “E” con concentraciones de inóculo de 0,5 g/L y 1,5 g/L.

Concentración De Inóculo	Porcentaje de mezclas	Tiempo de fermentación (h)	Grado alcohólico final (%vol)
(0,5 g/L)	D	242	6,14
	E	218	5,97
(1,5 g/L)	D	192	6,27
	E	180	6,10

D: 70 % jícama – 30 % manzana.

E: 60 % jícama – 40 % manzana.

Al comparar, tanto el tiempo de fermentación como el grado alcohólico para las concentraciones de inóculo de 0,5 g/L y 1,5 g/L, se puede observar que el porcentaje de mezcla “E” presenta tiempos de fermentación menores al de la mezcla “D”. Y la mezcla “D”, presenta mayor graduación alcohólica en comparación con la mezcla “E”.

El tratamiento de 0,5 g/L de inóculo en la muestra “D”, pese a que presenta un grado alcohólico similar a las demás muestras, no será seleccionado, dado que involucra un tiempo de fermentación demasiado largo, en comparación con los tratamientos que utilizan 1,5 g/L de inóculo. Además, el tratamiento con 0,5 g/L de

inóculo para la mezcla “E”, fue descartado, puesto que no presenta un grado alcohólico satisfactorio sobre 6,00 %vol de alcohol, para una bebida tipo vino según Covas, 2004.

Los mejores tratamientos, tanto por su menor tiempo de fermentación, como por su grado alcohólico, son aquellos que se realizaron con un inóculo de 1,5 g/L y dentro de estos se seleccionó la mezcla “D” sobre la mezcla “E”, para los procesos posteriores a la fermentación, puesto que presentó mejores características organolépticas como color y aroma en el producto final obtenido.

3.3.2 DETERMINACIÓN DE LA CINÉTICA DE GENERACIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO

Según González, 2007, el etanol o alcohol etílico es un metabolito primario, por esta razón se genera en la fase primaria de crecimiento microbiano, es decir en la fase exponencial logarítmica. La formación del etanol en el proceso de fermentación tiene lugar en paralelo con el crecimiento de la levadura y, así, se puede relacionar la cinética de generación de alcohol con la cinética de crecimiento microbiano.

Las figuras 3.3 y 3.4 presentan las curvas de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* de las mezclas “D” y “E”, respectivamente, con porcentajes de inóculo de 0,5 g/L, 1,5 g/L y 2,5 g/L.

Como se puede observar en la figura 3.3 los comportamientos de las curvas de crecimiento de la levadura, para los diferentes porcentajes de inóculo en la mezcla “D” son similares. Además, se observa que en los tratamientos con un inóculo de 1,5 g/L y 2,5 g/L, el inicio de la fase exponencial logarítmica, se produjo a las 24 horas, mientras que en el inóculo de 0,5 g/L, se presentó a las 48 horas, determinado por un aumento celular proporcional al tiempo de fermentación. El final de la fase exponencial en los tres casos fue diverso, así, para el inóculo de

0,5 g/L, el fin de la fase exponencial fue a las 178 horas, para el inóculo de 1,5 g/L, a las 144 horas y para el inóculo de 2,5 g/L, a las 130 horas.

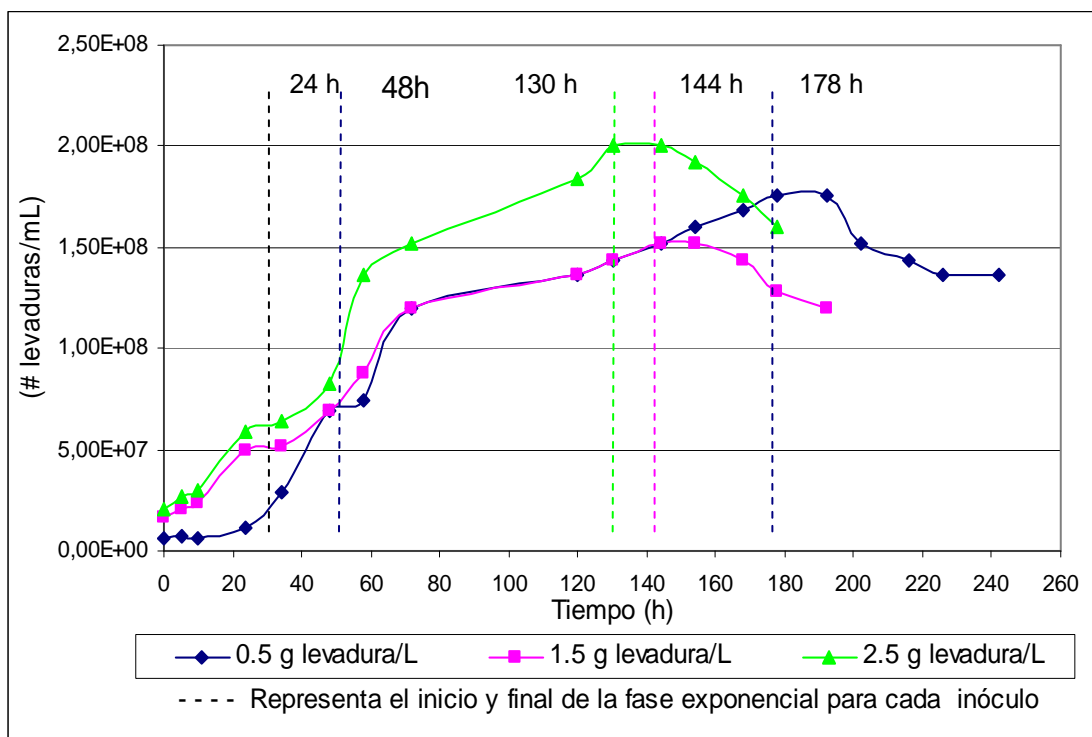


Figura 3.3. Curvas de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* para la mezcla “D” (70 % jícama – 30 % manzana)

Para los tres tratamientos, la fase de latencia conlleva un período corto de tiempo de alrededor de 15 horas. Esto puede deberse a que gracias a la activación previa de la levadura, esta actúa de una manera eficiente, y se adapta rápidamente al sustrato. Además, una vez transcurrida la fase exponencial logarítmica, se observa un período muy corto en que se presenta la fase estacionaria e inmediatamente comienza un descenso en la concentración de levaduras en el medio. El mayor crecimiento de levaduras, determinado como número de levaduras en cada mL de muestra, se presenta en el inóculo de 2,5 g/L, mientras que en los inóculos de 1,5 g/L y 0,5 g/L el crecimiento es similar, sobre todo en la fase exponencial logarítmica.

En la figura 3.4, se pueden observar las curvas de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, al utilizar como sustrato la mezcla “E”; y tres inóculos distintos.

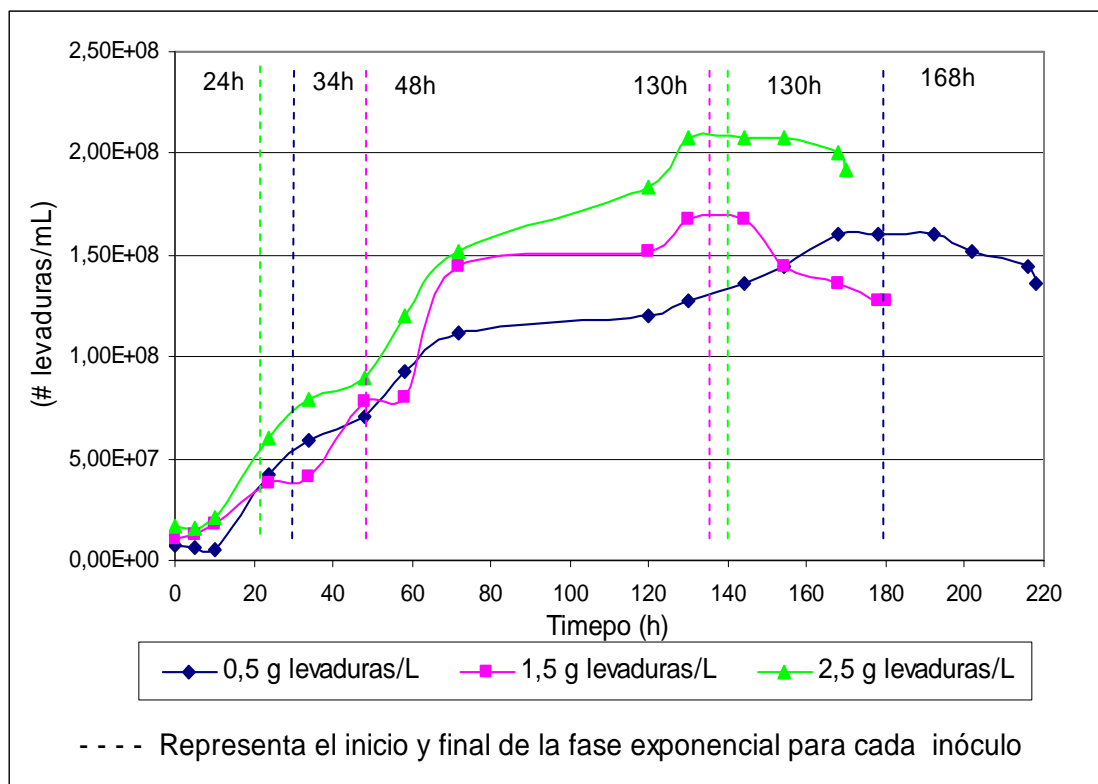


Figura 3.4. Curvas de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* para la mezcla “E” (60 % jícama – 40 % manzana)

El inicio de la fase exponencial logarítmica para el inóculo de menor concentración, es decir 0,5 g/L, se presentó a las 34 horas, para el inóculo de 1,5 g/L, a las 48 horas y para el de mayor concentración de 2,5 g/L, a las 24 horas, mientras que el final de la misma es igual a 130 horas para los inóculos de 1,5 g/L y 2,5 g/L y 168 horas para el inóculo de 0,5 g/L. Además, se puede observar que la fase de latencia tuvo una duración de 15 horas, aproximadamente, en todos los tratamientos y la fase estacionaria presentó una duración muy corta.

Con respecto al crecimiento microbiano, se generó una mayor población al utilizar el inóculo de 2,5 g/L, seguido del uso del inóculo de 1,5 g/L y finalmente la menor cantidad de levaduras por mililitro de mezcla, se presentó con el inóculo de 0,5 g/L.

3.3.2.1 Velocidad de crecimiento de levaduras

En la figuras 3.5 y 3.6 se presentan las linealizaciones de las fases de crecimiento exponencial para las mezclas “D” y “E”, respectivamente, para las diferentes concentraciones de inóculo 0,5 g /L, 1,5 g/L y 2,5 g/L.

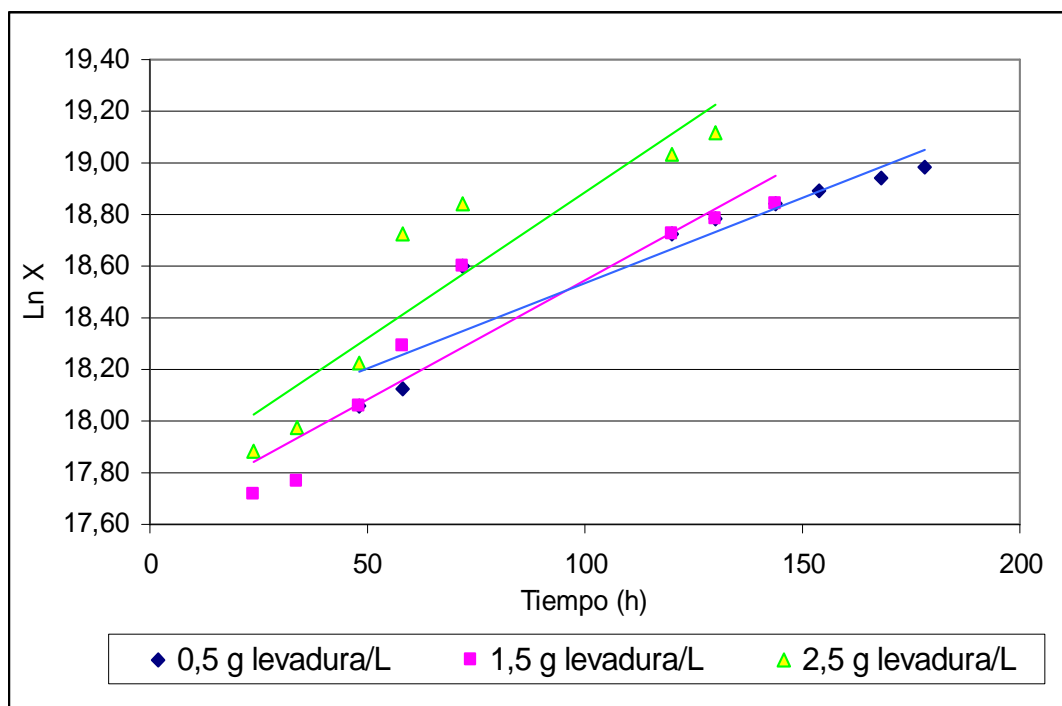


Figura 3.5. Linealización de la fase de crecimiento exponencial o logarítmica de la mezcla “D”, con tres diferentes concentraciones de inóculo

Entre los principales factores que afectan el crecimiento de las levaduras están el pH y la temperatura, los mismos que fueron controlados en todos los tratamientos y se mantuvieron entre 3,5 y 4,5; y 17 y 18 °C respectivamente.

Como se puede observar en la mezcla “D”, los tres porcentajes de inóculo presentan un crecimiento similar en la fase exponencial, sin embargo el tiempo de fermentación es mayor en el menor porcentaje de inóculo 0,5 g/L, seguido del inóculo de 1,5 g/L y finalmente el inóculo de 2,5 g/L.

En la mezcla “E” ocurre un comportamiento similar al observado en la linealización de las curvas para la mezcla “D”.

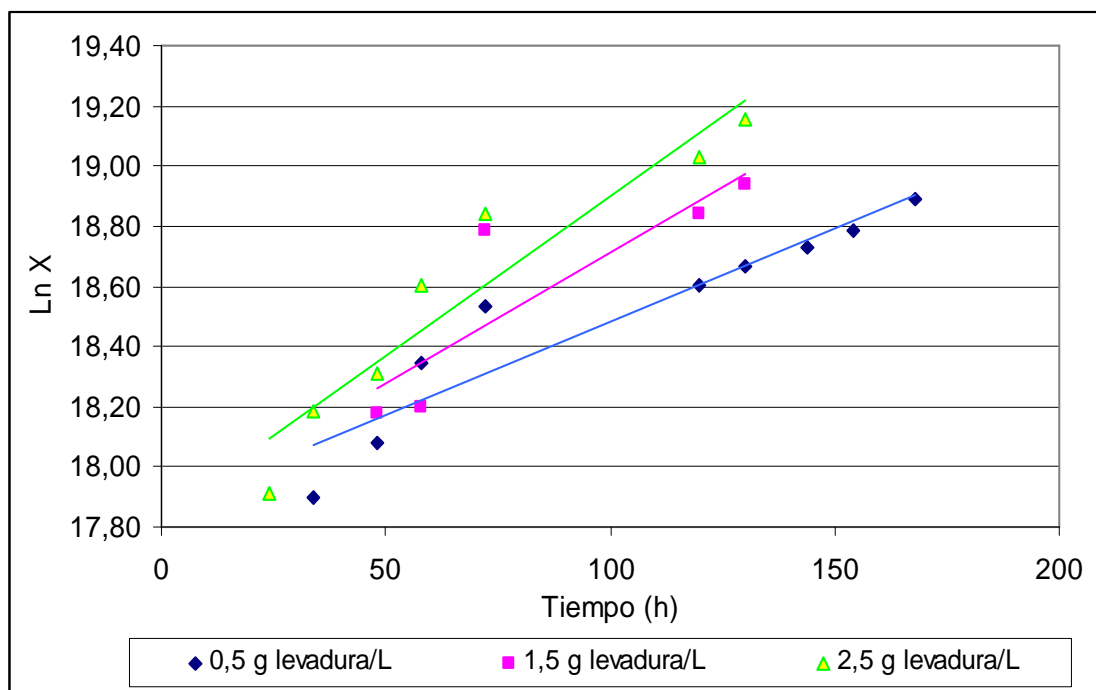


Figura 3.6. Linealización de la fase de crecimiento exponencial o logarítmica de la mezcla “E”, con tres diferentes concentraciones de inóculo

Para la mezcla “E”, el menor tiempo de crecimiento celular se presentó en el inóculo de 1,5 g/L, seguido del inóculo de 2,5 g/L y, finalmente, el de menor concentración 0,5 g/L.

Las velocidades máximas de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, en las mezclas “D” y “E”, con concentraciones de inóculo de 0,5 g/L, 1,5 g/L y 2,5 g/L se muestran en la tabla 3.8.

Tabla 3.8. Velocidades máximas de crecimiento de levadura *Saccharomyces cerevisiae* en las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo.

Concentración de Inóculo	Porcentaje de mezclas	Velocidad máxima de crecimiento (h^{-1})
(0,5 g/L)	D	7,13 E -03
	E	7,41 E -03
(1,5 g/L)	D	9,33 E -03
	E	9,29 E -03
(2,5 g/L)	D	1,16 E -02
	E	1,17 E -02

D: 70 % jícama – 30 % manzana.

E: 60 % jícama – 40 % manzana.

En la figura 3.7 se presenta la comparación de las velocidades máximas de crecimiento entre las mezclas “D” y “E”, para las diferentes concentraciones de inóculo utilizadas.

