



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

Estudio de la cinética enzimática del mosto de achotillo (*Nephelium lappaceum* L.) y carambola (*Averrhoa carambola* L.) para la obtención de alcohol etílico, aplicando diferentes microorganismos (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus*) y clarificantes.

Jorge Daniel, Viteri Sánchez

Departamento de ciencias de la Vida y Agricultura

Carrera de ingeniería en Ciencias Agropecuarias

Trabajo de titulación, previo a la obtención del título de Ingeniería Agropecuaria

Ph.D, Juan Alejandro, Neira Mosquera

Santo Domingo - Ecuador

Septiembre 2020



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

CERTIFICACIÓN

Certifico que el trabajo de titulación, “ESTUDIO DE LA CINÉTICA ENZIMÁTICA DEL MOSTO DE ACHOTILLO (*Nephelium lappaceum* L.) Y CARAMBOLA (*Averrhoa carambola* L.) PARA LA OBTENCIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO, APLICANDO DIFERENTES MICROORGANISMOS (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus*) Y CLARIFICANTES”.

Fue realizado por el Señor **VITERI SANCHEZ JORGE DANIEL**, el cual ha sido revisado y analizado en su totalidad por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto cumple con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, razón por la cual me permito acreditar y autorizar para que lo sustente públicamente.

Santo Domingo, 08 de septiembre del 2020

Firma:



Firmado electrónicamente por:
**JUAN ALEJANDRO
NEIRA MOSQUERA**

Neira Mosquera, Juan Alejandro Ph.D.

C.C 0501644470

Urkund Analysis Result

Analysed Document: PROYECTO DE INVESTIGACIÓN Sr. Daniel
Viteri..docx (D78581331)

Submitted: 2020-09-03 19:08 (-05:00)

Submitted By: janeira1@espe.edu.ec

Significance: 7 %

Sources included in the report:

https://issuu.com/kattheriineaguilar/docs/pruebas_de_identificacion_del__meta

<http://loxarel.com/news/analisis%20polifenoles.pdf>

Corazza M. (2001). Preparation and Characterization of Apple Wine. Quim. Nova.

Garcia. (2004). Las Levaduras. En Introducción a la microbiología (págs. 108-116). San José, Costa Rica.

INEN 0362. (2014). Bebidas alcohólicas. Aguardiente de caña rectificado. Requisitos. En I. E. Normalización. Quito.

<https://archive.org/details/ec.nte.0374.1987/page/n3>

<https://studylib.es/doc/5147131/nte-inen-0340--bebidas-alcoh%C3%B3licas.-determinaci%C3%B3n-del-grado>

Watson, J. (1988). Rambutan cultivars in north Queensland after harvest. Queensland Agriculture Journal, 37-41.

Instances where selected sources appear: 15

Firma



Firmado electrónicamente por:
JUAN ALEJANDRO
NEIRA MOSQUERA

Neira Mosquera Juan Alejandro Ph.D.

DIRECTOR



ESPE
UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA

Yo, **VITERI SANCHEZ JORGE DANIEL** con cedula de identidad n° 150061610-5, declaro que el contenido, ideas y criterios del trabajo de titulación: “ESTUDIO DE LA CINÉTICA ENZIMÁTICA DEL MOSTO DE ACHOTILLO (*Nephelium lappaceum* L.) Y CARAMBOLA (*Averrhoa carambola* L.) PARA LA OBTENCIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO, APLICANDO DIFERENTES MICROORGANISMOS (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus*) Y CLARIFICANTES”, es de mi autoría y responsabilidad, cumpliendo con los requisitos legales, teóricos, científicos, técnicos y metodológicos establecidos por la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, respetando los derechos intelectuales de terceros y referenciando las citas bibliográficas.

Santo Domingo, 08 de septiembre del 2020

VITERI SANCHEZ JORGE DANIEL

C.C 1500616105



ESPE

UNIVERSIDAD DE LAS FUERZAS ARMADAS
INNOVACIÓN PARA LA EXCELENCIA

DEPARTAMENTO DE CIENCIAS DE LA VIDA Y DE LA AGRICULTURA

CARRERA DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN

Yo, VITERI SANCHEZ JORGE DANIEL, autorizo a la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE publicar el trabajo de investigación: "ESTUDIO DE LA CINÉTICA ENZIMÁTICA DEL MOSTO DE ACHOTILLO (*Nephelium lappaceum* L.) Y CARAMBOLA (*Averrhoa carambola* L.) PARA LA OBTENCIÓN DE ALCOHOL ETÍLICO, APLICANDO DIFERENTES MICROORGANISMOS (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus*) Y CLARIFICANTES", en el Repositorio institucional, cuyo contenido, ideas y criterios son de mi autoría y responsabilidad.

Santo Domingo, 08 de septiembre del 2020

VITERI SANCHEZ JORGE DANIEL

C.C 1500616105

DEDICATORIA

A Dios, autor y consumidor de todas las cosas, por la salud y sabiduría.

A mis padres Jorge y Deisy, por su infinito amor y apoyo incondicional para llevar a cabo esta etapa importante de mi vida, por sus consejos, que a pesar de los errores cometidos jamás dejaron de brindarme su apoyo, por enseñarme a luchar día a día, por siempre ser parte de mis proyectos, gracias por la mejor herencia, Dios y una profesión, mi eterno agradecimiento.

A mi hermano Samuel, por su cariño, apoyo y por acompañare durante este arduo camino.