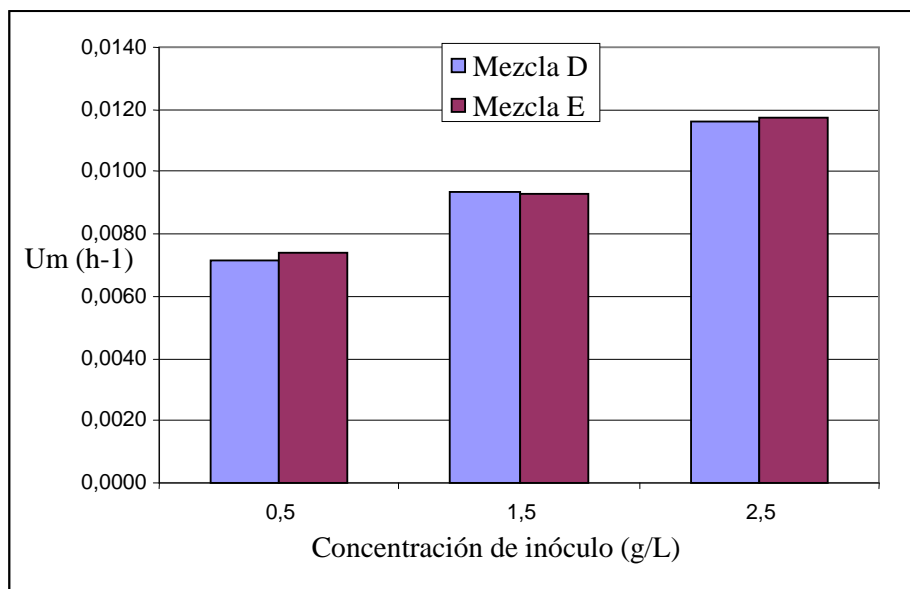


Figura 3.7. Comparación de las velocidades máximas de crecimiento para las mezclas “D” y “E” para tres diferentes concentraciones de inóculo

Las velocidades máximas de crecimiento fueron similares para las mezclas “D” y “E” para cada concentración de inóculo y, además, se alcanzaron mayores velocidades de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, con una mayor concentración inicial de inóculo. Contrariamente, a menor concentración de inóculo, la velocidad de crecimiento de levadura fue menor. Esto puede deberse, principalmente, a que en la fase exponencial logarítmica, la velocidad máxima de crecimiento aumentó en forma proporcional a la concentración inicial de inóculo, es decir, que una mayor cantidad de inóculo, produjo una mayor población de levaduras en un menor tiempo, y se generó así, una mayor velocidad de crecimiento.

3.3.2.2 Tiempo de duplicación de levaduras

En la tabla 3.9 se presentan los tiempos de duplicación de levaduras para las mezclas “D” y “E”, con inóculos de 0,5 g/L, 1,5 g/L y 2,5 g/L. Según Scriban, 1985, el tiempo de duplicación es, aproximadamente, el mismo para todas las células de

una determinada población y aumenta antes de que el crecimiento se detenga. Además, es un parámetro indicativo inverso de la rapidez con que crece la levadura durante la fermentación.

Tabla 3.9. Tiempo de duplicación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* en las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo.

Concentración de Inóculo	Porcentaje de mezclas	Tiempo de duplicación
(0,5 g/l) ^c	D ^c	97 h y 08 min
	E ^c	93 h y 25 min
(1,5 g/l) ^b	D ^b	74 h y 27 min
	E ^b	74 h y 34 min
(2,5 g/l) ^a	D ^a	59 h y 40 min
	E ^a	59 h y 10 min

D: 70 % jícama – 30 % manzana.

E: 60 % jícama – 40 % manzana.

* Los superíndices para la columna 1 y 2 indican diferencia significativa al 5 % ($p < 0,05$). La letra a y la letra a' son los mejores tratamientos.

Como se puede observar, los tiempos de duplicación fueron distintos, de acuerdo con la concentración inicial de inóculo, el mayor tiempo de duplicación, superior a 90 horas, correspondió al inóculo de 0,5 g/L, seguido del inóculo de 1,5 g/L, con tiempos superiores a las 70 horas y, por último, los tiempos más cortos se obtuvieron con el inóculo de 2,5 g/L, inferiores a 60 horas.

El análisis estadístico mostró que existieron diferencias significativas a nivel de 5%, para el tiempo de duplicación, entre las distintas concentraciones de inóculo y, a su vez, evidenció que no existieron diferencias significativas a nivel de 5% para los porcentajes de mezcla “D” y “E”.

Debido a que el tiempo de generación o duplicación es un parámetro inverso de la velocidad, se puede decir que, las poblaciones con mayor tiempo de duplicación, correspondieron al uso de inóculos de 0,5 g/L y 1,5 g/L, y presentaron también una menor velocidad de crecimiento y el uso de una concentración de inóculo de 2,5 g/L presentó la mayor velocidad de crecimiento. Además, se observó que los tiempos de duplicación fueron altos en todos los casos. Esto puede deberse,

principalmente, a que las levaduras son organismos anaerobios facultativos y se desarrollan más lentamente en ausencia de oxígeno.

3.3.2.3 Tasa de rendimiento del producto

Los resultados de la tasa de rendimiento de producto de las mezclas “D” y “E”, con inóculos de 0,5 g/L, 1,5 g/L y 2,5 g/L, se muestran en la tabla 3.10. En el caso de fermentación alcohólica por levadura *Saccharomyces cerevisiae*, los productos obtenidos son etanol y agua. Para elaborar una bebida fermentada el producto de interés será el etanol, por esta razón los resultados obtenidos muestran el rendimiento de etanol en el proceso fermentativo.

Tabla 3.10. Tasa de rendimiento de etanol en las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo.

Concentración de Inóculo	Porcentaje de Mezclas	Tasa de rendimiento de etanol (g _e /g _s)
(0,5 g/L) ^a	D ^a	0,46
	E ^a	0,46
(1,5 g/L) ^a	D ^a	0,48
	E ^a	0,47
(2,5 g/L) ^b	D ^b	0,42
	E ^b	0,40

D: 70 % jícama – 30 % manzana.

E: 60 % jícama – 40 % manzana.

* Los superíndices para la columna 1 y 2 indican diferencia significativa al 5 % (p < 0,05). La letra a' y la letra a' son los mejores tratamientos.

Se alcanzaron mejores rendimientos con el uso del inóculo de 1,5 g/L, seguido del uso del inóculo de 0,5 g/L y los rendimientos más bajos fueron los correspondientes al uso del inóculo de 2,5 g/L. Esto puede deberse a que, a una mayor concentración inicial, existe una mayor competitividad celular por los nutrientes y la fuente de carbono (azúcares reductores) se agota más rápidamente, debido a la mayor población celular, y se origina un proceso más veloz, pero no necesariamente eficiente. Al analizar estadísticamente el rendimiento de etanol para los diferentes porcentajes de mezcla, se pudo observar que se obtuvieron rendimientos similares, que además, no presentaron diferencias significativas a nivel de 5 %, para las concentraciones de inóculo de

0,5 g/L y 1,5 g/l. Además, el porcentaje de mezcla, no tuvo interferencia significativa en el rendimiento de etanol en el proceso fermentativo.

3.3.2.4 Velocidad de generación de alcohol etílico

En la tabla 3.11, se presentan los resultados de la velocidad de generación de etanol en el proceso fermentativo en las mezclas “D” y “E”, al utilizar tres diferentes concentraciones de inóculo.

Tabla 3.11. Velocidad de generación de alcohol etílico en las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo.

Concentración de Inóculo	Porcentaje de mezclas	Velocidad de generación de etanol (g _p /g _s *h)
(0,5 g/l) ^c	D ^{c'}	1,54 E -02
	E ^{c'}	1,61 E -02
(1,5 g/l) ^b	D ^{b'}	1,95 E -02
	E ^{b'}	1,99 E -02
(2,5 g/l) ^a	D ^{a'}	2,74 E -02
	E ^{a'}	2,96 E -02

D: 70 % jícama – 30 % manzana.

E: 60 % jícama – 40 % manzana.

* Los superíndices para la columna 1 y 2 indican diferencia significativa al 5 % (p < 0,05). La letra a y la letra a' son los mejores tratamientos.

La velocidad de generación de alcohol etílico tiene un comportamiento similar a la velocidad de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, así, se midió una mayor velocidad con una mayor concentración de inóculo y, viceversa, a menor concentración de inóculo la velocidad fue menor.

Al analizar estadísticamente la velocidad de generación de alcohol etílico, se pudo observar que existieron diferencias significativas a nivel de 5 % para las diferentes concentraciones de inóculo, mientras que no se presentaron diferencias significativas entre los porcentajes de mezcla “D” y “E”.

La velocidad de generación de alcohol fue directamente proporcional a la concentración de inóculo y ambos parámetros estuvieron ligados al tiempo total de fermentación, sin embargo, los rendimientos de etanol, no fueron los

esperados con la utilización del inóculo de 2,5 g/L, en ambos porcentajes de mezcla.

3.3.2.5 Productividad de formación de etanol

La productividad en el proceso fermentativo se determinó como los gramos de etanol producidos por litro de mosto por hora y es el principal indicativo de la eficiencia del proceso. La tabla 3.12 indica la productividad de formación de etanol en las mezclas “D” y “E”, al utilizar tres diferentes concentraciones de inóculo. Se observa que se logró una mayor productividad con el uso de los inóculos de 1,5 g/L y 2,5 g/L, debido, principalmente, a los menores tiempos de fermentación que se requieren con estas concentraciones, mientras que con un menor porcentaje de inóculo, el tiempo de fermentación aumentó considerablemente y, por tanto, la productividad disminuyó.

Tabla 3.12. Productividad de formación de etanol en las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo.

Concentración de Inóculo	Porcentaje de mezclas	Productividad de formación de etanol (g _p /l×h)
(0,5 g/l) ^b	D ^b	0,2012
	E ^b	0,2172
(1,5 g/l) ^a	D ^a	0,2697
	E ^a	0,2590
(2,5 g/l) ^a	D ^a	0,2419
	E ^a	0,2393

D: 70 % jícama – 30 % manzana.

E: 60 % jícama – 40 % manzana.

* Los superíndices para la columna 1 y 2 indican diferencia significativa al 5 % (p < 0,05). La letra a y la letra a' son los mejores tratamientos.

El análisis estadístico evidenció que existieron diferencias significativas entre la menor concentración de inóculo, correspondiente a 0,5 g/L, y las dos concentraciones de inóculo restantes, correspondientes a 1,5 g/L y 2,5 g/L. Además, este análisis permitió establecer que no existieron diferencias significativas entre los porcentajes de mezcla “D” y “E”.

El tratamiento que obtuvo la mejor tasa de rendimiento y productividad en la formación de etanol fue el correspondiente al uso del inóculo de 1,5 g/l en la mezcla "D". Además, a estas condiciones se generan las mejores cualidades organolépticas en el producto final.

Según Scriban, 1985, la productividad es uno de los principales criterios para la evaluación del uso de diferentes concentraciones de inóculo en un proceso fermentativo.

El análisis estadístico ANOVA, realizado para el tiempo de duplicación de las levaduras, la tasa de rendimiento del producto, la velocidad de generación de alcohol etílico y la productividad de formación de etanol, se puede observar en el anexo VIII.2.

Los ejemplos de cálculo de los parámetros cinéticos analizados, tales como: velocidad de crecimiento de levaduras, tiempo de duplicación de levaduras, tasa de rendimiento del producto, velocidad de generación de alcohol etílico y productividad de formación de etanol, se encuentran en el anexo IX.

3.4 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DEL MOSTO CONFORMADO POR JÍCAMA *Smallanthus sonchifolius* Y MANZANA *Pyrus malus* L.

El tratamiento que obtuvo la mejor tasa de rendimiento, productividad en la formación de etanol y mejores características organolépticas de color aroma y apariencia fue el correspondiente a la fermentación de la mezcla "D" (70 % de jícama - 30 % de manzana) con el uso de 1,5 g de levadura *Saccharomyces cerevisiae* por litro de mosto, como inóculo. El proceso fermentativo se llevó a cabo con este tratamiento y tuvo una duración de 192 h. Como parámetros de control de la fermentación, se determinaron los Brix, pH y temperatura del mosto, cada 24 h, cuyos datos se presentan en la tabla 3.13.

Se puede observar, que el contenido de sólidos solubles iniciales fue de 12,88 °Brix, y descendió conforme avanzó el proceso fermentativo, hasta los 4,00 °Brix, instante en el cual se detuvo la fermentación. La medición de °Brix permitió monitorear el avance del proceso fermentativo con relación al tiempo.

Tabla 3.13. Parámetros de control del proceso fermentativo del mosto conformado por 70 % jícama y 30 % manzana

Tiempo	°Brix	pH	Temperatura	n
0	12,88 ± 0,25	4,17 ± 0,09	17,25 ± 0,50	4
24	9,50 ± 0,58	4,10 ± 0,20	18,25 ± 0,50	4
48	6,75 ± 0,50	4,00 ± 0,17	18,50 ± 0,58	4
72	5,75 ± 0,50	3,86 ± 0,16	17,75 ± 0,50	4
96	5,50 ± 0,58	3,59 ± 0,11	17,25 ± 0,50	4
120	5,25 ± 0,50	3,55 ± 0,16	17,25 ± 0,50	4
144	4,75 ± 0,50	3,47 ± 0,16	17,50 ± 0,58	4
168	4,25 ± 0,50	3,36 ± 0,15	17,50 ± 0,58	4
192	4,00 ± 0,25	3,24 ± 0,12	17,25 ± 0,50	4

El pH inicial del mosto de la mezcla “D” es igual a 4,17. A este valor de pH las levaduras pueden realizar la fermentación y el riesgo de proliferación de bacterias es bajo. Se observó que durante la fermentación los valores de pH descendieron, esto, probablemente, por la formación de diferentes ácidos en pequeñas cantidades, principalmente, el ácido málico, el ácido láctico y el ácido acético. La temperatura se encontró entre 17,00 y 18,25 °C, que es un rango correspondiente a la temperatura ambiental de Quito en el período en el cual se llevó a cabo la fermentación. Al final del proceso fermentativo, se determinó la graduación alcohólica de la bebida, que alcanzó un valor de 6,13 °G.L., es decir se obtuvo una bebida alcohólica fermentada de moderación, de bajo grado alcohólico.

3.5 OPERACIONES DE PREPARACIÓN DEL PRODUCTO FINAL

3.5.1 TRASIEGOS DEL PRODUCTO FINAL

Los trasiegos realizados permitieron separar la biomasa y las partículas sedimentadas, producidas por la acción de las levaduras en el mosto de la bebida

alcohólica fermentada. Para evaluar la eficiencia de los diferentes trasiegos, se realizó la medición de la turbidez y se determinó el rendimiento del proceso como se describe en la tabla 3.14.

Tabla 3.14. Turbidez y rendimiento de la bebida alcohólica fermentada en el trasiego

Operación de preparación	Turbidez (NTU)	n	Rendimiento
Trasiego de limpieza	138,0 ± 3,6	3	90,63 %
Primer trasiego	83,3 ± 4,7	3	87,50 %
Segundo trasiego	58,3 ± 3,5	3	85,94 %

Se puede observar que los niveles de turbidez, reportados como NTU (unidad nefelométrica de turbiedad), descendieron considerablemente de un trasiego a otro y, finalmente, después de un mes de reposo y dos trasiegos, la turbidez tuvo una medición de 58,3 NTU.

Según Scriban, 1985, la limpidez es un parámetro importante en la determinación de la calidad, pues un vino excesivamente turbio, es rugoso y sin armonía en su degustación y, al contrario, mientras más translucido se encuentre el producto, parece más afinado y suavizado.

El nivel aceptable de turbidez en un vino blanco joven se encuentra entre 15 y 30 NTU. La operación de trasiego permitió reducir considerablemente el nivel de partículas sedimentadas y la biomasa presentes en el producto, sin embargo, no permitió alcanzar niveles aceptables de turbiedad.

Se partió de 16,00 L de mosto en la fermentación alcohólica. Una vez realizado el trasiego de limpieza se obtuvieron 14,50 L, es decir se obtuvo un rendimiento de 90,63 %. Después del primer trasiego, se obtuvieron 14,00 L (87,50 % de rendimiento) y, finalmente, tras el segundo trasiego se obtuvieron 13,75 L de bebida alcohólica (85,94 % de rendimiento), con respecto al volumen inicial de mosto a fermentarse.

Durante la operación de separación de biomasa, se analizaron el pH y los °Brix, y se obtuvo valores similares a los reportados en el proceso de fermentación, un valor de pH 3,20 y una medida de °Brix de 4, esto debido a que durante esta operación, la composición de la bebida no varió, sino la apariencia del producto.

3.5.2 CLARIFICACIÓN

Una vez finalizada la operación de trasiego de la bebida alcohólica fermentada, se realizó el proceso de clarificación para arrastrar todas las partículas sedimentadas en el recipiente y, además, disminuir la turbidez del producto, para así mejorar su calidad y apariencia. Los resultados determinaron que la turbidez descendió y, finalmente, se ubicó en 27 NTU, es decir el producto alcanzó un valor dentro del rango de nivel aceptable según Wagner, 2006. El rendimiento en esta etapa fue de 82,81 %, pues el volumen final fue de 13,25 L al término del proceso de clarificación.

Para alcanzar estos resultados en el proceso de clarificación se agregaron gelatina sin sabor y bentonita como se describe en el acápite 2.6.4, con lo cual se consiguió la coagulación y floculación de los sólidos suspendidos; al arrastrar por acción físico-química, los compuestos coloidales presentes en la bebida fermentada.

3.5.3 PASTEURIZACIÓN Y EMBOTELLAMIENTO

Como etapas finales de preparación del producto final, se realizaron la pasteurización y embotellamiento de la bebida fermentada. La pasteurización se llevó a cabo mediante la aplicación de calor al producto por debajo de su punto de ebullición, 65 °C durante 5 minutos, con la finalidad de disminuir el número de microorganismos presentes y, así, garantizar la inocuidad y estabilidad de la bebida.

La bebida alcohólica fermentada fue sometida a un proceso de reposo o envejecimiento de un mes, para que adquiriera mejores características organolépticas. La tabla 3.15 presenta los resultados de pH, azúcares reductores, acidez total y acidez volátil, en comparación con rangos deseables de una bebida alcohólica fermentada tipo vino según Pérez, 2006.

Tabla 3.15. Comparación de los parámetros de control en el proceso de reposo o envejecimiento de la bebida alcohólica fermentada conformada por 70 % jícama y 30 % manzana y los rangos deseables en una bebida alcohólica fermentada tipo vino

Parámetro	Resultados	n	Rango comparativo*
pH	3,15 ± 0,053	5	3,00 – 4,50
Azúcares reductores (g/L)	1,17	2	1,00 – 2,00
Acidez total (g/1000 cm ³)	3,65	2	3,00 – 8,00
Acidez volátil (g/1000 cm ³)	0,23	1	0,20 - 2,00

* Pérez, 2006.

El proceso de envejecimiento es muy corto en comparación con el período común de envejecimiento de vinos, el cual suele ser de uno a dos años, sin embargo, las características físico-químicas analizadas se encuentran dentro de los rangos deseables de una bebida alcohólica fermentada tipo vino según Pérez, 2006. El rendimiento final alcanzado tras todas las etapas de preparación del producto final fue de 81,25 %, con un volumen final de 13,00 L.

3.6 CARACTERIZACIÓN FÍSICO - QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DEL PRODUCTO FINAL OBTENIDO

Los resultados de la caracterización físico-química del producto final se muestran en la tabla 3.16. Se puede observar que el contenido de sólidos solubles, expresados como Brix, no varía desde el final de la fermentación hasta el embotellamiento y se mantiene en 4 Brix. Además, el pH es ácido e igual a 3,15,

lo que indica que durante la fermentación se formaron pequeñas cantidades de sustancias ácidas, y así, se creó un ambiente hostil para el desarrollo microbiano. La turbidez en el producto final se ubicó en 26 NTU, es decir se encontró en el rango de nivel aceptable de 15 a 30 NTU, según Wagner, 2006. La densidad relativa del producto fue de 0,998.

Tabla 3.16. Caracterización físico-química de la bebida alcohólica fermentada conformada por 70% de jícama y 30% de manzana

Parámetro	Unidad	Resultado
°Brix	(adimensional)	4,00
pH	(adimensional)	3,15
Turbidez	NTU	26,0
Densidad relativa	(adimensional)	0,998
Extracto seco	g/L	21,00
Azúcares reductores	g/L	1,15
Azúcares totales	%	0,20
Grado alcohólico	°G.L.	6,00
Acidez total	g/1000 cm ³	3,70
Acidez volátil	g/1000 cm ³	0,20
Sulfatos	mg/L	148,00
Fosfatos	mg/L	0,28
Cloruros	mg/L	23,30

Según Covas, 2004 y Pérez, 2006, el extracto seco en una bebida fermentada, expresa la cantidad de materias disueltas que no se evaporan. Entre los principales constituyentes de este extracto seco se encuentran la glicerina, ácidos fijos y azúcares residuales. Este parámetro es muy importante, pues bajas cantidades de estas materias, originan una bebida pobre y ligera al paladar, mientras que, cantidades muy elevadas son propias de una bebida ordinaria. El rango óptimo para un vino de buenas características es de 18 – 27 g/L. El producto final obtenido tuvo una concentración de 21 g/L de extracto seco, es decir, se encontró dentro del rango aceptable de una bebida alcohólica de calidad.

El contenido de azúcares reductores en el producto final, fue inferior a 2,0 g/L, por esta razón se puede decir que en la fermentación se consumieron la mayor parte de azúcares, y se produjo una bebida seca o agotada de azúcares reductores.

El grado alcohólico alcanzado fue de 6,00 °G.L. Según la definición de Covas, 2004, el producto final producido por fermentación de jugo de jícama y manzana, fue una bebida alcohólica "Light" o de baja graduación, además, no se podría considerar al producto como una bebida alcohólica tipo vino, pues la norma INEN 360 indica que este tipo de bebidas presentan un rango de 8,00 - 18,00 °G.L.

Según Covas, 2004 y Pérez, 2006, la acidez total y volátil, en el análisis de una bebida alcohólica fermentada, es un indicativo de la calidad y el sabor del producto final, porcentajes muy elevados de ácido acético "volátil", provocan un sabor desagradable en la bebida, mientras que, porcentajes muy bajos de acidez total, originarían una bebida insípida e inestable.

La norma INEN 341 indica rangos de 3,0 - 7,0 g/L para la acidez total, y 0,2 - 1,0 g/L para la acidez volátil. En la tabla 3.16, se puede observar que ambos parámetros se encontraron en los rangos aceptables, por esta razón, se garantiza la calidad y sabor del producto.

Los contenidos de sulfatos, fosfatos y cloruros, determina el contenido de sales en el vino. Estos valores no deben exceder el rango de 2 - 4 g/L, pues ocasionan un sabor desagradable en la bebida alcohólica fermentada. En la tabla 3.16 se observa que los contenidos de estas tres sustancias, fueron mucho menores a los límites permisibles, por lo que, significa que no determinaron interferencias en el sabor de la bebida.

En la tabla 3.17 se muestran los resultados de los análisis microbiológicos realizados en la bebida alcohólica fermentada de jícama y manzana. Se puede observar que todos los valores fueron menores a 1, lo cual fue indicativo de un correcto desarrollo del proceso de pasteurización.

Tabla 3.17. Análisis microbiológico de la bebida alcohólica fermentada conformada por jícama y manzana

Parámetro	Unidad	Resultado
Bacterias Totales	ufc/mL	< 1
Bacterias Acéticas	ufc/mL	<1
Mohos y levaduras	upc/mL	<1
Lactobacillus spp.	ufc/mL	<1

Los análisis microbiológicos, muestran que el producto final se encontró libre del ataque bacteriano, tanto de bacterias totales como de bacterias acéticas, así como de la proliferación de mohos y levaduras. Estos resultados garantizaron la inocuidad y estabilidad de la bebida alcohólica.

La caracterización físico-química y microbiológica realizada en la bebida alcohólica fermentada de jícama y manzana, mostró un producto de buenas características, de alta calidad, estable, inocuo y que se ajustó a las normas INEN 360 y 341 para vinos en Ecuador que, además, pudo ser catalogada dentro de las bebidas de moderación de bajo grado alcohólico.

Los resultados de los análisis físico-químicos y microbiológicos realizados en los laboratorios OSP de la Universidad Central del Ecuador y laboratorio LASA de la ciudad de Quito se pueden observar en el anexo X.

3.7 ANÁLISIS SENSORIAL DE ACEPTABILIDAD DEL PRODUCTO FINAL

Los resultados del análisis sensorial de aceptabilidad del producto final se presentan en la tabla 3.18. Como se puede observar, tanto el aroma como el color obtuvieron la mejor calificación con promedios de 6,10 y 6,00, respectivamente, es decir, una aceptación de “muy bueno” para el panel que realizó la evaluación.

Tabla 3.18. Resultados del análisis sensorial de aceptabilidad del producto final.

Parámetro	Total de Calificaciones	Promedio Calificaciones	n
Color	184	6,10 ± 0,68	30
Aroma	180	6,00 ± 0,64	30
Sabor	166	5,50 ± 0,82	30
Apariencia	168	5,60 ± 0,77	30
Producto en general	180	6,00 ± 0,70	30

Además, el sabor y la apariencia muestran promedios de 5,50 y 5,60, respectivamente, lo que indica que el producto tuvo una aceptación entre “bueno” y “muy bueno”, para estos parámetros. El análisis de aceptabilidad muestra que en promedio de todos los atributos, se puede otorgar una calificación de 6,00 a la bebida alcohólica fermentada, correspondiente a un nivel de aceptación de “muy bueno” por parte de los 30 miembros que realizaron la evaluación.

Todos los atributos de evaluación en el producto final, obtuvieron una calificación mayor que 4 por cada miembro, lo que indica, que ningún parámetro fue considerado “malo” o “muy malo” y, por tanto, se puede decir que la bebida tuvo una buena aceptación por parte de los panelistas que, a su vez, son potenciales consumidores del producto.

La figura 3.8, muestra el porcentaje de aceptabilidad del producto en el análisis sensorial, realizado a 30 panelistas. Como se puede observar, un 80 % de los evaluadores atribuyeron la calidad de “muy bueno” al producto final, 10 % “excelente” y 10 % de “bueno”. Es decir, existe un nicho de consumidores que muestran aprecio por la combinación de sabores y olores de la bebida alcohólica fermentada de jícama y manzana.

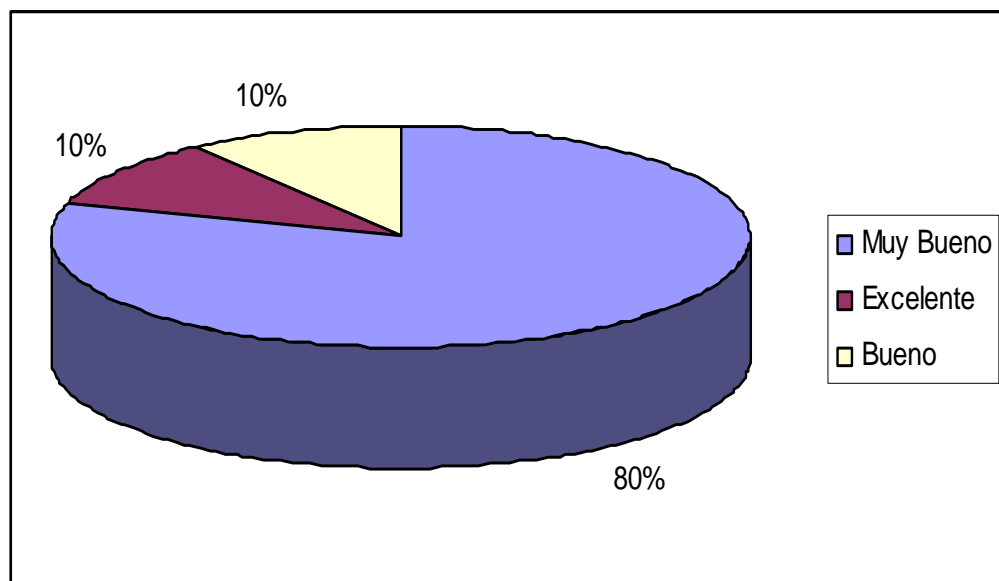


Figura 3.8. Aceptabilidad de la bebida alcohólica fermentada de jícama y manzana

Los resultados de la evaluación del test hedónico de 7 puntos realizada entre los panelistas para determinar la aceptabilidad del producto final, se pueden observar en el anexo XI.

3.8 ANÁLISIS FINANCIERO DE PREFACTIBILIDAD PARA LA ELABORACIÓN DEL PRODUCTO FINAL

Para realizar el análisis de prefactibilidad de elaboración de una bebida de baja graduación alcohólica de 70 % de jícama y 30 % de manzana, se realizaron las siguientes consideraciones:

La cantidad de materia prima que se procesará mensualmente corresponde a la disponibilidad de una hectárea de jícama, con un rendimiento de 35 Ton/año, y la cantidad de manzana que se necesita para elaborar la bebida, de acuerdo con el tratamiento que obtuvo las mejores características en el estudio realizado, correspondiente al 30 % restante, será de 16 Ton/año, al considerar el 2 % de pérdidas en la etapa de limpieza y selección.

Se utilizó una concentración de inóculo de 1,5 g de levadura por litro de mosto, es decir se necesitan 53 kg de inóculo por año, al tomar en cuenta que el extractor de jugo que se utilizó en el proceso tiene una eficiencia del 70 % y se obtiene un volumen aproximado de 35 000 L de mosto al año, para fermentarse.

El precio de la jícama y manzana fue el estimado de acuerdo con los gastos que origina el cultivo en hacienda de estas materias primas en el Ecuador, con este criterio el precio es de 0,20 USD y 0,33 USD por kg, respectivamente. El valor de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* corresponde al valor comercial de la misma en la ciudad de Quito y es de 3,15 USD por cada kg.

El proceso de esterilización de las materias primas no fue considerado en el análisis de prefactibilidad, puesto que su realización, originaría un elevado costo de producción en el proceso y, además, podría afectar las características organolépticas del producto final.

Los costos de mano de obra se consideraron como 200 USD para el personal no calificado, 250 USD para el personal semi-calificado y 450 USD para el personal calificado. En el proyecto propuesto laborarán 8 personas no calificadas, 2 personas semi-calificadas y 3 personas calificadas.

Para satisfacer la producción se planteó el siguiente esquema de producción.

- La planta producirá y trabajará 7 días a la semana.
- Además cada día se trabajará en 3 turnos con un turno de descanso. (cada turno de trabajo corresponderá a 8 horas laborables)
- Quedará libre un turno el fin de semana como descanso y un turno en que se realice limpieza profunda, para garantizar la inocuidad y calidad del producto final.

Con el uso de este esquema, se tendrán 19 turnos productivos a la semana de 7 horas efectivas cada turno, es decir 133 horas semanales.

La maquinaria y los equipos fueron diseñados para satisfacer la producción mensual de aproximadamente 3 000 L, al igual que las bodegas y áreas de trabajo en la planta. Las áreas correspondientes serán de 100 m² de fábrica, 100 m² de bodegas de almacenamiento, 30 m² de oficinas y 20 m² adicionales ocupados por baños, pasillos y reservorios.

Se estimó una eficiencia del 84 % en todas las operaciones de preparación del producto final, como se muestra en la figura 3.9, con un volumen final calculado de 29 294 L de bebida de bajo grado alcohólico al año, o 39 000 botellas de 750 mL cada una.

En la figura 3.9, se observan las distintas etapas que intervienen en el proceso de elaboración de una bebida alcohólica fermentada conformada por 70 % de jícama y 30 % de manzana, que se basan en los análisis realizados a nivel de laboratorio y que se presentaron en el capítulo 3.5. Además, se observa el balance de masa del proceso.

Para la elaboración de 100 L diarios de una bebida alcohólica fermentada conformada por 70 % de jícama y 30 % de manzana, se necesitan una despulpadora de 50 kg/hora, y dos extractores de jugo semi-industrial de similar capacidad a la despulpadora en la etapa de extracción de jugo, para satisfacer la producción mensual de 1 600 kg de manzana y 3 500 kg de jícama.

En la etapa de fermentación, se necesitan tanques de fermentación con una capacidad mínima de 150 L y, además, para realizar los trasiegos y clarificación a la bebida fermentada, es necesario tanques de acero inoxidable de 100 L. En estas etapas del proceso, es necesario al menos 10 tanques para fermentación y 15 tanques para los trasiegos, pues la etapa de fermentación tarda alrededor de 10 días, y a su vez, la etapa de trasiegos tarda alrededor de 15 días.

Para pasteurizar el producto elaborado, se utiliza un pasteurizador de placas de 250 L de capacidad y, finalmente, una embotelladora para finalizar el proceso de producción de la bebida fermentada de jícama y manzana.

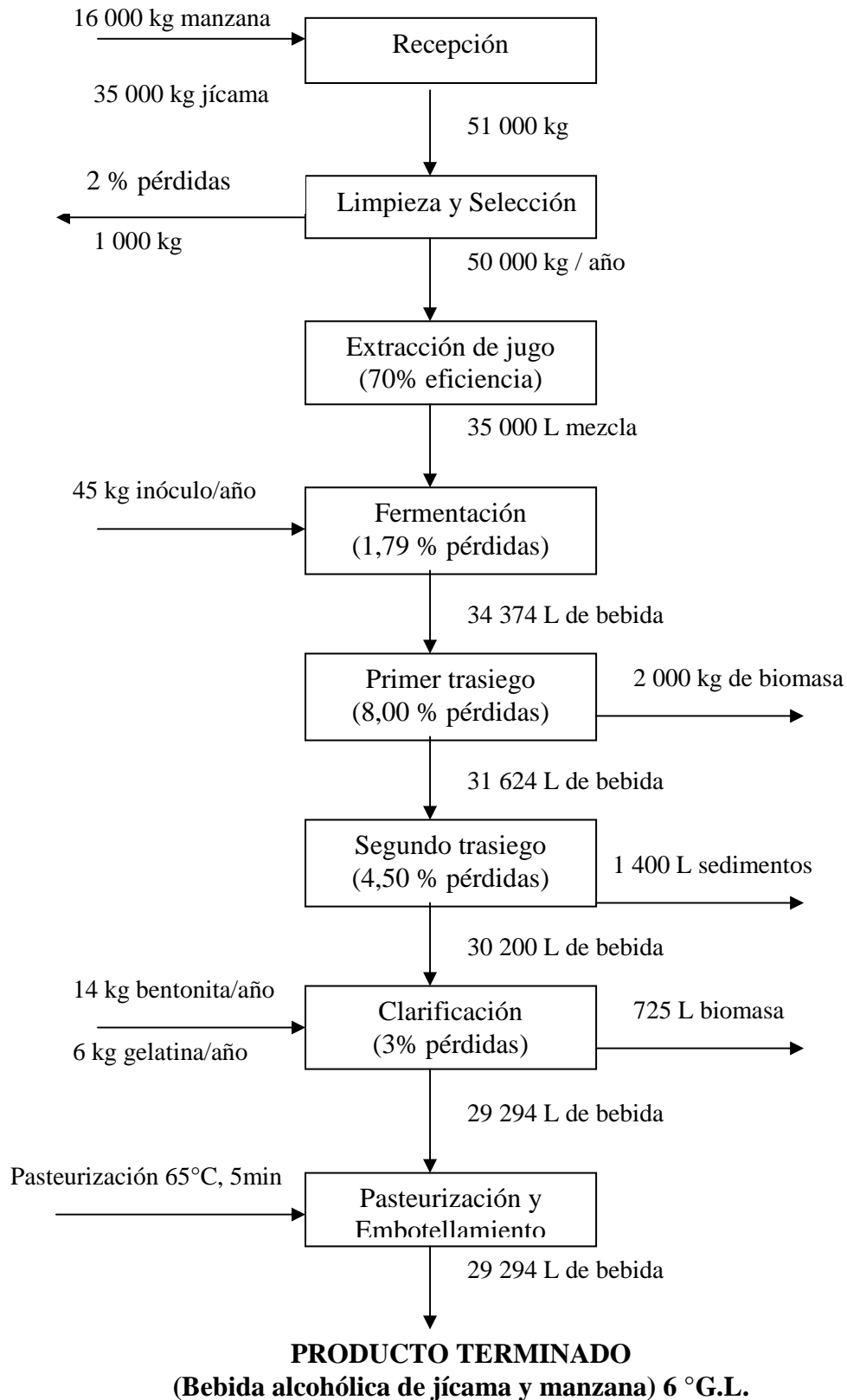


Figura 3.9. Proceso de elaboración de una bebida de baja graduación alcohólica de jícama y manzana.

Como equipos complementarios para el funcionamiento de las instalaciones y la distribución de energía, se prevé el uso de una centrifugadora de 8 Hp, un caldero de 10 BPH y dos bombas centrífugas. Además, se emplearán 2 marmitas de 100 L y tanques de 50 L de capacidad, como equipos adicionales.

En la tabla 3.19 se muestra el detalla de la inversión en la planta de fabricación de una bebida de bajo grado alcohólico de jícama y manzana, que considera la compra de estos equipos y otro equipamiento adicional.

Tabla 3.19. Inversiones para la fabricación de una bebida de bajo grado alcohólico de 70 % jícama y 30 % manzana.