A mi tía Gladis y primas Elsy, Karina y Luis, por su apoyo desinteresado, cariño y acogida en su hogar y sus corazones.

A todos mis familiares, amigos y docentes que de una u otra manera han estado presentes durante esta etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTO

A mi director de tesis Ph.D. Juan Neira por el aporte científico de sus conocimientos y apoyo incondicional durante la realización de esta investigación.

A la Ph.D. Sungey Sanchez, por su apoyo incondicional para llevar a cabo esta tesis.

A la Ing. Kathy Medina por su colaboración en los laboratorios de la Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE Santo Domingo.

A la Ing. Lourdes Mackliff por su colaboración en los análisis microbiológicos en los laboratorios de la Universidad Estatal Técnica de Quevedo.

A la ingeniera Yolanda Carrillo, docente del Instituto Calazacón, por su colaboración en el laboratorio de Agroindustrias en dicha institución.

A los estudiantes Emilia Meneses, Jorge Cueva, Ariana Baque, Kelly Caiza y Haider Cuello y Jhoan Plua.

A todos los docentes de las Universidad de las Fuerzas Armadas ESPE, por el aporte de sus conocimientos científicos durante mi preparación para la obtención del título de Ingeniero Agropecuario.

Jorge Daniel Viteri Sánchez

INDICE DE CONTENIDO

CARATULA.....	1
CERTIFICACIÓN	2
ANALISIS DE URKUND	3
RESPONSABILIDAD DE AUTORÍA	4
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN	5
DEDICATORIA.....	6
AGRADECIMIENTO	7
RESUMEN.....	14
SUMMARY	15
CAPITULO I.....	16
INTRODUCCIÓN.....	16
Objetivos	17
General.....	17
Específicos.....	17
Hipótesis	17
CAPITULO II.....	19
REVISIÓN DE LITERATURA	19
LA CARAMBOLA	19
Propiedades de la carambola dulce.....	19
Composición química de la carambola dulce	19
ACHOTILLO	20
Valor Nutritivo.....	21
VINO.....	22
Vino en el mundo	22
Elaboración de Vino de Frutas.....	22
LEVADURA.....	25
Clasificación de levaduras Saccharomyces	26
Morfología taxonómica y fisiología de Saccharomyces cerevisiae	27
Características de Saccharomyces cerevisiae	28
ALCOHOL EÍLICO.....	29
Propiedades físico químicas	29

Características físico químicas.....	30
Aplicaciones y usos del Alcohol etílico	30
METODOLOGÍA	32
UBICACIÓN DEL AREA DE INVESTIGACIÓN	32
Ubicación Política	32
Ubicación Geográfica	32
Ubicación Ecológica.....	33
MATERIALES.....	33
Determinación de Grados Brix	33
Determinación de pH	33
Determinación de Acidez	34
Determinación de Grados Alcohólicos	34
Determinación de densidad	35
Análisis Físico Químico del Vino de Carambola y Achotillo	35
Recuento e identificación de poblaciones microbianas	35
Pruebas toxicológicas para determinar la presencia de metanol en el alcohol etílico	36
Destilación del Vino de Carambola y Achotillo	36
Análisis Físico Químico del Destilado del Vino de Carambola y Achotillo.....	36
MÉTODOS	37
Obtención de la Materia Prima	37
Método de extracción de la pulpa de carambola y achotillo.....	37
Análisis Físico Químico de la pulpa de carambola y achotillo.....	37
Elaboración de Vino de carambola y achotillo	37
Análisis Físico Químico del Vino de Carambola y Achotillo	38
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	38
Factores y Niveles del Experimento	38
Tratamientos	38
Diseño Experimental	39
Variables a Evaluar	40
RESULTADOS.....	45
Resultados del Estudio las características de diferentes mostos mediante parámetros físico-químicas del vino clarificado obtenido a partir de la carambola y achotillo.....	45
Análisis de varianza para la absorbancia del vino clarificado	45
Análisis de varianza para la densidad del vino clarificado	46

	Análisis de varianza para la humedad del vino clarificado	47
	Análisis de varianza para ceniza del vino clarificado	48
	Análisis de varianza para Anhídrido sulfuroso libre vino clarificado.....	49
	Análisis de varianza para ° Brix del vino clarificado.	50
	Análisis de varianza para pH del vino clarificado.....	51
	Análisis de varianza para acidez del vino clarificado.	52
	Análisis de varianza para grados alcohólicos del vino clarificado.....	53
	Análisis de varianza para rendimiento del vino clarificado.....	54
	Análisis de varianza para grados alcohólicos del vino destilado.....	55
	Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para Fruta (Factor A).....	56
	<i>Prueba de significancia de Tukey para Fruta (Factor A)</i>	56
	Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para el Microorganismos (Factor B).....	60
	Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para Clarificantes (Factor C).....	63
	Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para Fruta * Microorganismo (Interacción A*B) 67	
	Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para Fruta * Clarificantes (Interacción A*C) 71	
	Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para Microorganismo * Clarificantes (Interacción B*C).....	75
	Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para Frutas * Microorganismo * Clarificantes (Interacción A*B*C)	79
5	DISCUSIÓN	85
5.1	Con respecto a las Frutas (Factor A).....	85
5.2	Con respecto a los Microorganismos (Factor B)	86
5.3	Con respecto a los Clarificantes (Factor C)	86
5.4	Con respecto a la Interacción (AxBxC).....	87
6	CONCLUSIONES.....	88
7	RECOMENDACIONES.....	90
8	BIBLIOGRAFIA.....	91