<u>MAQUINARIA Y EQUIPO</u> <u>DENOMINACIÓN</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Valor Unitario</u> <u>(USD)</u>	<u>Valor Total</u> <u>(USD)</u>
Equipo de Producción (importado y nacional)			
Despulpadora	1	6 000	6 000,00
Extractor de jugo semi-industrial	2	2 500	5 000,00
Centrifugadora 8 HP	1	5 000	5 000,00
Tanques para fermentación de 250 L	10	700	7 000,00
Tanques para trasiegos de 100 L	15	500	7 500,00
Pasteurizador continuo a placas 250 L	1	10 000	10 000,00
Tanques plásticos 50 L	5	25,00	125,00
Caldero 10 BHP	1	4 592	4 592,00
Bomba centrífuga	2	229	458,00
Embotelladora	1	14 000	14 000,00
Balanza 500 kg	4	495	1 980,00
Marmita 100 L	2	1 600	3 200,00
Termómetro	1	14,30	14,30
pH- metro	1	97,09	97,10
Refractómetro PCE Oe Viticultores	1	70,00	70,00
Gastos de Instalación y Montaje (Eq. Aux)	2	5 000	10 000,00
<u>SUBTOTAL</u>			75 036,40
<u>TERRENO Y CONSTRUCCIONES</u>			
Terreno	150,00	50,00	7 500,00
Fábrica y bodegas	50,00	100,00	5 000,00
Oficinas	30,00	160,00	4 800,00
Exteriores y cerramiento	-	-	-
Bodegas almacenamiento	50,00	100,00	5 000,00
Vestidores y baños	12,00	100,00	1 200,00
Reservorio de agua	8,00	50,00	400,00
<u>SUBTOTAL</u>			23 900,00

Tabla 3.19. Inversiones para la fabricación de una bebida de bajo grado alcohólico de 70 % jícama y 30 % manzana (**continuación...**)

<u>OTROS ACTIVOS</u>		
Computadora para oficina		2 000,00
Equipos y muebles de oficina		2 000,00
Mejoras en infraestructura de la planta		800,00
Stock de repuestos equipos		1 000,00
Imprevistos 5%		4 947,80
<u>SUBTOTAL</u>		10 746,80
<u>CAPITAL DE OPERACIÓN</u>		
	<u>Tiempo</u> (meses)	<u>USD</u>
Materiales directos	2	2 074,00
Mano de obra directa	2	2 000,00
Carga fabril	2	2 696,00
Gastos de administración	2	300,00
Gastos de venta	2	1 000,10
Cuentas por cobrar	2	11 392,00
<u>SUBTOTAL</u>		19 462,10
<u>INVERSIÓN TOTAL</u>		129 145,30 USD

Como se puede observar, el monto de inversión es de 129 145 USD, correspondiente a los activos fijos y al capital de operación. La maquinaria y equipos utilizados en el proceso representan aproximadamente el 58 % del total de las inversiones y el terreno el 18 %. Es decir los activos fijos representan alrededor del 75 % de la inversión para la planta de procesamiento planteada.

Además, se observa que los gastos administrativos y gastos de venta están incluidos dentro de los rubros que forman parte del capital de operación, considerados rubros importantes que deben estar previstos dentro de la inversión, en la formación de una empresa.

La tabla 3.20 muestra los parámetros que corresponden a los costos de producción de la bebida alcohólica fermentada, en la planta de producción de capacidad instalada de 29 300 L/año de mezcla de jícama y manzana.

Tabla 3.20. Costos de producción de una bebida de bajo grado alcohólico de 70 % jícama y 30 % manzana.

<u>COSTOS DE PRODUCCIÓN</u>			
		<u>USD</u>	<u>%</u>
Materiales directos		12 447,00	24,3
Mano de obra directa		12 000,00	23,4
Carga fabril			
a) Mano de obra indirecta		-	0,0
b) Materiales indirectos		8 314,00	16,2
c) Depreciación		10 082,00	19,7
e) Suministros		4 650,00	9,1
d) Reparación y mantenimiento		2 935,00	5,7
f) Seguros		-	0,0
g) Imprevistos		779,00	1,5
<u>TOTAL</u>		51 207,00	100,0
unidades producidas		39 058	
Costo de producción promedio por unidad (USD)		1,31	

El costo de producción anual de la bebida alcohólica de jícama y manzana es de \$ 51 207,00, con lo cual se producen aproximadamente 29 300 L de bebida, y se alcanza un costo unitario de producción de 1,31 USD.

Con base en el costo de producción, se determinó el precio de venta del producto, y se procura alcanzar niveles de rentabilidad aceptables. En el estudio realizado se definió un precio de venta de 3,50 USD y se determinó el estado de pérdidas y ganancias y la rentabilidad del proyecto.

En la tabla 3.21 se muestra el detalla del estado de pérdidas y ganancias en el proceso planteado y el punto de equilibrio.

Como se puede observar, existe una utilidad neta antes del impuesto a la renta de 44 254,00 USD anuales, al considerar un 18% de reparto a los trabajadores de la empresa.

Tabla 3.21. Estado de perdidas y ganancias en el proceso fabricación de una bebida de bajo grado alcohólico de 70 % jícama y 30 % manzana

ESTADO DE GANANCIAS Y PÉRDIDAS		
	Valor (USD)	%
Ventas netas	136 703,00	100,0
Costo de producción	51 207,00	37,5
Utilidad bruta en ventas	85 496,00	62,5
Gastos de ventas	6 000,00	4,4
Utilidad neta en ventas	79 496,00	58,1
Gastos de administración y generales	25 528,00	18,7
Utilidad neta en operaciones	53 969,00	39,5
Gastos de financiamiento	-	0,0
	%	
Reparto de utilidades a trabajadores	18,0	9 714,00
Utilidad neta del período antes del impuesto sobre las utilidades	44 254,00	32,4
RENTABILIDAD ANTES DEL IMPUESTO A LA RENTA		
		%
Sobre el capital propio		34,27
Sobre la inversión total		34,27
PUNTO DE EQUILIBRIO		46,17

El punto de equilibrio es igual a 46,17 %, lo que indica que se deben producir al menos 1 127 L mensuales de bebida, para que no exista ni pérdida ni ganancia en la empresa. Bajo este límite las utilidades serían negativas.

En la tabla 3.22 se presentan los análisis de TIR y VAN, que permiten evaluar la rentabilidad y viabilidad del proyecto de elaboración de una bebida de bajo grado alcohólico de jícama y manzana.

Tabla 3.22. TIR Y VAN del proyecto de elaboración de una bebida de bajo grado alcohólico de 70 % jícama y 30 % manzana

TIR			VAN	
FLUJO DE FONDOS			FLUJO DE FONDOS	
AÑO	CANTIDAD USD	ACUMULADO	AÑO	CANTIDAD USD
0	-129 145,30		0	-129 145,30
1	33 191,00		1	33 191,00
2	37 341,00	70 532,00	2	37 341,00
3	41 900,00	112 432,00	3	41 900,00
4	46 905,00	159 337,00	4	46 905,00
5	52 398,00	211 735,00	5	52 398,00
TIR	17%		VAN	27 940,54

La tasa interna de retorno (TIR) del proyecto es igual a 17 %, lo que indica una rentabilidad media del proyecto y permite además efectuar los cálculos de valor actual del proyecto. Como se puede observar en la tabla 3.21, en el cuarto año de producción se recupera el capital invertido.

El Valor Actual Neto (VAN) es igual a 27 940,54 USD. Este valor se determinó mediante la estimación de los flujos de fondo futuros de la empresa, al incrementar la producción anualmente en 1,09 %, e indica que el proyecto es viable y, además, muestra el valor del proyecto en el presente.

En el anexo XII se encuentra el detalle de todos los parámetros analizados en el estudio de prefactibilidad en la elaboración de una bebida de bajo grado alcohólico de 70 % jícama y 30 % manzana.

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1 CONCLUSIONES

La concentración de inóculo (*Saccharomyces cerevisiae*) tuvo un efecto determinante en el tiempo de fermentación de la mezcla conformada por jícama y manzana, a mayor concentración de inóculo, el tiempo de fermentación fue menor. Sin embargo, se observó un comportamiento inverso en el efecto que tiene sobre el grado alcohólico, es decir a mayor concentración de inóculo, se obtuvo menor graduación alcohólica en el producto final.

El porcentaje de mezcla objeto del estudio, 70% de jícama-30% manzana y 60% jícama-40% manzana, no tuvieron un efecto significativo en el tiempo de fermentación, ni en el grado alcohólico alcanzado al final del proceso fermentativo.

El mejor tratamiento, tanto por su tiempo de fermentación, por su mayor grado alcohólico, mejor tasa de rendimiento, y productividad en la formación de etanol fue el que utilizó una concentración de 1,5 g de levadura *Saccharomyces cerevisiae* por cada litro de mezcla, como inóculo en la mezcla conformada por 70 % de jícama y 30% de manzana. Además, este tratamiento presentó las mejores características organolépticas como color y aroma en el producto final obtenido.

La caracterización físico-química y microbiológica del producto obtenido mediante el proceso seleccionado, así como el análisis sensorial realizado en la bebida alcohólica fermentada de jícama y manzana, indicaron un producto de buenas características, de alta calidad, estable, inocuo y de muy buena aceptación.

4.2 RECOMENDACIONES

Desarrollar una investigación del proceso de elaboración de una bebida alcohólica fermenta con base en jícama únicamente, con la adición de enzimas para la degradación de los FOS en azúcares simples.

Realizar una investigación sobre la existencia de nuevas cepas de levadura, que puedan generar una mayor graduación alcohólica en el proceso fermentativo.

Realizar un estudio de mercado completo, que permita identificar posibles nichos de consumidores del producto elaborado, tanto en el ámbito nacional como internacionalmente.

BIBLIOGRAFÍA

1. Acuña, M. y Soria, E., 1981, “Estudio pomológico de ocho variedades de manzana *Pyrus malus* L. en tres zonas de la provincia de Tungurahua”, Proyecto de titulación previo a la obtención de título de Ingeniero Agrónomo, Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador, p. 12.
2. Badui, S., 1993, “Química de los alimentos”, Longman de México, México, México. p.21
3. Barrera, V., Tapia C. y Monteros, A., 2003, “Raíces y tubérculos andinos: alternativas para la conservación y uso sostenible en el Ecuador”, INIAP, Centro Internacional de la papa (CIP), Quito, Ecuador- Lima, Perú, pp. 3-8, 58.
4. Camacho, S., 1980, “Carta de frutales”, INIAP, Programa de Fruticultura, Publicación Documento N°3, Quito, Ecuador.
5. Collado, Q., 2001, “Levaduras y la fermentación alcohólica (II)”, [http://www.verema.com/articulos/500449-levaduras-y-la-fermentación alcohólica -ii](http://www.verema.com/articulos/500449-levaduras-y-la-fermentacion-alcoholica-ii), (Mayo, 2009).
6. Córdova, A. y Galecio, M., 2006, “Identificación y evaluación agronómica de los biotipos de yacón (*Smallanthus sonchifolius*), en la microcuenca la Gallega, Provincia de Morropon-Piura”, http://www.dialnet.unirioja.es/servlet/fichero_articulo?codigo=2924549 (Julio 2009).
7. Cortés, J., 2005, “Reconocimiento de glúcidos”, <http://www.joseacortes.com/practicas/glucidos.htm>, (Octubre, 2009).
8. Covas, H., 2004, “Elaboración de una bebida alcohólica de frutas”,

- Revista digital Autosuficiencia, <http://www.autosuficiencia.com.ar/shop/detallenot.asp?notid=170>, (Abril, 2009).
9. Eroski Consumer, 2004, "La Manzana", <http://www.consumer.es/web/es/alimentación/guíaalimentos/frutasyderivados/2044/09/02/108242.php> (Septiembre, 2009).
 10. Ertola, R., 2004, "Esterilización", <http://www.biologia.edu.ar/microind/esterilizaci%C3%B3n.html>, (Junio, 2010).
 11. Fairlie, T., Holle, M., Portillo, Z., 2002, "Programa Biodiversidad de raíces y tubérculos andinos", Centro Internacional de la papa (CIP). Lima, Perú, p 98.
 12. Fernández, E., 2005, "Definición de esterilización, y esterilización por calor húmedo", <http://www.esterilización-calor-húmedo>, (Octubre, 2009).
 13. Garmendia, J., 2003, "Nuestra Sidra: Proceso de elaboración", <http://www.argia.com/sagazte/htdocs/proceso1.html>, (Mayo, 2009).
 14. González, A. y Valenzuela, L., 2007 "La levadura *Saccharomyces cerevisiae*: un modelo de estudio desde hace mas de 100 años", Documento de Investigación, Universidad Nacional Autónoma de México, Departamento de Genética Molecular, México, México, pp. 2, 3.
 15. González, P., 2007, "Producción industrial de metabolitos primarios", <http://nostoc.usal.es/sefin/MI/tema07MI.html>, (Noviembre, 2009).
 16. Hernández, A., 2003, "Microbiología Industrial", primera edición, editorial EUNED, San José, Costa Rica, pp. 40, 161, 162.
 17. Hernández, M., 2002, "Curso de enología Capítulo 10: La clarificación", <http://www.arrakis.es/~mruizh/l10.htm>, (Diciembre, 2009).

18. INFOAGRO, 2003, “El cultivo de la manzana”, http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tradicionales/manzana.htm, (Agosto, 2009).
19. Madigan, M., Martinko, J. y Parker, J., 2004, “Biología de los microorganismos”, Décima edición, Editorial Pearson S.A, Madrid, España, pp. 123-146, 585-587, 976-981.
20. Madrid, J., Madrid, A. y Moreno, G., 2003, “Análisis de Vinos, Mostos y Alcoholes”, 2da. edición, AMV Ediciones, Madrid, España, pp. 54 – 90.
21. Maldonado, S., Pizarro, P., Martínez, V., Villatarco, M. y Singh, J., 2008, “Producción y comercialización de yacón (*Smallanthus sonchifolius*), en comunidades rurales del noroeste Argentino” <http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/26113/1/artículo7.pdf...> (Mayo 2009).
22. Manrique, I., Párraga, A. y Hermann, M., 2003, “Jarabe de Yacón: Principios y procesamiento”, Centro Internacional de la papa (CIP), Lima, Perú, pp. 3 – 8.
23. Mansilla, R., López, C., Blas, R., Chia, J. y Baudoin J., 2006, “Análisis de la variabilidad molecular de una colección peruana de *Smallanthus sonchifolius* (Yacón)”, http://revistas.concytec.gob.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162006000100010&lng=en&nrm=iso, (Mayo 2009).
24. Mendiola, A., 1997, “Diseño de una planta piloto para la obtención de etanol, a partir de aguardiente de caña de azúcar, en la región de San Martín”, Proyecto de Investigación, Universidad Nacional de San Martín, Facultad de Ingeniería Agroindustrial, Tarapoto, Perú, pp. 7-15.
25. Mondino, M. y Ferrato J., 2003, “El análisis sensorial, una herramienta para la evaluación de la calidad desde el consumidor”,

<http://www.fcagr.unr.edu.ar/Extension/Agromensajes/18/7AM18.html>,
(Marzo, 2009).

26. Mora, J., 2000, “Prácticas de enología aplicadas a la química”, <http://centros5.pntic.mec.es/ies.valdehierro/Dptofq/vino/vinos.html>, (Junio, 2010).
27. Moulinj, J., Makkee M. y Diepen, A., 2001, “Chemical Process Technology”, Editorial John Wiley & Sons Ltd, Nex York, Estados Unidos, pp. 366-367.
28. Navarro, O, 2006, “Las levaduras en los vinos”, Revista de vinos y comidas, <http://charlassobrevinos.blogspot.com/2007/05/la-levadura-en-los-vinos.html> (Abril, 2009).
29. Navas, G. y Culqui, D., 2008, “Estudio de una tecnología para la elaboración de una bebida alcohólica a partir de la Oca, tratada enzimáticamente con inclusión de mandarina”, Proyecto de titulación previo a la obtención de título de Ingeniero en Alimentos, Universidad Técnica de Ambato, Ambato, Ecuador, pp. 12-55.
30. Normas Técnicas Ecuatorianas, INEN, 360
31. Orfila, M. y Rotger, L., 1982, “Elementos de química aplicada a la medicina, farmacia, y artes” Segunda Edición, Volumen 1, Madrid, España, pp. 243 – 251.
32. Pérez, C., 2006, “Análisis y control de la producción del vino” <http://pagina.jccm.es/edu/ies/cperezpastor/dpto/fq/matcien/vino/vino.html> (Junio, 2010).
33. Prescott, L. y Harley, J., 1993, “Microbiology”, Segunda edición, Editorial CBrown Publishers, Estados Unidos, pp. 155-158.

34. PROCIANDINO LICA, 1997, "Proyecto consolidación andina de investigación y transferencia de tecnología en frutihorticultura de exportación", CREa, Centro Regional Andino, Caracas, Venezuela, pp. 24-26.
35. Saenz, C., 2004, "Fermentación, o la vida sin aire", <http://www.biologia.edu.ar/metabolismo/met4.htm>, (Junio, 2009).
36. Salgado F., 2006 "Raíces y Tubérculos", Capítulo III, <http://www.rlc.fao.org/es/agricultura/produ/cdrom/contenido/libro11/cap3.htm#Top>, (Octubre 2009).
37. Sánchez, P., 2004, "Procesos de Conservación Postcosecha de Productos Vegetales", AMV Ediciones, Madrid, España, pp. 65-67.
38. Sastré, B., 1999, "Daño mecánico postcosecha en huertos manzaneros de chihuahua", Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha, Vol. 1 (2), pp. 178-185.
39. Scriban, R., 1985, "Biotecnología", 2da edición, Editorial El Manual Moderno, México, México, pp. 132-137; 140-157
40. Seminario, J., Valderrama, M. y Manrique, I. 2003, "El Yacón: Fundamentos para el aprovechamiento de un recurso promisorio", Centro Internacional de la papa (CIP), Universidad Nacional de Cajamarca, Lima, Perú, pp. 7-13.
41. Torres, H., 2005, "Elaboración de vinos y licores de frutas", [http://www.mypeperu.gob.pe/eventodnmype/noviembre05/elaboracion_de_vinos_y_licores_de_frutas .pdf](http://www.mypeperu.gob.pe/eventodnmype/noviembre05/elaboracion_de_vinos_y_licores_de_frutas.pdf), (Noviembre 2009).
42. Torres, M., 1980, "Procesamiento de frutas cítricas: Almacenamiento y obtención de jugo de manzana", Quito, Ecuador, pp. 1-16.

43. UNALM, Universidad Nacional Agraria la Molina Red Informática., 2007, “Programa de Investigación y Proyección Social en Raíces y Tuberosas”, <http://www.lamolina.edu.pe/Investigacion/programa/yacon/Yacon.htm>, (Junio, 2009).
44. Villacrés, E. y Ruiz, F., 2002, “Raíces y Tubérculos Andinos: Alimentos de ayer para la gente de hoy”, INIAP, Publicación misceláneas # 114, Quito, Ecuador. p. 13.
45. Villacrés, E., Rubio, A. y Cuadrado L., 2007, “Jícama: raíz andina con propiedades nutraceuticas”, INIAP. Boletín técnico N° 128, Quito, Ecuador pp. 4, 5
46. Viteri, P., 1995, “Manual de cultivo de manzano para los valles interandinos del Ecuador”, INIAP, Manual # 31, Quito, Ecuador, pp. 6-15.
47. Wagner, M., 2006, “Información de clarificantes: Entendiendo la teoría que hacemos cuando clarificamos”, <http://www.cerveceroscaseros.com.ar/infoclarificantes.htm>, (Diciembre, 2009).
48. Witting E., 2001, “Evaluación sensorial, una metodología actual para tecnología de alimentos”, http://mazinger.sisib.uchile.cl/repositorio/lb/ciencias_químicas_y_farmacéuticas/wittinge01/index.html, (Marzo, 2009).

ANEXOS

ANEXO I
ANEXO I.1
ANÁLISIS SENSORIAL
TEST HEDÓNICO

Este método es usado para medir preferencias del consumidor, además permite medir estados psicológicos. En este método la evaluación del alimento resulta hecha indirectamente como consecuencia de la medida de una reacción humana.

Se usa para estudiar, a nivel de laboratorio, la posible aceptación del producto. Se pide al juez que luego de su primera impresión responda cuánto le agrada o desagrada el producto, esto lo informa de acuerdo a una escala verbal-numérica que va en la ficha.

La escala tiene 9 puntos, pero a veces es demasiado extensa, entonces se acorta a 7 ó 5 puntos:

1 = me disgusta extremadamente	5 = no me gusta ni me disgusta
2 = me disgusta mucho	6 = me gusta levemente
3 = me disgusta moderadamente	7 = me gusta moderadamente
4 = me disgusta levemente	8 = me gusta mucho
	9 = me gusta extremadamente

Los resultados del panel se analizan por varianza, ANOVA, pero también pueden transformarse en ranking y analizar por cómputos.

El análisis por varianza (ANOVA) es usado para indicar si un tratamiento es estadísticamente superior a otro, para determinar si esta aseveración es correcta se debe recurrir al análisis estadístico de los datos. Por medio de este análisis se calcula inicialmente los grados de libertad, el factor de corrección, suma de cuadrados totales, suma de cuadrados de los tratamientos, suma de cuadrados de las repeticiones, error experimental y, finalmente, F "Fisher", como se muestra en la tabla A1.1. F "Fisher", denota la significación entre tratamientos; al comparar F calculado con F tabular cuyos datos son presentados en la tabla A1.2, se puede establecer si existe significación o no; habrá significación en caso de que el

valor de F calculado sea mayor que el tabular al nivel de significación escogido (1 % ó 5 %).

Tabla A 1.1 Cálculos para el Análisis de Varianza.

Causas de Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F "Fisher" calculada
Total	$Glt = total - 1$	$Sct = (A1^2 + A2^2 + \dots + Ai^2) - Fc$		
Tratamientos	$Gltr = tratamientos - 1$	$Sctr = (T1^2 + T2^2 + \dots + Ti^2) - Fc$	$Cmt = Sctr / Gltr$	$Ft = Cmt / Cme$
Repeticiones	$Glr = repeticiones - 1$	$Scr = (R1^2 + R2^2 + \dots + Ri^2) - Fc$	$Cmr = Scr / Glr$	$Fr = Cmr / Cme$
Error exp.	$Gle = Glt - Gltr - Glr$	$Sce = Sct - Sctr - Scr$	$Cme = Sce / Gle$	

GI = grados de libertad
Sc = suma de cuadrados
A = calificaciones o resultados
T = total tratamientos
R = total repeticiones
Cm = cuadrados medios
Fc = factor de corrección
Fc = $(A1 + A2 + \dots + Ai)^2 / total$

Tabla A 1.2 Distribución de F “Fisher”

5% (tipo de imprenta ordinario) y 1% (tipo grueso). Puntos correspondientes a la distribución de F.																											
Âf ₁ grados de libertad (para, mayor media cuadrada)																											
Âf ²	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	14	16	20	24	30	40	50	75	100	200	500	∞	Âf ²		
27	4,21	9,95	2,96	2,79	2,57	2,46	2,97	2,90	2,25	2,20	2,16	2,13	2,08	2,03	1,97	1,99	1,88	1,84	1,80	1,76	1,74	1,71	1,68	1,67	27		
	7,68	5,49	4,60	4,11	9,79	9,56	9,99	9,76	9,14	9,06	2,98	2,99	2,89	2,74	2,69	2,55	2,47	2,58	7,99	7,25	2,21	2,16	2,12	2,10			
28	4,20	9,94	2,95	7,71	2,56	2,44	2,96	7,29	2,24	2,19	2,15	2,12	2,06	2,02	1,96	1,91	1,87	1,81	1,78	1,75	1,72	1,69	1,67	1,65	28		
	7,64	5,45	4,57	4,07	5,76	3,59	9,96	9,29	9,11	9,09	2,95	2,90	2,80	2,71	2,60	2,52	2,44	2,95	2,90	2,72	7,18	2,19	2,09	2,06			
29	4,18	9,99	2,93	2,70	2,54	2,49	2,95	2,78	2,27	2,18	2,14	2,10	2,05	2,00	1,94	1,90	1,85	1,80	1,77	1,79	1,71	1,68	1,65	1,64	29		
	7,60	5,42	4,54	4,04	9,79	9,50	3,99	9,20	9,08	9,00	2,92	2,87	2,77	2,68	2,57	2,49	2,41	2,32	2,27	2,19	2,15	7,10	2,06	2,09			
30	4,17	9,97	7,92	2,69	2,59	2,42	2,94	2,27	2,24	2,16	2,12	2,09	2,04	1,99	1,99	1,89	1,84	1,79	1,76	1,72	1,69	1,66	1,64	1,62	30		
	7,56	5,99	4,51	4,02	9,70	3,47	9,30	3,17	9,06	2,98	2,90	2,84	2,74	2,66	2,55	2,47	2,98	2,29	2,24	2,16	2,15	2,07	2,09	2,01			
32	4,15	9,90	2,90	2,67	2,51	7,40	2,92	2,25	2,19	2,14	2,10	2,07	2,02	1,97	1,91	1,86	1,82	1,76	1,74	1,69	1,67	1,64	1,61	1,59	32		
	7,50	5,94	4,46	9,97	5,66	5,42	9,25	9,12	9,01	2,94	2,86	2,80	2,70	2,62	2,51	2,42	2,54	2,25	2,20	2,12	2,08	2,02	1,98	1,96			
34	4,19	9,28	2,86	2,65	2,49	2,98	7,90	2,73	2,17	2,12	2,08	2,05	2,00	1,95	1,89	1,84	1,80	1,74	1,71	1,67	1,64	1,61	1,59	1,57	34		
	7,44	5,29	4,42	9,93	9,61	3,98	9,21	9,08	2,97	2,89	2,81	2,76	2,66	2,58	2,47	2,38	2,90	2,21	2,15	2,08	2,04	1,98	1,94	1,91			
36	4,11	9,26	2,86	2,69	2,48	2,96	7,28	7,21	2,15	2,10	2,06	2,09	1,98	1,99	1,87	1,82	1,78	1,72	1,69	1,65	1,62	1,59	1,56	1,55	36		
	7,99	5,25	4,98	9,89	3,58	9,95	9,18	9,04	2,94	2,86	2,78	2,72	2,62	2,54	2,43	2,35	2,26	2,17	2,12	2,04	2,00	1,94	1,90	1,87			
38	4,10	3,25	2,85	2,67	2,96	2,95	2,26	2,19	2,14	2,09	2,05	2,02	1,96	1,92	1,85	1,80	1,76	1,71	1,67	1,69	1,60	1,57	1,54	1,59	38		
	7,95	5,21	4,94	9,86	9,54	9,92	5,15	5,02	2,91	2,82	2,75	2,69	2,59	2,51	2,40	2,92	2,22	2,14	2,08	2,00	1,97	1,90	1,86	1,84			
40	4,08	9,29	2,84	2,61	2,45	2,94	7,25	2,18	2,12	2,07	2,04	2,00	1,95	1,90	1,84	1,79	1,74	1,69	1,66	1,61	1,59	1,55	1,59	1,51	40		
	7,91	5,18	4,91	9,89	9,51	5,29	9,12	2,99	2,88	2,80	2,79	2,66	2,56	2,49	2,37	2,29	2,20	2,11	2,05	1,97	1,94	1,88	1,84	1,81			
42	4,07	9,22	2,89	2,59	2,44	2,92	2,24	2,17	2,11	2,06	2,02	1,99	1,94	1,89	1,82	1,78	1,79	1,68	1,64	1,60	1,57	1,54	1,51	1,49	42		
	7,27	5,15	4,29	3,80	9,49	3,26	3,10	2,96	2,86	2,77	2,70	2,64	2,54	2,46	2,55	2,26	2,17	2,08	2,02	1,94	1,91	1,85	1,80	1,78			
44	4,06	9,21	2,82	2,58	7,49	2,91	2,29	2,16	2,10	2,05	2,01	1,98	1,92	1,88	1,81	1,76	1,72	1,66	1,69	1,58	1,56	1,52	1,50	1,48	44		
	7,24	5,12	4,26	9,78	9,46	5,24	9,07	2,94	2,84	2,75	2,68	2,62	2,52	2,44	2,92	2,24	2,15	2,06	2,00	1,92	1,88	1,82	1,78	1,75			
46	4,05	3,20	2,81	2,57	2,42	2,90	2,27	2,14	2,09	2,04	2,00	1,97	1,91	1,87	1,80	1,75	1,71	1,65	1,62	1,57	1,54	1,51	1,48	1,46	46		
	7,21	5,10	4,24	9,76	9,44	9,22	5,05	2,92	2,82	2,79	2,66	2,60	2,50	2,42	2,90	2,22	2,19	2,04	1,98	1,90	1,86	1,80	1,76	1,72			
48	4,04	3,19	2,80	2,56	2,41	2,90	2,21	7,14	2,08	2,09	1,99	1,96	1,90	1,86	1,79	1,74	1,70	1,64	1,61	1,56	1,59	1,50	1,47	1,45	48		
	7,19	5,08	4,22	9,74	3,42	5,20	3,04	2,90	2,80	2,71	2,64	2,58	2,48	2,40	2,28	2,20	2,11	2,02	1,96	1,88	1,84	1,78	1,75	1,70			
50	4,09	9,18	2,79	2,56	2,40	2,79	2,20	2,19	2,07	2,02	1,98	1,95	1,90	1,85	1,78	1,74	1,69	1,69	1,60	1,55	1,52	1,48	1,46	1,44	50		
	7,17	5,06	4,20	3,72	9,41	5,18	9,02	2,88	2,78	2,70	2,62	2,56	2,46	2,99	2,26	2,18	2,10	2,00	1,94	1,86	1,82	1,76	1,71	1,68			
55	4,02	9,17	2,78	2,54	2,98	2,77	2,18	2,11	2,05	2,00	1,97	1,99	1,88	1,89	1,76	1,72	1,67	1,61	1,58	1,52	1,50	1,46	1,49	1,41	55		
	7,12	5,01	4,16	8,68	9,37	9,15	2,98	2,85	2,75	2,66	2,59	2,55	2,49	2,95	2,29	2,15	2,06	1,96	1,90	1,82	1,78	1,71	1,66	1,64			
60	4,00	9,15	2,76	2,57	2,97	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,95	1,92	1,86	1,81	1,75	1,70	1,65	1,59	1,56	1,50	1,48	1,44	1,41	1,99	60		
	7,08	4,98	4,19	9,65	9,94	9,12	2,95	2,82	2,72	2,69	2,56	2,50	2,90	2,92	2,20	2,12	2,09	1,99	1,87	1,79	1,74	1,68	1,69	1,60			
65	9,99	9,14	7,75	2,51	2,96	2,74	2,15	7,08	2,07	1,98	1,94	1,90	1,85	1,80	1,79	1,68	1,69	1,57	1,54	1,49	1,46	1,42	1,99	1,97	65		
	7,04	4,95	4,10	9,62	5,91	3,09	2,99	2,79	2,70	2,61	2,54	2,47	2,97	2,90	2,18	2,09	2,00	1,90	1,84	1,76	1,71	1,64	1,60	1,56			
70	9,98	3,19	2,74	2,50	7,35	2,29	2,14	2,07	2,01	1,97	1,99	1,89	1,84	1,79	1,72	1,67	1,62	1,56	1,59	1,47	1,45	1,40	1,97	1,95	70		
	7,01	4,92	4,08	9,60	9,29	9,07	2,91	2,77	2,67	2,59	2,51	2,45	2,95	2,78	2,15	2,07	1,98	1,88	1,82	1,74	1,69	1,67	1,56	1,59			
80	9,96	9,11	2,72	2,48	2,99	2,21	2,12	2,05	1,99	1,95	1,91	1,88	1,82	1,77	1,70	1,65	1,60	1,54	1,51	1,45	1,42	1,98	1,95	1,92	80		
	6,96	9,88	4,04	3,56	9,25	9,04	2,87	2,74	2,64	2,55	2,48	2,41	2,92	2,24	2,11	2,03	1,94	1,84	1,78	1,70	1,65	1,57	1,52	1,49			
100	9,94	9,09	2,70	2,46	2,90	2,19	2,10	2,09	1,97	1,92	1,88	1,85	1,79	1,75	1,68	1,63	1,57	1,51	1,48	1,42	1,99	1,94	1,				

Una vez realizado el análisis por varianza y verificada la preferencia significativa del panel por uno de los tratamientos analizados, es necesario continuar con otro test que permita saber cuál o cuáles tratamientos son los preferidos significativamente. Para este fin puede usarse el test de Tukey, por medio de las comparaciones múltiples o rango múltiple de Duncan.

PRUEBA DE RANGO MÚLTIPLE DE DUNCAN

La prueba de rango múltiple Duncan es una comparación de las medias de tratamientos, de manera que cualquier diferencia existente entre cualquier tratamiento contra otro se verá reflejado en este análisis. Utiliza un nivel de significancia variable que depende del número de medias que entran en cada etapa de comparación.

Para obtener los comparadores Duncan, se toman de la tabla de Duncan, representada en la tabla A1.3, los valores de acuerdo al número de tratamientos y con los grados de libertad del error. Cada uno de estos valores será multiplicado por la varianza estándar del error experimental de la media, al utilizar la fórmula A1.1, y éstos serán los comparadores para determinar diferencias significativas.

$$V_E = \frac{\sqrt{Cme}}{nt} \quad [A1.1]$$

Donde:

V_E : Varianza estándar del error experimental (Adimensional)

Cme : Cuadrado medio del error

nt : número de tratamientos

Tabla A 1.3 Tabla de Duncan.

Rangos significativos al 5%, para el test de Rango Múltiple de Duncan																
n1/k	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	14	16	18	20	50	100
1.....	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0	18,0
2.....	6,09	6,09	6,09	6,09	6,09	6,09	6,09	6,09	6,09	6,09	6,09	6,09	6,09	6,09	6,09	6,09
3.....	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50	4,50
4.....	3,93	4,01	4,02	4,02	4,02	4,02	4,02	4,02	4,02	4,02	4,02	4,02	4,02	4,02	4,02	4,02
5.....	3,64	3,74	3,79	3,83	3,83	3,83	3,83	3,83	3,83	3,83	3,83	3,83	3,83	3,83	3,83	3,83
6.....	3,46	3,83	3,64	3,68	3,68	3,68	3,68	3,68	3,68	3,68	3,68	3,68	3,68	3,68	3,68	3,68
7.....	3,35	3,47	3,54	3,58	3,60	3,61	3,61	3,61	3,61	3,61	3,61	3,61	3,61	3,61	3,61	3,61
8.....	3,26	3,39	3,47	3,52	3,55	3,56	3,56	3,56	3,56	3,56	3,56	3,56	3,56	3,56	3,56	3,56
9.....	3,20	3,34	3,41	3,47	3,50	3,52	3,52	3,52	3,52	3,52	3,52	3,52	3,52	3,52	3,52	3,52
10.....	3,15	3,30	3,37	3,43	3,46	3,47	3,47	3,47	3,47	3,47	3,47	3,47	3,47	3,48	3,48	3,48
11.....	3,11	3,27	3,35	3,39	3,43	3,44	3,45	3,46	3,46	3,46	3,46	3,46	3,47	3,48	3,48	3,48
12.....	3,08	3,23	3,33	3,36	3,40	3,42	3,44	3,44	3,46	3,46	3,46	3,46	3,47	3,48	3,48	3,48
13.....	3,06	3,21	3,30	3,35	3,38	3,41	3,42	3,44	3,45	3,45	3,46	3,46	3,47	3,47	3,47	3,47
14.....	3,03	3,18	3,27	3,33	3,37	3,39	3,41	3,42	3,44	3,45	3,46	3,46	3,47	3,47	3,47	3,47
15.....	3,01	3,16	3,25	3,31	3,36	3,38	3,40	3,42	3,43	3,44	3,45	3,46	3,47	3,47	3,47	3,47
16.....	3,00	3,15	3,23	3,30	3,34	3,37	3,39	3,41	3,43	3,44	3,45	3,46	3,47	3,47	3,47	3,47
17.....	2,98	3,13	3,22	3,28	3,33	3,36	3,38	3,40	3,42	3,44	3,45	3,46	3,47	3,47	3,47	3,47
18.....	2,97	3,12	3,21	3,27	3,32	3,35	3,37	3,39	3,41	3,43	3,45	3,46	3,47	3,47	3,47	3,47
19.....	2,96	3,11	3,19	3,26	3,31	3,35	3,37	3,39	3,41	3,43	3,44	3,46	3,47	3,47	3,47	3,47
20.....	2,95	3,10	3,18	3,25	3,30	3,34	3,36	3,38	3,40	3,43	3,44	5,46	3,46	3,47	3,47	3,47
22.....	2,93	3,08	3,17	3,24	3,29	3,32	3,35	3,37	3,39	3,42	3,44	3,45	3,46	3,47	3,47	3,47
24.....	2,92	3,07	3,15	3,22	3,28	3,31	3,34	3,37	3,38	3,41	3,44	3,45	3,46	3,47	3,47	3,47
26.....	2,91	3,06	3,14	3,21	3,27	3,30	3,34	3,36	3,38	3,41	3,43	3,45	3,46	3,47	3,47	3,47
28.....	2,90	3,04	3,13	3,20	3,26	3,30	3,33	3,35	3,37	3,40	3,43	3,45	3,46	3,47	3,47	3,47
30.....	2,89	3,04	3,12	3,20	3,25	3,29	3,32	3,35	3,37	3,40	3,43	3,44	3,46	3,47	3,47	3,47
40.....	2,86	3,01	3,10	3,17	3,22	3,27	3,30	3,33	3,35	3,39	3,42	3,44	3,46	3,47	3,47	3,47
60.....	2,83	2,98	3,08	3,14	3,20	3,24	3,28	3,31	3,33	3,37	3,40	3,40	3,45	3,47	3,48	3,48
100.....	2,80	2,95	3,05	3,12	3,18	3,22	3,26	3,29	3,32	3,36	3,40	3,42	3,45	3,47	3,53	3,53
°.....	2,77	2,92	3,02	3,09	3,15	3,19	3,23	3,26	3,29	3,34	3,38	3,41	3,44	3,47	3,61	3,67

Tomado de: Witting, E, 2001.