Índice de Tablas

Tabla 1. <i>Composición química de la carambola dulce.</i>	20
Tabla 2. <i>Composición química del fruto de rambután por cada 100g de arilo</i>	21
Tabla 3. <i>Características generales de las levaduras.</i>	26
Tabla 4. <i>Recursos necesarios para la determinación de grados brix en la pulpa, vino obtenido a partir de carambola y achotillo.</i>	33
Tabla 5. <i>Recursos necesarios para la determinación de pH en la pulpa, vino obtenido a partir de carambola y achotillo.</i>	33
Tabla 6. <i>Recursos necesarios para la determinación de acidez en la pulpa, vino obtenido a partir de carambola y achotillo.</i>	34
Tabla 7. <i>Recursos necesarios para la determinación de grados alcohólicos en el vino obtenido a partir de carambola y achotillo.</i>	34
Tabla 8. <i>Recursos necesarios para la determinación de densidad del vino de carambola y achotillo.</i>	35
Tabla 9. <i>Recursos necesarios para el recuento e identificación de poblaciones microbianas</i>	35
Tabla 10. <i>Recursos necesarios para la realización de pruebas toxicológicas para determinar la presencia de metanol en el alcohol etílico.</i>	36
Tabla 11. <i>Factores y niveles a probar en el estudio de la cinética enzimática del mosto de achotillo (Nephelium lappaceum l.) y carambola (Averrhoa carambola l.) para la obtención de alcohol etílico, aplicando diferentes microorganismos (Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces ellipsoideus) y tipos de clarificantes.</i>	38
Tabla 12. <i>Tratamientos a comparar en el estudio de la cinética enzimática del mosto de achotillo (Nephelium lappaceum l.) y carambola (Averrhoa carambola l.) para la obtención de alcohol etílico, aplicando diferentes microorganismos (Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces ellipsoideus) y tipos de clarificantes.</i>	38
Tabla 13. <i>Esquema del análisis de varianza para el estudio de la cinética enzimática del mosto de achotillo (Nephelium lappaceum l.) y carambola (Averrhoa carambola l.) para la obtención de alcohol etílico, aplicando diferentes microorganismos (Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces ellipsoideus) y tipos de clarificantes.</i>	39
Tabla 14. <i>Análisis de varianza para Absorbancia del vino clarificado</i>	45
Tabla 15. <i>Análisis de varianza para la densidad del vino clarificado</i>	46
Tabla 16. <i>Análisis de varianza para la humedad del vino clarificado</i>	47
Tabla 17. <i>Análisis de varianza para la ceniza del vino clarificado</i>	48
Tabla 18. <i>Análisis de varianza para Anhídrido sulfuroso libre del vino clarificado</i>	49
Tabla 19. <i>Análisis de varianza para ° Brix del vino clarificado.</i>	50
Tabla 20. <i>Análisis de varianza para pH del vino clarificado.</i>	51
Tabla 21. <i>Análisis de varianza para acidez del vino clarificado</i>	52
Tabla 22. <i>Análisis de varianza para grados alcohólicos del vino clarificado.</i>	53
Tabla 23. <i>Análisis de varianza para rendimiento del vino clarificado.</i>	54
Tabla 24. <i>Análisis de varianza para grados alcohólicos del vino destilado.</i>	55
Tabla 25. <i>Prueba de significancia de Tukey para Fruta (Factor A)</i>	56
Tabla 26. <i>Prueba de significancia de Tukey para Microorganismos (Factor B)</i>	60
Tabla 27. <i>Prueba de significancia de Tukey para clarificantes (Factor C)</i>	63
Tabla 28. <i>Prueba de significancia de Tukey para Fruta * Microorganismo (Interacción A*B)</i>	67
Tabla 29. <i>Prueba de significancia de Tukey para Fruta * Clarificantes (Interacción A*C)</i>	71

Tabla 30. Prueba de significancia de Tukey para Microorganismos * Clarificantes (Interacción B*C).. 75

Tabla 31. Prueba de significancia de Tukey para Frutas * Microorganismo * Clarificantes (Interacción A*B*C) 79

Índice de figuras

Figura 1. Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación	32
Figura 2. Prueba de significancia de Tukey para el Fruta (Factor A)	56
Figura 3. Prueba de significancia de Tukey para Microorganismos (Factor B)	60
Figura 4. Prueba de significancia de Tukey para clarificantes (Factor C)	63
Figura 5. Prueba de significancia de Tukey para Fruta * Microorganismo (Interacción A*B)	67
Figura 6. Prueba de significancia de Tukey para Fruta * Clarificantes (Interacción A*C)	71
Figura 7. Prueba de significancia de Tukey para Microorganismos * Clarificantes (Interacción B*C)	75
Figura 8. Prueba de significancia de Tukey para Frutas * Microorganismo * Clarificantes (Interacción A*B*C)	80

RESUMEN

El objetivo de esta investigación, fue el estudio de la cinética enzimática del mosto de achotillo y carambola, mediante la utilización de dos levaduras y tres clarificantes, para definir mediante parámetros físico-químicos cuales es la mejor el mejor microorganismo y clarificante en el proceso para la obtención de vino y etanol. La presente investigación se realizó en la parroquia Luz de América en los laboratorios de Bromatología y Bioceánicas de la Universidad de Las Fuerzas Armadas-ESPE Sede Santo Domingo de los Tsáchilas. La experimentación se desarrolló mediante ANOVA, trifactorial (Fruta: Achotillo y Carambola; *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus*; Clarificantes: Peptinasa, Arcilla y Papaína) bajo un esquema D.B.C.A con 12 tratamientos con 3 repeticiones, para la separación de medias se aplicó la prueba de Tukey ($P>0,05$). Como resultado se determinó que para la obtención de vino clarificado en la Carambola fue el T1 (Carambola + *S. cerevisiae* + Peptinasa) ya que presento un mejor pH, Acidez, grados Brix y Rendimiento de vino clarificado con una mejor Absorbancia. Al igual que un mayor rendimiento de alcohol destilado con un mayor grado alcohólico.

Palabras clave: *Cinética enzimática, frutas, microorganismos, clarificantes*

SUMMARY

The objective of this research was the study of the enzymatic kinetics of achotillo and carambola must, through the use of two yeasts and three fining agents, to define through physical-chemical parameters which is the best, the best microorganism and clarifier in the process for obtaining wine and ethanol. This research was carried out in the Luz de América parish in the Bromatology and Bioceanic laboratories of the University of the Armed Forces-ESPE Santo Domingo de los Tsáchilas Headquarters. The experimentation was developed through ANOVA, trifactorial (Fruit: Achotillo and Carambola; *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus*; Clarifiers: Peptinase, Clay and Papain) under a DBCA scheme with 12 treatments with 3 repetitions, for the separation of means the test of Tukey ($P > 0.05$). As a result, it was determined that for obtaining clarified wine in Carambola it was T1 (Carambola + *S. cerevisiae* + Peptinase) since it presented a better pH, Acidity, Brix degrees and Yield of clarified wine with better Absorbance. Like a higher yield of distilled alcohol with a higher alcoholic strength.

Keywords: *Kinetic enzyme, fruits, microorganisms, clarifying*

CAPITULO I

1 INTRODUCCIÓN

La carambola es un cultivo introducido hace unos 20 años al país y de limitado consumo interno, que se siembra en el litoral. En contraste, la grosella pequeña es de mayor consumo y más popular en el mercado interno. Sin embargo, los mercados de exportación para la carambola son interesantes y el Ecuador tiene condiciones apropiadas y disponibilidad de suelo para desarrollar este producto debido a que es un cultivo rustico este se adapta muy bien a las condiciones climáticas de las zonas de Quininde, Santo Domingo, La Maná, Quevedo, Bucay, El Triunfo y la región Amazónica (MNS, 2017).

El achotillo (*Nephelium lappaceum* L.) es un frutal tropical originario de Malasia e Indonesia, cultivado principalmente para su consumo como fruta fresca (Watson, 1988) El achotillo (*Nephelium lappaceum* L.) tiene un alto contenido de azúcar, que además de ser un factor positivo para la producción de este vino con propiedades medicinales, no es perjudicial para la salud. Son frutos no climatéricos por lo que se cosechan cuando presentan calidad comestible y apariencia visual óptima (Tindall, 1994).

A pesar que el achotillo y la carambola se cultivan y producen muy bien en el Ecuador, además que poseen muchas ventajas medicinales; estas no recibir un valor agregado o procesamiento que permita su mejor aprovechamiento, como la elaboración de jugos, néctar y jaleas. Al poseer altos contenidos de azúcares, dentro de una de las alternativas de procesos se plantea la elaboración de vino a partir de estas frutas, dándoles un valor agregado y mayor ingreso a los cultivadores, ya que es una técnica fácil implementación y desarrollo.

Es importante destacar que el Ecuador, se ha caracterizado por muchos años como productor de materias primas, una de ellas, las frutas. Es por eso necesario incentivar el cambio de la matriz productiva y comenzar a desarrollar proyectos que nos permitan obtener

productos elaborados disponibles para el consumo humano, y porque no con la capacidad de exportación.

El presente proyecto pretende contribuir con el aprovechamiento de las frutas cultivadas en el Ecuador, en este caso la carambola y el achotillo. El achotillo es un cultivo que se desarrolla muy bien en muchas zonas del Ecuador, sin embargo, esta solo se la comercializa en fresco, sin darle un valor agregado. De la misma manera la carambola es un cultivo que se adapta muy bien a los climas del Ecuador, a diferencia del achotillo esta no se la produce como un cultivo, sino como una planta de jardín y de consumo casero.

1.1 Objetivos

1.1.1 General

- “Estudiar la cinética enzimática del mosto de achotillo (*Nephelium lappaceum L.*) y carambola (*Averrhoa carambola L.*) para la obtención de alcohol etílico, aplicando diferentes microorganismos (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus*) y tipos de clarificantes”.

1.1.2 Específicos

- Valorar las características de diferentes mostos mediante parámetros físico-químicas del vino obtenido a partir de la carambola y achotillo.
- Establecer adecuados tipos de microorganismos en el proceso fermentativo del mosto de frutas.
- Evaluar distintos clarificantes en el proceso de fermentación del mosto de carambola y achotillo.

1.2 Hipótesis

Hipótesis nula

Ho: Los parámetros físico-químicos y microbiológicos utilizados en la fermentación del mosto de carambola y achotillo, no influyen en las características físico-químicas del mismo.

Hipótesis Alternativa

Ha: Los parámetros físico-químicos y microbiológicos utilizados en la fermentación del mosto de carambola y achotillo influyen en las características físico-químicas del mismo.