ANEXO I.2

Hoja para evaluación sensorial de test hedónico de 9 puntos.

Tipo: Preferencia.

Producto: Jugo de jícama con manzana.

Nombre:.....

Fecha:.....

Hora:.....

Sírvase degustar las muestras que se presentan, e indique su nivel de agrado. Para esto marcar en la escala el nivel que mejor describe su sentir con cada una de las muestras.

Preferencia	Muestras				
	A	B	C	D	E
Me gusta extremadamente					
Me gusta mucho					
Me gusta moderadamente					
Me gusta levemente					
No me gusta ni me disgusta					
Me disgusta levemente					
Me disgusta moderadamente					
Me disgusta mucho					
Me disgusta extremadamente					

Comentarios:.....

Muchas gracias por su colaboración.

ANEXO II

MÉTODO DE FEHLING PARA LA DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES Y TOTALES

Es un método químico que se basa en el uso del reactivo de Fehling o licor de Fehling, para la determinación de azúcares reductores y totales en una solución.

A2.1 AZÚCARES REDUCTORES

A2.1.1 Fundamento

El licor de Fehling es un reactivo utilizado para la determinación de azúcares. Consta de dos soluciones: una de sulfato de cobre y otra de ácido tartárico con un hidróxido alcalino, las cuales se mezclan inmediatamente antes de ser utilizadas.

Solución A "Cúprica" (7 g de CuSO_4 disuelto en 100 mL de H_2O)

Solución B "Sódica" (10 g de NaOH y 35 g de NaK , disueltos en 100 mL H_2O)

Los monosacáridos y la mayoría de los disacáridos actúan como agentes reductores en una reacción, debido al grupo carbonilo que presentan en su molécula estructural. Este carácter reductor puede ponerse de manifiesto por medio de una reacción redox llevada a cabo entre ellos y el sulfato de Cobre (II). Las soluciones de esta sal presentan una coloración azul. Tras la reacción con el glúcido reductor se forma óxido de Cobre (I) de color rojo. De este modo, el cambio de color indica que se ha producido la citada reacción y que, por lo tanto, el glúcido presente es reductor.



[A2.1]

A2.1.2 Procedimiento

Materiales:

- Matraz tipo Balón 500 ml
- Bureta 25 ml
- Pipeta aforada 5 ml
- Pipeta graduada 5 ml
- Probeta 50 ml
- Pinza madera
- Mechero Bunsen.

Reactivos:

- Solución Fehling A (CuSO_4 disuelto en H_2O)
- Solución Fehling B (NaOH y NaK , disueltos en H_2O)
- Solución de glucosa
- Azul de metilo (reactivo indicador)
- Agua destilada.

Inicialmente se debe calcular el factor de titulación o título del licor de Fehling para lo cual el procedimiento es el siguiente:

Se colocan 5 ml de Solución Fehling A, 5 ml de solución Fehling B, 50 ml de agua destilada y 2 gotas del indicador azul de metilo en un balón; a su vez se coloca una solución de glucosa en una bureta, para la posterior titulación.

El balón se lleva a ebullición para proceder a titular con la glucosa. El indicador es reducido y decolorado por los azúcares, cuando todo el cobre es precipitado, en ese momento se anota el Gasto (G), para realizar los cálculos correspondientes, con la ecuación A2.2

$$T = \frac{2 \times G}{1000} \quad [\text{A2.2}]$$

Para determinar los azúcares reductores, se procede de similar manera que para el cálculo del título de Fehling, pero en lugar de colocar la solución de glucosa, se colocó la muestra a analizarse.

Los cálculos para determinar el porcentaje de azúcares reductores en una muestra por el método de Fehling se presentan en la ecuación A2.3

$$AR = \frac{T/G1}{Pm} \times 100 \quad [A2.3]$$

Donde:

T: título del licor de Fehling

Pm: peso de la muestra

G1: gasto en ml de la titulación

A2.2 AZÚCARES TOTALES

A2.2.1 Fundamento

La sacarosa es un disacárido que no posee carbonos anoméricos libres, por lo que carece de poder reductor y la reacción con el licor de Fehling es negativa, sin embargo, en presencia de HCl y en caliente, la sacarosa se hidroliza, es decir, incorpora una molécula de agua y se descompone en los monosacáridos que la forman, glucosa y fructosa, que sí son reductores.

A2.2.2 Procedimiento

Colocar 1 mL de HCl en la muestra y se calienta a 70 °C durante 15 a 20 minutos a baño maría. Posteriormente, dejar enfriar la muestra y adicionar NaOH.

Una vez preparada la muestra el procedimiento y los cálculos para determinar la cantidad de azúcares totales es igual que el procedimiento seguido en azúcares reductores.

ANEXO III

DETERMINACIÓN DE AZÚCARES REDUCTORES EN VINO: (MÉTODO DE REBELEIN)

A3.1 FUNDAMENTO

Este método está fundamentado en la reducción del cobre por los azúcares y valoración del cobre residual por yodometría.

En este proceso de reacciones se forman diversos compuestos oxidados, entre ellos el óxido cuproso, que precipita como resultado de la reducción del cobre divalente.

Con el cobre excedente, se oxida una cantidad equivalente de yoduro, y pasa al estado de yodo, para de esta manera volver a oxidar otra cantidad equivalente de tiosulfato sódico, el mismo que indicará posteriormente, por medio de una prueba en blanco, la concentración de azúcares reductores de la muestra de vino.

A3.1.1 Material

- 1 plancha de calentamiento
- 1 pipeta volumétrica de 2 mL
- 4 pipeta de 10 mL
- 1 pipeta de 5 mL
- 1 bureta de 50 mL
- 1 vidrio reloj
- 1 erlenmeyer de 200 mL

A3.1.2 Reactivos

- Ácido sulfúrico al 16%
- Solución de almidón al 2 %
- Gránulos de piedra pómez
- Yoduro de potasio al 30%

- Solución alcalina (Tartrato de sodio y potasio) 0,886 M
- Solución cúprica (CuSO_4) 0,168 M
- Tiosulfato sódico 0,0551 M

Las concentraciones de cada reactivo son específicas para la determinación de azúcares reductores por el método de Rebelein.

A3.2 PROCEDIMIENTO

En vinos tintos se decolora el vino con carbón decolorante, en vinos blancos y rosados no se decolora.

En el erlenmeyer se colocan 10 mL de solución cúprica, 5 mL de tartrato de sodio y potasio, y 2 mL de muestra de vino y se introduce un poco de piedra pómez. Se tapa con el vidrio reloj para evitar la evaporación, y se pone en la placa de calentamiento (previamente calentada) hasta que empiece a hervir.

Se realiza la medición del tiempo, exactamente, 1,5 minutos. Rápidamente se enfría con agua. Después se añaden 10 mL de yoduro de potasio, 10 mL de almidón al 2 % y 10 mL de ácido sulfúrico al 16 %. Se valora con tiosulfato sódico, hasta que cambie de coloración, hacia un color crema.

Posteriormente, se efectúa el ensayo en el blanco, de igual manera que el análisis de la muestra de vino, pero en su lugar se emplean 2 mL de agua destilada. Finalmente, se realiza la medición del gasto de tiosulfato sódico.

A3.3 CÁLCULOS

Según el método de Rebelein, y al usar las concentraciones determinadas en este anexo, el volumen en mL de tiosulfato sódico que se gastan en valorar el agua menos el volumen en mL que se gasta en valorar el vino es igual al contenido de azúcares reductores expresado en g/L. Es necesario seguir el orden de adición de los reactivos, tal como están indicados. Deben respetarse con exactitud los tiempos de ebullición.

ANEXO IV

MÉTODO OFICIAL PARA LA DETERMINACIÓN DEL GRADO ALCOHÓLICO VOLÚMETRICO EN VINOS.

A4.1 DEFINICIÓN

El grado alcohólico volumétrico se mide con la finalidad de determinar el porcentaje de etanol, sus homólogos y los ésteres presentes en el vino, y es igual al número de litros de etanol contenidos en 100 L de vino. Ambos volúmenes se miden a temperatura de 20 °C.

A4.2 FUNDAMENTO

Se determina el grado alcohólico en el destilado de una muestra de vino alcalinizada mediante una suspensión de hidróxido de calcio de concentración 2 M.

Para la determinación del grado alcohólico se usa un alcoholímetro.

A4.3 PROCEDIMIENTO

Inicialmente se debe obtener el destilado del vino

Materiales:

- Matraz de fondo redondo 1,0 L
- Columna rectificadora de 20 cm
- Mechero bunsen o una fuente de calor
- Refrigerante
- Matraz aforado 250 mL
- Probeta cilíndrica 250 mL
- Termómetro
- Alcoholímetro

Reactivo:

- Suspensión de hidróxido de calcio 2 M (120 g de cal viva disuelta en un litro de agua caliente).

Previo el inicio de la destilación se debe eliminar todo el dióxido de carbono que pudiese estar presente en un vino joven, mediante agitación; y se procede a armar el equipo de destilación para esto se conecta al matraz de fondo redondo el refrigerante y a esta a su vez la entrada y salida de agua, posteriormente se coloca en el matraz redondo 200 mL de vino, se añaden 10 mL de suspensión de hidróxido de calcio 2 M, y se procede a destilar hasta recoger un volumen igual a las $\frac{3}{4}$ partes, aproximadamente, del volumen inicial. Se completa el volumen con agua destilada y se mezcla en forma circular.

Una vez obtenido el destilado del vino, se procede a medir el grado alcohólico por aerometría.

El procedimiento de medición del grado alcohólico es el siguiente:

Se coloca en una probeta cilíndrica de 250 mL el destilado obtenido del vino, al mantener en posición vertical mediante un sistema fijo (tornillos), se introduce el termómetro y el alcoholímetro y se cuida que ninguno de los dos aparatos toque las paredes de la probeta, puesto que esto podría afectar la medición. Se deja reposar durante un minuto y se toma la lectura de la temperatura. Posteriormente, se saca el termómetro y se realiza la lectura de grado alcohólico aparente que será corregido mediante la tabla de corrección de grado alcohólico internacional a 20 °C, para obtener el grado alcohólico real del vino.

En la medición, es importante considerar que la temperatura del vino no se diferencie con un rango mayor a 5 °C, con la temperatura ambiental, puesto que originaría una variación en la determinación del grado alcohólico.

A continuación se presenta la tabla A3.1 de corrección del grado alcohólico.

Tabla A3.1. GRADO ALCOHÓLICO INTERNACIONAL A 20 °C
Tabla de correcciones a efectuarse sobre el grado alcohólico aparente para corregir la
variación por acción de la temperatura
 Sumar o restar al grado alcohólico aparente a t° (alcoholímetro en vidrio ordinario) la
 corrección indicada en esta tabla

T °C		Grado alcohólico aparente a t °C															
		0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
11	SUMAR	0,78	0,79	0,82	0,86	0,90	0,94	1,01	1,08	1,16	1,25	1,36	1,47	1,60	1,73	1,88	2,03
12		0,72	0,74	0,76	0,79	0,83	0,88	0,93	0,99	1,07	1,15	1,24	1,34	1,44	1,56	1,69	1,82
13		0,66	0,67	0,69	0,73	0,76	0,80	0,84	0,91	0,96	1,03	1,11	1,19	1,28	1,38	1,49	1,61
14		0,59	0,60	0,62	0,64	0,67	0,71	0,74	0,79	0,85	0,91	0,97	1,04	1,12	1,20	1,29	1,39
15		0,51	0,52	0,53	0,55	0,58	0,61	0,64	0,68	0,73	0,77	0,86	0,89	0,95	1,02	1,09	1,16
16		0,42	0,43	0,44	0,46	0,48	0,50	0,53	0,56	0,60	0,63	0,67	0,72	0,77	0,82	0,88	0,94
17		0,33	0,33	0,34	0,35	0,37	0,39	0,41	0,43	0,46	0,48	0,51	0,55	0,59	0,62	0,67	0,71
18		0,23	0,23	0,23	0,24	0,25	0,26	0,27	0,29	0,31	0,33	0,35	0,37	0,40	0,42	0,45	0,48
19		0,12	0,12	0,12	0,12	0,13	0,13	0,14	0,15	0,16	0,17	0,18	0,19	0,20	0,21	0,23	0,24
21	RESTAR		0,13	0,13	0,13	0,14	0,14	0,5	0,16	0,17	0,18	0,19	0,19	0,20	0,22	0,23	0,25
22			0,26	0,27	0,28	0,29	0,30	0,31	0,32	0,34	0,36	0,37	0,39	0,41	0,44	0,47	0,49
23			0,40	0,41	0,42	0,44	0,45	0,47	0,49	0,51	0,54	0,57	0,60	0,63	0,66	0,70	0,74
24			0,55	0,56	0,58	0,60	0,62	0,64	0,67	0,70	0,73	0,77	0,81	0,85	0,89	0,94	0,99
25			0,69	0,71	0,73	0,76	0,79	0,82	0,85	0,89	0,93	0,97	1,02	1,07	1,13	1,19	1,25
26			0,85	0,87	0,90	0,89	0,99	1,00	1,04	1,08	1,15	1,16	1,24	1,30	1,36	1,45	1,50
27				1,03	1,07	1,11	1,15	1,19	1,28	1,28	1,34	1,46	1,46	1,53	1,60	1,68	1,76
28				1,21	1,25	1,29	1,33	1,36	1,43	1,49	1,55	1,62	1,69	1,77	1,85	1,93	2,02
29				1,39	1,43	1,47	1,52	1,58	1,63	1,70	1,76	1,84	1,90	2,01	2,10	2,19	2,29
30				1,57	1,61	1,66	1,72	1,78	1,84	1,91	1,96	2,07	2,15	2,25	2,35	2,45	2,56

Fuente: Madrid, 2003.

ANEXO V

CICLO DE CRECIMIENTO MICROBIANO

A5.1 TÉCNICAS DE EVALUACIÓN DE UNA POBLACIÓN MICROBIANA

Para identificar el ciclo de crecimiento microbiano es necesario realizar la curva de crecimiento microbiano y para esto, a su vez, es necesario contar con una técnica de evaluación cualitativa y cuantitativa de una población microbiana.

Entre las principales técnicas empleadas y utilizadas en la actualidad se tienen:

A5.1.1 Recuento directo

Consiste en una observación al microscopio de volúmenes pequeños de suspensiones bacterianas, que mediante el uso de cámaras de Petroff-Hausser permiten el conteo microbiano.

A5.1.2 Medida de la masa de células

Se basa en la turbidimetría. La turbidez depende de la masa en suspensión y, por tanto, al medir esta se puede estimar aquella. Este es el parámetro de medida más fácil de usar en los cultivos de laboratorio.

A5.1.3 Recuento de viables

Consiste en sembrar un volumen determinado de cultivo o muestra sobre el medio de cultivo sólido, adecuado para estimar el número de viables, se cuenta el número de colonias que se forman, puesto que cada una de estas deriva de una UFC.

Una vez que ha sido evaluada cualitativamente y cuantitativamente una población microbiana, se procede a realizar la curva de crecimiento microbiano.

A5.2 CURVA DE CRECIMIENTO MICROBIANO

En un cultivo bacteriano en medio líquido, se pueden identificar 5 fases de crecimiento, como se observa en la figura A5.1

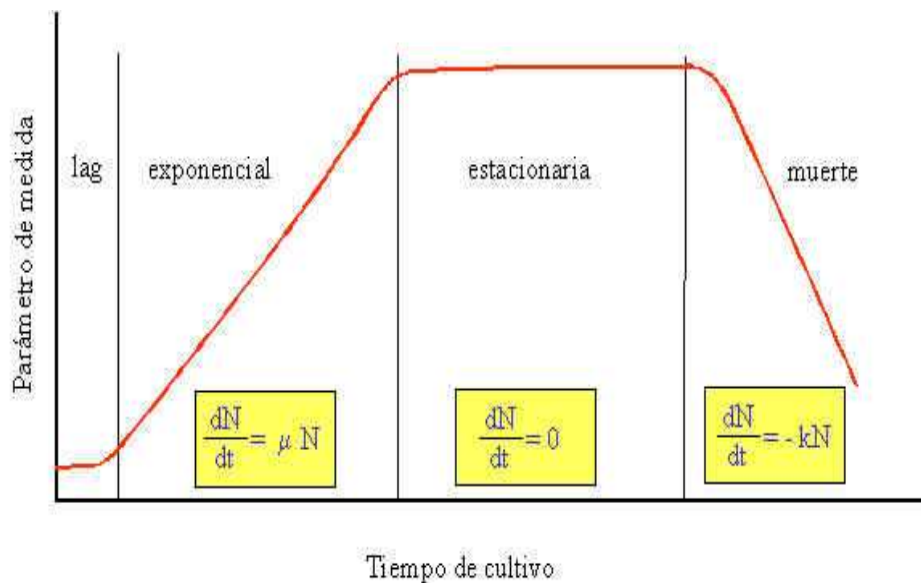


Figura A5.1. Curva de crecimiento microbiano
Fuente: Guzmán 2005

A5.2.1 Fase de latencia (lag)

Comprende un período de adaptación del microorganismo al medio de cultivo. En este período las células sintetizan las enzimas necesarias, la velocidad de crecimiento es nula, como se observa en la ecuación [A5.1]

$$\frac{dx}{dt} = 0 \quad [A5.1]$$

La duración de esta fase es variable y depende principalmente del tamaño del inóculo utilizado para la siembra.

A5.2.2 Fase de arranque

Una vez transcurrida la fase de latencia, inicia el crecimiento celular propiamente dicho, la rapidez de reproducción aumenta así como la rapidez específica de crecimiento.

A5.2.3 Fase logarítmica o exponencial de crecimiento

En ella la velocidad de crecimiento es máxima y el tiempo de generación es mínimo. Durante esta fase la velocidad de crecimiento aumenta y es proporcional a la concentración microbiana (X), como se presenta en la ecuación [A5.2].

$$\frac{dx}{dt} \times \frac{1}{X} = Um \quad [A5.2]$$

Durante esta fase la composición celular es constante y aunque la composición del medio puede variar, permite la síntesis celular.

A5.2.4 Fase estacionaria o de disminución de velocidad

La fase estacionaria corresponde al momento en que en la gráfica mostrada en la figura AV.1 se da una inflexión. Desde el punto de vista bioquímico esta etapa corresponde a un déficit de nutrientes y empobrecimiento del medio de cultivo. En algunos casos se produce una acumulación y liberación de metabolitos secundarios (productos inhibidores para el crecimiento), y la velocidad específica disminuye. La fase estacionaria tiene gran importancia porque, probablemente, represente con mayor fidelidad el estado metabólico real de los microorganismos en muchos ambientes naturales.