CAPITULO II

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 LA CARAMBOLA

Es una fruta excelente para consumo fresco y con el procesamiento se puede obtener jaleas, dulces, mermeladas, concentrados, etc. Además se utiliza para el tratamiento de hemorroides, sedativo para pacientes con asma, diurético, vermífugo, antídoto contra venenos y alivia el malestar por el exceso de licor.

2.1.1 Propiedades de la carambola dulce

Posee propiedades nutritivas, ya que por su aporte de vitamina A y vitamina C, que contribuyen a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares.

Por su bajo contenido de hidratos de carbono, riqueza en potasio y bajo aporte de sodio, se recomiendan a personas que sufren de diabetes, hipertensión arterial o afecciones de vasos sanguíneos y corazón.

Por su contenido de potasio ayuda la transmisión y generación del impulso nervioso y para la actividad muscular normal, interviene en el equilibrio de agua dentro y fuera de la célula.

Favorece la absorción del hierro de los alimentos y la resistencia a las infecciones y cumple además una función antioxidante.

2.1.2 Composición química de la carambola dulce

En la siguiente tabla se muestra la composición química de la carambola dulce por cada 100 g de contenido.

Tabla 1. *Composición química de la carambola dulce.*

Contenido de 100 g	
Componente	Cantidad
Calorías	24,0 g
Carbohidratos	5,0 g 300 g
Fibra	1,8 g 25 g
Humedad	92,0 g
Proteína	0,7 g
Beta Caroteno	155,0 mg
Calcio	7,0-162 mg
Hierro	0,4-1.8 mg
Vitamina B1	0,1 mg
Vitamina B2	0,1 mg
Vitamina C	25,8-60 g

Fuente: (The Parker, 2000)

2.2 ACHOTILLO

El rambután (*Nephelium lappaceum* L.), es un frutal tropical exótico, perteneciente a la familia sapindaceae, y es nativo de la región de Malasia e Indonesia. El rambután se ha difundido desde tiempos prehistóricos en la mayoría de los países tropicales del Sureste de Asia. Sin embargo, son introducciones de materiales seleccionados durante el siglo XX, las que han permitido el desarrollo del cultivo en escala comercial en países como Malasia, Indonesia, Tailandia, Filipinas, Singapur, entre otros (Ramirez T. , 2003)

Entre los muchos atributos atractivos y deseables que crean la demanda del frutal, su sabor característico es el más notable a los consumidores. Además, estos frutos son a menudo

de bajo costo, de alto contenido vitamínico (Wills et al., 1981) y se puede utilizar en una amplia gama de productos: bebidas, productos lácteos, postre y gomas.

A nivel mundial, los principales productores: Tailandia, Indonesia y Malasia con 700,000; 350,000 y 70,000 toneladas, respectivamente (Anonimo, 2004).

2.2.1 Valor Nutritivo

Por el sabor dulce y en ocasiones ligeramente ácido de la pulpa, el fruto se consume en fresco o se utiliza para hacer mermeladas, dulce, aguas frescas y jarabes (Fraire, 2001). El agua es el mayor componente del fruto, aunque también tiene proteínas, carbohidratos y vitaminas, entre otros componentes.

Tabla 2. *Composición química del fruto de rambután por cada 100g de arilo*

Composición	Cantidad
Agua	83 g
Valor calórico	63 cal
Proteína	0.8 g
Carbohidratos	14,5 g
Calcio	25 mg
Vitamina C	20-45 mg
Hierro	3 mg

Fuente: (Ramirez, 2004)

2.3 VINO

Existen varias definiciones para describir el vino ya que es una fermentación alcohólica originalmente de la uva, pero en los últimos tiempos se ha experimentado con diversos frutales para diferentes análisis de vino e innovación.

Casares (2010) define al vino de acuerdo a la ley 24/2003, de 10 de julio, de la Viña y el Vino de España:

El vino es el alimento natural obtenido exclusivamente por fermentación alcohólica, total o parcial, de uva fresca, estrujada o no, o de mosto de uva (Casares, 2010).

2.3.1 Vino en el mundo

La calidad de vino se basa fundamentalmente en el consumo de acuerdo al tipo de vino, estadísticamente los vinos tintos representan el 60% del total, el 23% es de vino blanco y 17% del vino rosado (Bernabeu & Olmeda, 2002)

Chile enlista uno de los países pioneros en producción de vino donde este producto es exportado a diversas partes del continente y fuera del mismo también, generando trabajo y aportando ingresos a la matriz productiva donde cada año PRO CHILE (2015) hace un análisis de este sector vitícola reportado por la Organización Internacional de Viña y el Vino:

Tras un año record en 2013 donde la producción mundial de vino alcanzo los 291 millones de hectolitros (Mill. hl), 2014 registró una producción que puede calificarse de media a fuerte con 279 Mill. hl (PROCHILE, 2015)

2.3.2 Elaboración de Vino de Frutas

La elaboración de vino de fruta tiene mucha similitud al proceso de vino de uva convencional, a diferencia que las uvas cultivadas son destinadas exclusivamente para este

proceso ya que suelen tener en su fisionomía cepas de levadura silvestres y no tienen necesidad de incorporar más de esta levadura durante el proceso.

La fermentación del vino debe realizarse en cubar de madera, acero inoxidable, depósitos de cemento (forrado con vidrio resistente), depósitos de plástico, es importante estos depósitos para realizar este proceso ya que atenúan y no alteran las características organolépticas.

El proceso se realiza en ausencia de oxígeno (proceso anaerobio), luego el vino se envejece en toneles de madera por varios meses para mejorar sus propiedades organolépticas (Coronel, 2008)

2.3.2.1 Recepción

La recepción consiste en cuantificar la fruta fresca que entrara al proceso de elaboración de vino, en esta área debe utilizar recipientes apropiados y balanzas calibradas y limpias.

2.3.2.2 Lavado y selección de frutas

Esta operación cumple un papel fundamental debido a la calidad del producto final depende de la ejecución de esta área; se debe utilizar frutas maduras (no sobre maduras), limpias, sanas con aromas penetrantes y agradables (Coronel, 2008)

Las frutas deben ser lavadas para eliminar microorganismos superficiales, restantes de insecticidas y residuos de suciedad adquirida de la fruta como polvo, agua colorada o lodo. Luego se seleccionan considerando los requisitos; impuestos por la industria u organismo de calidad; que debe tener la fruta fresca para luego ser sometido a un proceso industrial.

2.3.2.3 Preparación del mosto

Posterior a la recepción de materia prima y el lavado de la fruta adecuado se procede a la preparación del mosto, el cual se obtiene luego del estrujado de la uva o la extracción del

jugo de la fruta fresca. Se procede a realizar los análisis físicos y químicos como pH, Sólidos Totales (Brix), acidez total y temperatura; esto ayuda a ajustar estos factores a los parámetros establecidos para dar inicio a la fermentación.

2.3.2.4 Fermentación

Las bebidas alcohólicas son elaboradas por un proceso bioquímico, la fermentación, proceso mediante el cual el azúcar presente en las frutas o vegetales en conjunto con la levadura por lo que da como resultado alcohol y gas carbónico. Para activar la fermentación se necesita levadura, en el caso de las uvas se encuentran cepas de *Saccharomyces silvestre* en la misma fruta, en la fermentación de vino de frutas o cervezas se añade levadura de diversas clases de acuerdo a la bebida alcohólica que se requiera (Hernandez, 2013)

Los científicos Lavoiser (1787), Gay Lussac (1820) y Dumas (1849), lograron identificar los principales productos obtenidos de la fermentación: alcohol etílico, anhídrido carbónico y ácido acético, de acuerdo a la siguiente ecuación química (Gonzalez, 2012).

2.3.2.5 Clarificación

Luego de la fermentación el vino contiene algunas partículas suspendidas, y debido a esto no es apreciado a la vista del consumidor, por esta razón se necesita clarificado mediante diversos métodos:

Método de Trasiego: proceso por el cual el vino pasa de un contenedor a otro para que se elimine las partículas lo mayormente posible.

Método de Clarificante: producto que coagula elementos sólidos que hace ver turbio el vino arrastrándolas hasta el fondo para clarificar el vino.

Método de la técnica mecánica de filtración: consiste en traspasar el vino por una capa filtrante de poros muy finos, evita la alteración de la calidad sensorial del producto final (Mendez, 2006).

2.3.2.6 Filtrado

Con un propósito similar a la clarificación, se hace pasar el vino por un elemento poroso o una membrana, desde filtros de tierra hasta los modernos esterilizantes amicróbicos, para retener las materias en suspensión y así darle finalmente un mejor aspecto.

2.3.2.7 Maduración y embotellado

En el proceso de maduración el vino (producto final) se deja por más tiempo para que su sabor y aroma se atenué. Si se hace en barriles de madera, el vino adquiere sabor a vainilla, especias y algunas veces humo. Si se deja en recipientes de vidrio su sabor y aroma no será alterado.

La temperatura adecuada para el proceso de maduración del vino debe ser de 10° C a 20° C (Ferreyra, Schwab, Gerard, Zapata, & Davies, 2009).

La limpieza y desinfección figura en el embotellamiento y almacenamiento del vino, ya que usan reactivos ajenos al vino que puede alterar sus características; el almacenamiento únicamente no consiste en guardar grandes volúmenes de líquido, sino que comprende en numerosas actividades como limpieza y desinfección de los tanques; su mantenimiento y conservación; la aplicación de dióxido de azufre, ácido ascórbico, ácido tartárico, gases inertes, taninos y albuminas; y otros procesos adicionales, como mezcla, aglutinación, filtrado, centrifugación, entre otros.

2.4 LEVADURA

Los microorganismos son los responsables de la transformación de glucosa (azúcar) en alcohol etílico y como resultado da un vino ya sea de uva específicamente o de diversas frutas. Las levaduras son las encargadas en concreto de realizar el proceso bioquímico denominado fermentación alcohólica (Mesas & Alegre, 1999).

En el grupo de las levaduras se encuentran alrededor de 350 especies; clasificadas a su vez en 39 géneros, lo que significa que dentro del reino fungí representa un pequeño grupo (García, Quintero, & López, 2004).

Las levaduras se encuentran distribuidas en la naturaleza, por ejemplo en el suelo, en la superficie de las frutas y plantas acuáticas, también en néctares de las plantas. En la tabla 3 se presenta las características generales de las levaduras:

Tabla 3. Características generales de las levaduras.

Características	Levaduras
Dimensiones (micras)	4-8
Tiempo de duplicación (horas)	1-3
pH (Rango óptimo)	4,5-5,5
Nitrógeno (%)	7,5-8,5
Proteína (%)	35-45
Ácidos nucleicos (%)	6-12
Carbohidratos (%)	30-45

Fuente: Evaluación de la melaza de caña como sustrato para la producción de *S. cerevisiae* (Fajardo & Sarmiento, 2007)

2.4.1 Clasificación de levaduras *Saccharomyces*

Las levaduras del género *Saccharomyces* han estado en relación con la producción de bebidas alcohólicas, en especial del vino, en este grupo destacan (García, 2004):

- *S. cerevisiae*
- *S. uvarum*

- *S. carlsbergensis*
- *S. bayanus*
- *S. ellipsoidus*
- *S. chevalieri*
- *S. oviformis*
- *S. italicus*
- *S. capensis*
- *S. vini*
- *S. sake* y entre otras.