A5.2.5 Fase de muerte

Se produce una disminución del número de células viables y la tasa de mortalidad aumenta progresivamente. Existen varios factores externos que afectan la curva de crecimiento microbiano. Entre los más importantes se encuentran: la concentración de compuestos necesarios para el crecimiento, la temperatura, el pH del medio de cultivo y la actividad de agua.

ANEXO VI

HOJA PARA EVALUACIÓN DE ACEPTABILIDAD DEL

PRODUCTO FINAL ESCALA DE 7 PUNTOS

Tipo: Aceptabilidad.

Nombre:.....

Producto: Bebida alcohólica fermentada
de jícama y manzana, tipo vino.

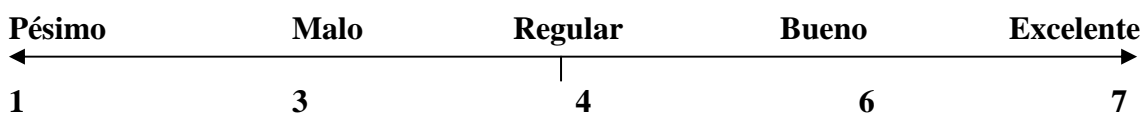
Fecha:.....

Hora:.....

Pruebe por favor la bebida alcohólica fermentada de jícama y manzana que tiene frente a usted. Analice los parámetros que se le presentan a continuación.

Preferencia	Muestra			
	Color	Aroma	Sabor	Apariencia
Excelente				
Muy bueno				
Bueno				
Regular				
Malo				
Muy malo				
Pésimo				

Finalmente indique que calificación le otorgaría al producto al evaluar todas sus características:



Comentarios:.....

Muchas gracias por su colaboración.

ANEXO VII

RESULTADOS DEL ANÁLISIS SENSORIAL Y ESTADÍSTICO PARA IDENTIFICAR EL PORCENTAJE DE MEZCLA DE JÍCAMA Y MANZANA

La tabla A.7.1 muestra los resultados del análisis sensorial realizado a 30 panelistas, con 5 diferentes porcentajes de mezcla de jícama y manzana

Tabla A.V7.1. Resultados del análisis sensorial de mezcla de jícama y manzana

Jueces	Muestras					Totales
	A	B	C	D	E	
1	7	7	8	9	9	40
2	5	5	5	7	7	29
3	4	5	5	6	6	26
4	8	8	8	8	8	40
5	7	7	8	9	9	40
6	6	7	7	6	8	34
7	6	6	6	8	8	34
8	6	7	7	8	9	37
9	7	7	8	9	9	40
10	4	4	5	6	6	25
11	4	4	4	6	6	24
12	7	7	8	8	9	39
13	8	8	8	8	9	41
14	3	4	4	5	5	21
15	6	7	7	7	7	34
16	7	7	8	8	9	39
17	5	6	7	7	7	32
18	7	8	7	8	8	38
19	6	6	7	7	8	34
20	7	7	8	8	8	38
21	7	8	8	9	9	41
22	7	8	9	9	9	42
23	8	8	9	9	9	43
24	6	6	6	8	8	34
25	7	6	6	9	9	37
26	6	6	7	9	9	37
27	8	9	7	8	9	41
28	8	8	8	9	8	41
29	5	7	7	8	8	35
30	6	7	7	8	8	36
Total	188	200	209	234	241	1072
Promedios	6,27	6,67	6,97	7,80	8,03	

Una vez que se han obtenido estos datos se procede a calcular F y compararlo con el valor de F tabular, cuyos datos se presentan en la tabla A.7.2.

Tabla A.7.2 Análisis de Varianza

Causas de variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	F tabulada 5%
Total	149	292,77			
Jueces	4	67,50	16,87	56,10	1,56
Muestras	29	190,37	6,56	21,82	2,45
Error Exp.	116	34,90	0,30		

En la tabla A.7.3 se presentan los resultados de la prueba de rango múltiple de Duncan, para identificar si existen diferencias significativas a nivel de 5%, según Tukey, al utilizar para ello los promedios de las 5 mezclas evaluadas.

Tabla A.7.3 Diferencia entre medias de las muestras del análisis sensorial

	A	B	C	D	E	Comparador Duncan 5 %	Comparador Duncan 1%
	6,27	6,67	6,97	7,80	8,03		
A 6,27	0	0,40*	0,70**	1,53**	1,76**		
B 6,67		0	0,30*	1,13**	1,36**	0,277	
C 6,97			0	0,83**	1,06**	0,292	0,364
D 7,80				0	0,23	0,302	0,380
E 8,03					0	0,309	0,390
							0,401

* Diferencia significativa al 5 %

** Diferencia significativa al 1%

ANEXO VIII

ANEXO VIII.1

RESULTADOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LOS TIEMPOS DE FERMENTACIÓN Y GRADO ALCOHÓLICO

En la tabla A.8.1.1 se muestran los resultados de tiempos de fermentación y grado alcohólico final de las mezclas “D” y “E”, con tres diferentes concentraciones de inóculo.

Tabla A.8.1.1 Tiempo de fermentación y Grado alcohólico final de las muestras D y E con tres concentraciones de inóculo

Concentración de Inóculo	Porcentaje de mezclas	Tiempo de Fermentación (h)	Grado alcohólico Final (°gl)
0,5 g inóculo/litro mezcla	D (70 - 30)	242	6,14
	E (60 - 40)	218	5,97
1,5 g inóculo/litro mezcla	D (70 - 30)	192	6,27
	E (60 - 40)	180	6,10
2,5 g inóculo/litro mezcla	D (70 - 30)	178	5,43
	E (60 - 40)	170	5,13

En la tabla A.8.1.2, A.8.1.3 y A.8.1.4 se muestran los resultados del análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo.

Tabla A.8.1.2 Promedio y varianza para el tiempo de fermentación y el grado alcohólico de las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0,5 g/L	2	12,11	6,055	0,0145
1,5 g/L	2	12,37	6,185	0,0145
2,5 g/L	2	10,56	5,280	0,0450
Mezcla D	3	17,84	5,946	0,2044
Mezcla E	3	17,2	5,733	0,2772

Tabla A.8.1.3 Análisis de varianza para el tiempo de fermentación de las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F calculado	Probabilidad	Valor para F
Inóculo	3477,33	2	1738,66	50,153	0,019	19,00
Mezcla	322,66	1	322,66	9,307	0,093	18,51
Error	69,33	2	34,66			
Total	3869,33	5				

Se puede observar que el valor de F calculado para la concentración de inóculo es mayor que el valor de F tabular, es decir existen diferencias significativas al 5 %, sin embargo, se observa que el porcentaje de mezcla no influye significativamente a nivel de 5%, sobre el tiempo total de fermentación, debido a que el valor de F calculado es menor que el valor de F tabular

Tabla A.8.1.4 Análisis de varianza para el grado alcohólico de las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F calculado	Probabilidad	Valor para F
Inóculo	0,957	2	0,47885	170,006	0,006	19,00
Mezcla	0,068	1	0,06826667	24,237	0,039	18,51
Error	0,006	2	0,00281667			
Total	1,032	5				

Como se puede observar el valor de F calculado es mayor que el valor de F tabular. Se puede decir que existen diferencias significativas a nivel de 5% para el grado alcohólico final tanto en el porcentaje de mezcla, como en las distintas concentraciones de inóculo.

ANEXO VIII.2

RESULTADOS DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO PARA LOS PARÁMETROS CINÉTICOS

En la tabla A.8.2.1 se muestran los resultados de tiempo de duplicación de levaduras, tasa de rendimiento del producto, velocidad de generación de alcohol etílico y productividad de formación de etanol, de las mezclas “D” y “E”, con tres diferentes concentraciones de inóculo.

Tabla A.8.2.1 Resultados de los parámetros cinéticos de las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo

Concentración de Inóculo	Porcentaje de mezclas	Tiempo de duplicación de levaduras (h)	Tasa de rendimiento (ge/g)	Velocidad de generación de etanol (ge/g*s*h)	Productividad de formación de etanol
0,5 g/L	D (70 - 30)	97	0,46	0,0154	0,2012
	E (60 - 40)	93	0,46	0,0161	0,2172
1,5 g/L	D (70 - 30)	74	0,48	0,0196	0,2697
	E (60 - 40)	74	0,47	0,0199	0,2590
2,5 g/L	D (70 - 30)	59	0,42	0,0275	0,2419
	E (60 - 40)	59	0,40	0,0296	0,2393

En la tabla A.8.2.2 y A.8.2.3 se muestran los resultados del análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo, para el tiempo de duplicación de las levaduras.

Tabla A.8.2.2 Promedio y varianza para el tiempo de duplicación de levaduras de las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0,5 g/L	2	190,00	95,00	8,00
1,5 g/L	2	148,00	74,00	0,00
2,5 g/L	2	118,00	59,00	0,00
Mezcla D	3	230,00	76,67	366,33
Mezcla E	3	226,00	75,33	290,33

Tabla A.8.2.3 Análisis de varianza para el tiempo de duplicación de levaduras de las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F calculado	Probabilidad	Valor para F
Inóculo	1308,00	2	654,00	245,25	0,0040	19,00
Mezcla	2,67	1	2,67	1,00	0,4226	18,51
Error	5,33	2	2,67			
Total	1316	5				

Se puede observar que el valor de F calculado para la concentración de inóculo es mayor que el valor de F tabular, es decir existen diferencias significativas al 5 %. Además, se observa que el porcentaje de mezcla no influye significativamente a nivel de 5%, sobre el tiempo total de fermentación, debido a que el valor de F calculado es menor que el valor de F tabular.

En la tabla A.8.2.4 y A.8.2.5 se muestran los resultados del análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo, para la tasa de rendimiento del producto.

Tabla A.8.2.4 Promedio y varianza para la tasa de rendimiento del producto de las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0,5 g/L	2	2	0,92	0,0
1,5 g/L	2	2	0,95	5 E-5
2,5 g/L	2	2	0,82	2 E-4
Mezcla D	3	3	1,36	9,3 E-4
Mezcla E	3	3	1,33	1,4 E-3

Se puede observar en la tabla A.8.2.5, el valor de F calculado para la concentración de inóculo es mayor que el valor de F tabular, es decir existen diferencias significativas al 5 %, y se observa que el porcentaje de mezcla no influye significativamente a nivel de 5%, sobre el tiempo total de fermentación, debido a que el valor de F calculado es menor que el valor de F tabular.

Tabla A.8.2.5 Análisis de varianza para la tasa de rendimiento del producto de las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F calculado	Probabilidad	Valor para F
Inóculo	0,0046	2	0,00232	46,33	0,0211	19,00
Mezcla	0,0002	1	0,00015	3,00	0,2254	18,51
Error	1E-04	2	5E-05			
Total	0,0049	5				

En la tabla A.8.2.6 y A.8.2.7 se muestran los resultados del análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo, para la velocidad de generación de alcohol etílico o etanol.

Tabla A.8.2.6 Promedio y varianza para la velocidad de generación de etanol de las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0,5 g/L	2	0,0315	0,0158	2,08 E-07
1,5 g/L	2	0,0395	0,0198	8,92 E-08
2,5 g/L	2	0,0571	0,0285	2,34 E-06
Mezcla D	3	0,0625	0,0208	3,73 E-05
Mezcla E	3	0,0657	0,0219	4,86 E-05

Tabla A.8.2.7 Análisis de varianza para la velocidad de generación de etanol de las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F calculado	Probabilidad	Valor para F
Inóculo	1,71 E-04	2	8,55 E-05	189,74	0,0052	19,00
Mezcla	1,74 E-06	1	1,74 E-06	3,87	0,1880	18,51
Error	9,01 E-07	2	4,50 E-07			
Total	1,73 E-04	5				

Como se puede observar, el valor de F calculado para la concentración de inóculo es mayor que el valor de F tabular, es decir existen diferencias significativas al 5

%, y se observa que el porcentaje de mezcla no influye significativamente a nivel de 5 %, sobre el tiempo total de fermentación, debido a que el valor de F calculado es menor que el valor de F tabular.

En la tabla A.8.2.8 y A.8.2.9 se muestran los resultados del análisis de varianza de dos factores con una sola muestra por grupo, para la productividad de formación de etanol.

Tabla A.8.2.8 Promedio y varianza para la productividad de formación de etanol de las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo

RESUMEN	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
0,5 g/L	2	0,42	0,209	0,0001
1,5 g/L	2	0,53	0,264	5,72 E-05
2,5 g/L	2	0,48	0,241	3,38 E-06
Mezcla D	3	0,71	0,238	0,0011
Mezcla E	3	0,72	0,239	0,0004

Tabla A.8.2.9 Análisis de varianza para la productividad de formación de etanol de las mezclas “D” y “E” con tres diferentes concentraciones de inóculo

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F calculado	Probabilidad	Valor para F
Inóculo	3,1 E-03	2	0,00153052	16,333	0,058	19,00
Mezcla	1,2 E-06	1	1,215E-06	0,013	0,920	18,51
Error	1,8 E-04	2	9,3705E-05			
Total	3,2 E-03					

Como se puede observar, el valor de F calculado tanto para la concentración de inóculo, como para el porcentaje de mezcla es menor que el valor de F tabular, es decir no existen diferencias significativas al 5 %.

ANEXO IX

EJEMPLOS DE CÁLCULO DE LOS PARÁMETROS CINÉTICOS

A9.1 VELOCIDAD DE CRECIMIENTO DE LEVADURAS

Por medio de la fórmula [A.9.1]; se calcula la velocidad de crecimiento para levaduras en la fase exponencial logarítmica, con los datos representados en la tabla A.9.1.

Tabla A.9.1 Datos de concentración inicial de lavaduras, logaritmo natural de la concentración inicial y tiempo para la concentración de inóculo de 0,5 g/L, en la mezcla “D”

C(ufc/ml)	Tiempo (h)	Ln ufc/mL
6,96 E07	48	18,058
7,44 E07	58	18,125
1,20 E08	72	18,603
1,36 E08	120	18,728
1,44 E08	130	18,785
1,52 E08	144	18,839
1,60 E08	154	18,891
1,68 E08	168	18,939
1,76 E08	178	18,986

$$U_m = \frac{\ln X_f - \ln X_o}{t} \quad [A.9.1]$$

Donde:

X_f : Concentración final de levaduras (ufc/ml)

X_o : Concentración inicial de levaduras (ufc/ml)

t : Variación de tiempo (horas)

U_m : Velocidad máxima de crecimiento (h^{-1})

Sea:

$\ln X_f = 18.986$

$\ln X_o = 18.058$

$\Delta t = 130$

$$U_m = (18,989 - 18,058) / 178 - 48$$

$$U_m = 0,931/130$$

$$U_m = \mathbf{0,007136 \text{ (h}^{-1}\text{)}}$$

Como se puede observar el valor obtenido para la velocidad de crecimiento con concentración de inóculo de 0,5 g/L en la mezcla "D", es igual a 7,136 E -03 (h¹).

A9.2 TIEMPO DE DUPLICACIÓN O GENERACIÓN DE LEVADURAS

Para determinar el tiempo de generación, se parte de la velocidad máxima de crecimiento (U_m), al utilizar la fórmula [A.9.2].

$$td = \frac{\ln 2}{U_m} \quad [\text{A.9.2}]$$

Donde:

Td : Tiempo de duplicación (horas)

U_m : Velocidad máxima de crecimiento

En el caso de la concentración de inóculo de 0,5 g/L, en la mezcla "D", la velocidad de crecimiento es 7,136 E -03 (h⁻¹),

$$td = \ln(2) / 0.007136$$

$$td = 0.693 / 0.007136$$

$$td = \mathbf{97,13 \text{ h ; 97 horas y 8 minutos.}}$$

Como se puede observar el valor obtenido para el tiempo de duplicación de levaduras con concentración de inóculo de 0,5 g/L en la mezcla "D", es igual a 97 horas y 8 minutos.

A9.3.TASA DE RENDIMIENTO DEL PRODUCTO

Para determinar la tasa de rendimiento del producto se utilizó la fórmula [A.9.3]

$$Y_{p/s} = \frac{P_f - P_o}{S_o - S} \quad [\text{A.9.3}]$$

Donde:

$Y_{p/s}$: Tasa de rendimiento de etanol ($g_p \times g_s^{-1}$)

P_f : Concentración final de producto (g)

P_o : Concentración inicial de producto (g)

S_o : Concentración inicial de sustrato (g)

S : Concentración final de sustrato (residual) (g)

En la tabla A.9.2 se muestran los datos necesarios para realizar el cálculo de la tasa de rendimiento del producto.

Tabla A.9.2 Datos de azúcares reductores, contenido de alcohol y tiempo de fermentación para las distintas concentraciones de inóculo, en las mezclas “D” y “E”

Mezcla	Porcentaje Inóculo	Tiempo (h)	Azúcares Reductores		Contenido Alcohol	
			Inicial (g/L)	Final (g/L)	Inicial (g/L)	Final (g/L)
Mezcla D	0,5 g/l	242	106,56	1,20	0,0	48,69
	1,5 g/l	192	105,39	1,23	0,0	49,72
	2,5 g/l	178	102,86	1,03	0,0	43,06
Mezcla E	0,5 g/l	218	104,02	1,37	0,0	47,34
	1,5 g/l	180	105,28	1,33	0,0	48,37
	2,5 g/l	170	103,91	1,13	0,0	40,68

$$Y_{p/s} = (48,69 - 0,0) / (106,56 - 1,20)$$

$$Y_{p/s} = 48,69 / 105,36$$

$$Y_{p/s} = 0,46 \text{ (} g_p/g_s \text{)}$$

Como se puede observar el valor obtenido para la tasa de rendimiento del producto con concentración de inóculo de 0,5 g/L en la mezcla “D”, es igual a 0,46 (g_p/g_s).

A9.4 VELOCIDAD DE GENERACIÓN DE ETANOL

Para determinar la velocidad de generación de etanol se utilizó la fórmula [A.9.4]

$$q_p = U_m / Y_{p/x} \quad [A.9.4]$$

Donde:

q_p : Velocidad específica de formación de etanol ($g_p \times g_s^{-1} \times h^{-1}$)

U_m : Velocidad máxima de crecimiento (h^{-1})

$Y_{p/x}$: Tasa de rendimiento del producto ($g_p \times g_s^{-1}$)

Si:

g_p : gramos de producto (etanol)

g_s^{-1} : gramos de sustrato

En la tabla A.9.3 se muestran los datos necesarios para realizar el cálculo de la velocidad de generación de etanol.