La biología molecular ha ayudado en el estudio de la taxonomía de estos microorganismos, debido a que ayudo a establecer con exactitud la clasificación de las levaduras, y se ha llegado a la conclusión que a pesar de la gran diversidad de formas, funciones y características bioquímicas, las especies antes mencionadas no son más que diferentes cepas de una especie *Saccharomyces cerevisiae* (Garcia, 2004).

2.4.2 Morfología taxonómica y fisiología de *Saccharomyces cerevisiae*

Las levaduras son organismos eucarióticos unicelulares, es decir que su estructura se encuentra formada por pared celular, un núcleo diferenciado y organelos (ribosomas y mitocondrias), mitocondria depende de las condiciones fisicoquímicas y la edad del cultivo (Fajardo & Sarmiento, 2007). Estos microorganismos no forman un grupo definido, ya que no son una entidad taxonómica natural que tenga uniformidad morfológica (Uribe, 2007).

Clasificación taxonómica de *Saccharomyces cerevisiae*

Reino:	Hongo
División:	Amastogomycota
Clase:	Ascomycetes

Subclase:	Hemiascomycetidae
Orden:	Endomycetales
Familia:	Saccharomycetaceae
Género:	Saccharomycetidae
Especie:	cerevisiae

Las características fisiológicas de las levaduras son las siguientes:

Temperatura: La levadura deber desarrollar a temperaturas con un rango de 5 a 37° C pero su óptimo valor de crecimiento debe ser entre 25° C a 30° C, ya que generalmente estas se desarrollan a los grados del ambiente en el cual se encuentre, no son microorganismos termófilos pero pueden destruirse al llegar a 52° C (Uribe, 2007).

pH: crecimiento de pH óptimo de las levaduras es de 4 a 5,5, aunque hay especies que toleran grandes cambios como de medios muy ácidos o medios alcalinos.

Nutrición: necesita de nitrógeno, carbono y compuestos orgánicos, contiene aproximadamente 50% de materia seca manifestado en carbono y a su vez sirve como fuente de energía para la actividad de la levadura, utilizan azúcares para su nutrición como g-glucosa, g-fructosa g-manosa. El fosforo conlleva un papel muy importante ya que es uno de los compuestos que se encarga en la producción de etanol a partir de azúcares, potasio estimula la fermentación, regulador y activa otras enzimas (Uribe, 2007).

2.4.3 Características de *Saccharomyces cerevisiae*

Las levaduras son organismos heterótrofos, por ellos necesitan de carbono orgánico para obtener energía y carbono para sintetizar componentes celulares, pero estos requerimientos nutricionales suelen cambiar considerablemente entre las distintas especies (García, 2004) Se dividen asexualmente por fisión o gemación, algunas de ellas según su género se reproduce por medio de un ciclo sexual mediante conjunción.

Las levaduras pueden ser clasificadas por sus diferentes características bioquímicas (Mesas & Alegre, 1999):

El tipo de azúcares que estos puedan fermentar

- El rendimiento de alcohol, las hay para producir 1 grado de alcohol y consumen de 17 a 18 g de azúcar, otras en cambio con menor rendimiento metabolizan de 21 a 22 g de azúcar.
- Su poder alcohológeno, o grado máximo d alcohol que pueden alcanzar ya que algunas detienen su actividad a los 5% Volumen (Vol) mientras que otras llegan a 17 o 18% Vol
- Productos secundarios de la fermentación
- Resistencia al anhídrido sulfuroso
- Tienen una capacidad de asimilar diversas sustancias nitrogenadas

Entre otras características generales de las cepas de levadura tenemos que tienen una capacidad de flocular durante la fermentación, capacidad para producir alcohol, tolera altos grados de etanol, crece en medio de abundante presencia de agua, capacidad y vigor en la fermentación de azúcares (Garcia, 2004).

2.5 ALCOHOL EÍLICO

2.5.1 Propiedades físico químicas

- Grado alcoholimétrico: 96° min
- Aspecto: Líquido transparente e incoloro.
- Olor: Característico alcohólico
- pH: neutro
- Punto de inflamación: 14°C
- Punto de ebullición: 78,3°C

- Punto de fusión: -114°C
- Temperatura de auto ignición: 365°
- Límites de explosión (inferior/superior): 3,3 / 19 v/v. %
- Presión de vapor: (20°C) 59,2 mbar
- Densidad (20°C): 0,806 g/l
- Solubilidad: Miscible con agua
- Solubilidad: Miscible totalmente con agua
- Denominación técnica: ETANOL (Cooperación Química Venezolana, 2010).

2.5.2 Características físico químicas

- Hidrocarburo Alifático.
- Fórmula Química: C₂H₅OH.
- Diluyente Universal.
- Líquido Inflamable.
- Incoloro.
- Olor etéreo.
- Sabor acre.
- Soluble en agua, Cloroformo y Alcohol Metílico (Cooperación Química Venezolana, 2010).