Tabla A.9.3 Datos de tiempo de fermentación, velocidad de crecimiento de levaduras y tasa de rendimiento del producto para las distintas concentraciones de inóculo, en la mezcla "D"

Porcentaje Mezcla	Porcentaje Inóculo	Tiempo (h)	U_m (horas ⁻¹)	$Y_{p/s}$ (g _e /g _s)
Mezcla D	0,5 g/L	242	0,0071	0,4621
	1,5 g/L	192	0,0093	0,4773
	2,5 g/L	178	0,0116	0,4228

$$q_p = 0,0071363 / 0,46215367$$

$$q_p = 0,01544 \text{ (} g_p/g_s \times h \text{)}$$

Como se puede observar el valor obtenido para la velocidad de generación de etanol con concentración de inóculo de 0,5 g/L en la mezcla "D", es igual a 0,01544 ($g_p/g_s \times h$).

A9.5 PRODUCTIVIDAD DE FORMACIÓN DE ETANOL

Para determinar la productividad de formación de etanol se utilizó la fórmula [A.9.5]

$$P_E = \Delta p / \Delta t \quad [A.9.5]$$

Donde:

P_E : Productividad de formación de etanol ($\text{g}_p \times \text{L}^{-1} \times \text{h}^{-1}$)

Δp : Cambio de concentración del producto ($\text{g}_p \times \text{L}^{-1}$)

Δt : Intervalo de tiempo (h)

En la tabla A.9.4 se muestran los datos necesarios para realizar el cálculo de la productividad de formación de etanol.

Tabla A.9.4 Datos de contenido de alcohol y tiempo de fermentación para las distintas concentraciones de inóculo, en la mezcla “D”

Porcentaje	Porcentaje	Tiempo	Contenido Alcohol	
Mezcla	Inóculo	(h)	Inicial (g/L)	Final (g/L)
Mezcla D	0,5 g/L	242	0,0	48,69
	1,5 g/L	192	0,0	49,72
	2,5 g/L	178	0,0	43,06

$$P_e = (48,69 - 0) / (242)$$

$$P_e = 0,2011$$

Como se puede observar el valor obtenido para la productividad de formación de etanol con concentración de inóculo de 0,5 g/L en la mezcla “D”, es igual a 0,2011.

ANEXO X

RESULTADOS DE ANÁLISIS FÍSICO QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DEL PRODUCTO FINAL

La tabla A.10.1 muestra el resumen de los resultados de los análisis físico-químicos, y microbiológicos, realizados en el Laboratorio de Alimentos de la Universidad Central y los laboratorios LASA en la ciudad de Quito.

Tabla A.10.1 Caracterización físico-química de la bebida alcohólica fermentada conformada por jícama y manzana

Parámetro	Unidad	Resultado
°Brix	(adimensional)	4,00
pH	(adimensional)	3,15
Turbidez	NTU	26,0
Densidad relativa	(adimensional)	0,998
Extracto seco	g/L	21,0
Azúcares reductores	g/L	1,15
Azúcares totales	%	0,20
Grado alcohólico	°G.L.	6,00
Acidez total	g/1000 cm ³	3,70
Acidez volátil	g/1000 cm ³	0,20
Sulfatos	mg/L	148,0
Fosfatos	mg/L	0,28
Cloruros	mg/L	23,3
Bacterias Totales	ufc/mL	< 1
Bacterias Acéticas	ufc/mL	<1
Mohos y levaduras	upc/mL	<1
Lactobacillus spp.	ufc/mL	<1



OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS "OSP"
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
LABORATORIO DE ALIMENTOS
INFORME DE RESULTADOS



INF-LAB-AL-15345
ORDEN DE TRABAJO No 26298

SOLICITADO POR:	David Recalde
DIRECCIÓN DEL CLIENTE:	Juan Figueroa 960 y Huachi
MUESTRA DE:	Vino
DESCRIPCIÓN:	Vino de Bajo Grado Alcohólico de Jicama
LOTE:	-----
FECHA DE ELABORACIÓN:	-----
FECHA DE VENCIMIENTO:	-----
FECHA DE RECEPCIÓN:	10/02/10
HORA DE RECEPCIÓN:	11:32
FECHA DE ANÁLISIS:	10/02/10
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA:	11/02/10
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA	
COLOR:	Característico
OLOR:	Característico
ESTADO:	Líquido
Contenido encontrado: 1000 ml	Contenido declarado: 1000 ml
OBSERVACIONES:	Los resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.
MUESTREADO POR:	El Cliente

INFORME

PARAMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
Grado Alcohólico	°G.L.	6,00	INEN 360
Acidez Total (ácido málico)	g/1000 cm ³	3,70	INEN 341
Acidez Volátil (ácido acético)	g/1000 cm ³	0,20	INEN 341



"Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE"
No OAE LE 1C 04-002



Sandra Morales
Dra. Sandra Morales
JEFE ÁREA DE ALIMENTOS

IMPORTANTE PARA EL USUARIO: Exija el original. La Facultad no se responsabiliza por documentos fotocopiados
Dirección: Francisco Viteri s/n y Gato Sobral Telefax directo: 3216-740 Troncal: 502-262 502-456 Ext. 18
E - mail: sandunga5@hotmail.com Quito - Ecuador RAL-4.1-04

1



OFERTA DE SERVICIOS Y PRODUCTOS
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR
LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA
INFORME DE RESULTADOS



INF.LAB.MI.17302
ORDEN DE TRABAJO No. 26299

SOLICITADO POR: Recalde Rodas David Esteban
DIRECCIÓN DEL CLIENTE: Juan Figueroa 960 y Huachi
MUESTRA DE: Vino
DESCRIPCIÓN: Vino de bajo grado alcohólico de Jicama
LOTE: -----
FECHA DE ELABORACION: -----
FECHA DE VENCIMIENTO: -----
FECHA DE RECEPCION: 10/02/2010
HORA DE RECEPCION: 11h32
FECHA DE ANALISIS: 10/02/2010
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS A LA SECRETARIA: 17/02/2010
CARACTERÍSTICAS DE LA MUESTRA
COLOR: Característico
OLOR: Característico
ESTADO: Líquido
CONTENIDO DECLARADO: 1000 mL
CONTENIDO ENCONTRADO: -----
OBSERVACIONES: Los Resultados que constan en el presente informe se refieren a la muestra entregada por el cliente al OSP.
MUESTREADO POR: EL CLIENTE

INFORME

PARÁMETROS	UNIDAD	RESULTADO	METODO
*Lactobacillus spp (Recuento)	ufc/ml	<1	MMI-20

DATOS ADICIONALES:

NMP/ 100 ml: Número mas probable de coliformes por 100 mililitros



"Los ensayos marcados con (*) no están incluidos en el alcance de la acreditación del OAE"
No OAE LE 1C 04-002




Blaq. Silvana Ortega
JEFA AREA DE MICROBIOLOGIA

IMPORTANTE PARA EL USUARIO: Exija el original. La Facultad no se responsabiliza por documentos fotocopiados
 Dirección: Francisco Viteri s/n y Gato Sobral Telefax directo: 3216-740 Troncal: 502-262 502-456 Ext. 33
 E - mail: laboratoriososp@hotmail.com Quito - Ecuador RMI-4.1-04

INFORME DE RESULTADOS

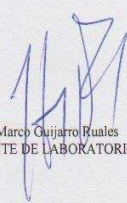
INF. LASA 19-02-10-20581
ORDEN DE TRABAJO No. 006003

SOLICITADO POR: SR. DAVID RECALDE
DIRECCIÓN: FIGUEROA Y MACHALA
TELÉFONO / FAX: 2591-836
TIPO DE MUESTRA: VINO DE JICAMA
PROCEDENCIA: PLANTA
IDENTIFICACIÓN: M1
COD. MUESTRA: 839-10

FECHA RECEPCIÓN: 10-02-10
FECHA DE ANÁLISIS: 10/19-02-10
FECHA DE ENTREGA: 19-02-10
NÚMERO DE MUESTRAS: UNA (1)
MUESTREO: SOLICITANTE

ANÁLISIS FISICO QUIMICO

PARÁMETROS	UNIDADES	RESULTADO DE ENSAYO	MÉTODO DE ENSAYO
SULFATO	mg/l	148,0	APHA 4500 E
FOSFATOS	mg/l	0,28	APHA 4500 C
CLORUROS	mg/l	23,3	APHA 4500 B-Cl
AZUCARES TOTALES	%	0,2	AOAC 974.06


 Dr. Marco Quijarro Ruales
 GERENTE DE LABORATORIO

LASA se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida en el laboratorio. Las incertidumbres de los resultados para los ensayos se encuentran disponibles en los registros de Laboratorio LASA. Prohibida su reproducción parcial o total por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.
 * Opiniones e Interpretaciones están fuera del alcance de acreditación OAE

Pág. 1 de 1



INFORME DE RESULTADOS

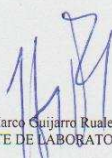
INF. LASA 18-02-10-20581
ORDEN DE TRABAJO No. 006003

SOLICITADO POR: SR. DAVID RECALDE
DIRECCIÓN: FIGUEROA Y MACHALA
TELÉFONO / FAX: 2591-836
TIPO DE MUESTRA: VINO DE JICAMA
PROCEDENCIA: PLANTA
IDENTIFICACIÓN: M1
COD. MUESTRA: 839-10

FECHA RECEPCIÓN: 10-02-10
FECHA DE ANÁLISIS: 10/18-02-10
FECHA DE ENTREGA: 18-02-10
NÚMERO DE MUESTRAS: UNA (1)
MUESTREO: SOLICITANTE

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

PARÁMETROS	RESULTADO DE ENSAYO	MÉTODO DE ENSAYO
BACTERIAS TOTALES ufc / ml	< 1	BAM CAP 3 FDA MODIFICADO
BACTERIAS ACETICAS ufc / ml	< 1	BAM CAP 3 FDA MODIFICADO
HONGOS upc / ml	< 1	BAM CAP 18 FDA
LEVADURAS upc / ml	< 1	BAM CAP 18 FDA


Dr. Marco Quijarro Ruales
GERENTE DE LABORATORIO

LASA se responsabiliza exclusivamente de los análisis, el resultado se refiere únicamente a la muestra recibida en el laboratorio.
Las incertidumbres de los resultados para los ensayos se encuentran disponibles en los registros de Laboratorio LASA
Prohibida su reproducción parcial o total por cualquier medio sin permiso por escrito del laboratorio.
* Opiniones e Interpretaciones están fuera del alcance de acreditación OAE

Pág. 1 de 1



ANEXO XI

RESULTADOS DE ANÁLISIS SENSORIAL DE ACEPTABILIDAD

DEL PRODUCTO FINAL

Tabla A.11.1. Resultados del análisis sensorial de aceptabilidad del producto final

RESULTADOS ANÁLISIS SENSORIAL DE ACEPTABILIDAD					
PANELISTAS	COLOR	AROMA	SABOR	APARIENCIA	PRODUCTO
1	7	6	5	5	6
2	7	7	5	6	6
3	7	7	5	6	6
4	7	5	5	6	6
5	6	6	6	6	6
6	6	5	6	6	6
7	7	6	7	6	6
8	6	6	6	7	6
9	6	7	6	6	5
10	6	6	6	7	5
11	6	7	6	5	6
12	6	5	6	5	6
13	7	6	6	6	6
14	6	6	6	5	6
15	6	6	5	5	6
16	6	5	6	6	6
17	6	5	4	6	6
18	6	6	6	5	6
19	5	6	4	5	6
20	5	6	5	5	6
21	6	6	4	5	6
22	6	6	6	6	6
23	6	5	5	5	5
24	6	6	6	5	6
25	6	6	6	6	6
26	6	6	6	6	6
27	7	7	7	7	7
28	7	6	6	6	7
29	6	7	5	4	7
30	4	6	4	4	6
TOTAL	184	180	166	168	180
PROMEDIO	6,1	6,0	5,5	5,6	6,0
DESVIACIÓN EST	0,68	0,64	0,82	0,77	0,7

Donde:

1 = pésimo
 2 = muy malo
 3 = malo
 4 = regular

5 = bueno
 6 = muy bueno
 7 = excelente.

ANEXO XII

**PARÁMETROS ANALIZADOS EN EL ESTUDIO DE
PREFACTIBILIDAD EN LA ELABORACIÓN DEL PRODUCTO**

En las siguientes tablas se presenta los diferentes parámetros analizados en la prefactibilidad del proyecto.

Tabla A.X12.1 Inversiones Totales

<u>INVERSIONES</u>		
	<u>Valor</u> (USD)	<u>%</u>
Inversión fija	109 683,00	84,93
Capital de operaciones	19 462,30	15,07
<u>INVERSIÓN TOTAL</u>	129 145,30	100,00
<u>CAPITAL PROPIO</u>	129 145,30	100,00

Para realizar el cálculo de la inversión fija fue necesario sumar el valor del terreno, maquinaria y equipos y otros activos. Además, el capital de operación se obtuvo al sumar materiales directos, mano de obra directa, carga fabril, gastos administrativos y de ventas registrado mensualmente.

En las tablas A.12.2, A.12.3 y A.12.4 se presentan los parámetros mencionados anteriormente registrados anualmente.

Tabla A.12.2 Materiales directos

<u>MATERIALES DIRECTOS</u>			
<u>DENOMINACION</u>	<u>Cantidad</u> (kg)	<u>Valor Unitario</u> (USD)	<u>Valor Total</u> (USD)
Jícama	35 000,00	0,20	7 000,00
Manzana	16 000,00	0,33	5 280,00
Levadura	53,00	3,15	166,95
<u>TOTAL</u>	51 053,00		12 446,95

Tabla A.12.3 Carga fabril

<u>CARGA FABRIL</u>			
<u>B. MATERIALES INDIRECTOS</u>			
<u>DENOMINACIÓN</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Costo Unitario</u> (USD)	<u>Costo Total</u> (USD)
detergente	20,00	2,50	50,00
desinfectante	24,00	1,50	36,00
material de limpieza	30,00	2,00	60,00
Bentonita	10,00	10,00	100,00
Gelatina sin sabor	4,00	4,50	18,00
Botellas con tapa	35 000,00	0,23	8 050,00
<u>TOTAL</u>			8 314,00
<u>C. DEPRECIACIÓN</u>			
<u>CONCEPTO</u>	<u>Vida Útil</u> (Años)	<u>Costo</u> (USD)	<u>Valor Anual</u> (USD)
Construcciones	20	23 900,00	478,00
Maquinaria y equipo	10	75 036,00	7 504,00
Computadoras	2	2 000,00	1 000,00
Repuestos y accesorios	10	1 000,00	100,00
Imprevistos de la inversión fija	10	-	-
Gastos de puesta en marcha	10	10 000,00	1 000,00
<u>TOTAL</u>			10 082,00
<u>D. SUMINISTROS</u>			
<u>CONCEPTO</u>	<u>Cantidad</u>	<u>Valor Unitario</u> (USD)	<u>Valor Total</u> (USD)
Energía eléctrica (Kw-h)	15 000,00	0,13	1 950,00
Combustible	3 000,00	0,80	2 400,00
Agua (m ³)	2 000,00	0,15	300,00
<u>TOTAL</u>			4 650,00
<u>E. REPARACIONES Y MANTENIMIENTO</u>			
<u>CONCEPTO</u>	<u>%</u>	<u>Costo</u> (USD)	<u>Valor Total</u> (USD)
Maquinaria y equipo	2,00	75 036,00	1 501,00
Edificios y Construcciones	6,00	23 900,00	1 434,00
<u>TOTAL</u>			2 935,00

Tabla A.12.4 Gastos administrativos y generales

GASTOS DE ADMINISTRACIÓN Y GENERALES			
<u>PERSONAL</u>	<u>N°</u>	<u>Sueldo Mensual</u> (USD)	<u>Total Anual</u> (USD)
Administrador	2	450,00	10 800,00
Gerencia	1	450,00	5 400,00
Secretaria	6	250,00	18 000,00
	<u>SUMAN</u>		25 200,00
	<u>%</u>		
Cargas sociales	0,0		-
	<u>SUMAN</u>		25 200,00
Depreciación de muebles y equipo de oficina (10 años)			50,00
Gastos de oficina (suministros)			25,00
	<u>%</u>		
Imprevistos	1,0		253,00
	<u>TOTAL</u>		S/ 25 528,00

En la tabla A.12.5 se muestra el precio de venta del producto y la cantidad de unidades producidas, para de esta manera obtener el valor total de ingresos anuales.

Tabla A.XII.5 Ventas netas

VENTAS NETAS			
<u>PRODUCTO (S)</u>	<u>Cantidad</u> (unidades)	<u>Valor Unitario</u> (Dólares)	<u>Valor Total</u> (Dólares)
Bebida alcohólica de jícama y manzana	39 058	S/. 3,50	S/ 136 703

En la tabla A.12.6 se muestra el estado de pérdidas y ganancias para el año 2011, en el cuál se realizó un incremento de 9 % al valor de las ventas netas y al

valor del costo de producción, puesto que la maquinaria, equipos e instalaciones fueron diseñados con la finalidad de abastecer este incremento anual.

Tabla A.12.6 Flujo estado de perdidas y ganancias proyectado al 2 011

2 011		
ESTADO DE GANANCIAS Y PÉRDIDAS		
	<u>Valor Anual</u> (USD)	<u>%</u>
Ventas netas	149 006,00	100,00
Costo de producción	55 815,00	37,46
Utilidad bruta en ventas	93 191,00	62,54
Gastos de Ventas	6 180,00	4,15
Utilidad neta en ventas	87 011,00	58,39
Gastos de administración y generales	26 294,00	17,65
Utilidad neta en operaciones	60 717,00	40,75
	<u>%</u>	
Reparto de utilidades a trabajadores	10 929,12	7,33
Utilidad neta del período antes del impuesto sobre las utilidades	49 788,20	33,41
Impuesto a la Renta	12 447,00	8,35
UTILIDAD NETA	37 341,32	25,06

De similar manera a lo efectuado para realizar el estado de pérdidas y ganancias para el año 2 011, se elabora un flujo de fondos futuro de cinco años, es decir hasta el año 2 015, como se muestra en la tabla A.12.7, para de esta manera calcular los principales indicadores financieros la TIR y el VAN.

Tabla A.XII.7 Flujo estado de fondos

TIR		VAN	
FLUJO DE FONDOS		FLUJO DE FONDOS	
AÑO	CANTIDAD (USD)	AÑO	CANTIDAD (USD)
2 010	-129145,30	2 010	-129145,30
2 011	33191,00	2 011	33191,00
2 012	37341,00	2 012	37341,00
2 013	41900,00	2 013	41900,00
2 014	46905,00	2 014	46905,00
2 015	52398,00	2 015	52398,00
TIR	17%	VAN	27.940,54

Como se puede observar el año 2 010 el flujo de fondos es negativo, pues la cantidad corresponde a la inversión total destinada al proyecto, en el primer año se obtiene USD 33 191, cantidad correspondiente a la utilidad neta el primer año y, progresivamente, se realiza el estado de perdidas y ganancias a futuro, y de esta manera se puede obtener los valores de la utilidad neta para los siguientes años.