2.5.3 Aplicaciones y usos del Alcohol etílico

Según Cornejo, 2012 las siguientes aplicaciones son las más comunes del alcohol etílico:

Además de usarse con fines culinarios (bebida alcohólica), el etanol se utiliza ampliamente en muchos sectores industriales y en el sector farmacéutico, como excipiente de

algunos medicamentos y cosméticos (es el caso del alcohol antiséptico 70° GL y en la elaboración de ambientadores y perfumes).

Es un buen disolvente, y puede utilizarse como anticongelante. También es un desinfectante. Su mayor potencial bactericida se obtiene a una concentración de aproximadamente el 70 %.

La industria química lo utiliza como compuesto de partida en la síntesis de diversos productos, como el acetato de etilo (un disolvente para pegamentos, pinturas, etc.), éter dietílico, etc.

También se aprovechan sus propiedades desinfectantes.

Se emplea como combustible industrial y doméstico. Este además contiene compuestos como la pirovidos exclusivamente a alcohol. Esta última aplicación se extiende también cada vez más en otros países para cumplir con el protocolo de Kyoto. Estudios del Departamento de Energía de EUA dicen que el uso en automóviles reduce la producción de gases de invernadero en un 85 %. Cita requerida en países como México existe la política del ejecutivo federal de apoyar los proyectos para la producción integral de etanol y reducir la importación de gasolinas que ya alcanza el 60 %.

Como se ha mencionado dentro de los usos del alcohol etílico el más difundido es el de la elaboración de bebidas alcohólicas uno de los más conocidos, sin embargo, al etanol también se lo emplea en la industria como un compuesto de partida para la sintetización de diferentes productos como el acetato de etilo (disolvente de pinturas) y en áreas como la farmacéutica y de cosmética, siendo la desinfección y la participación en la fabricación de ambientadores y perfumes, respectivamente, las más importantes.

CAPITULO III

3 METODOLOGÍA

3.1 UBICACIÓN DEL AREA DE INVESTIGACIÓN

3.1.1 Ubicación Política

País: Ecuador

Provincia: Santo Domingo de los Tsáchilas

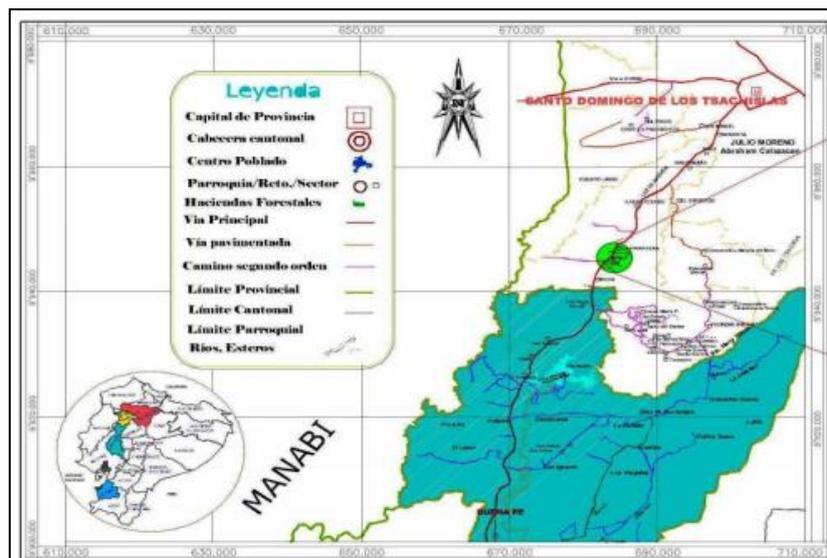
Cantón: Santo Domingo

Parroquia: Luz de América

Sector: km 35 Vía Quevedo

3.1.2 Ubicación Geográfica

Figura 1. Ubicación geográfica donde se desarrolló la investigación



Latitud: 00° 24' 36"

Longitud: 79° 18' 43"

Altitud: 270 msnm

3.1.3 Ubicación Ecológica

Zona de vida: Bosque húmedo Tropical

Altitud: 224 msnm

Temperatura media: 24,6 ° C

Precipitación: 2860 mm año-1

Humedad relativa: 85%

Heliofanía: 680 horas luz año-1

Suelos: Francos Arenoso

Fuente: Estación Agro Meteorológica "Puerto Ila" Vía Quevedo km 34.

3.2 MATERIALES

3.2.1 Determinación de Grados Brix

Tabla 4.

Recursos necesarios para la determinación de grados brix en la pulpa, vino obtenido a partir de carambola y achotillo.

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
Refractómetro	Pisetas	Pulpa de carambola
		Pulpa de carambola
		Vino de carambola
		Vino de achotillo

3.2.2 Determinación de pH

Tabla 5.

Recursos necesarios para la determinación de pH en la pulpa, vino obtenido a partir de carambola y achotillo.

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
		Pulpa de carambola
Potenciómetro	Vaso de precipitación de 200 ml	Pulpa de carambola Vino de carambola Vino de achotillo

3.2.3 Determinación de Acidez

Tabla 6.

Recursos necesarios para la determinación de acidez en la pulpa, vino obtenido a partir de carambola y achotillo.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
Potenciómetro	Vaso de precipitación	NaOH 0,1N	Pulpa de carambola
Agitador	de 200 ml	Agua destilada	Pulpa de carambola
Plancha térmica magnética			Vino de carambola
Equipo de titulación			Vino de achotillo

3.2.4 Determinación de Grados Alcohólicos

Tabla 7.

Recursos necesarios para la determinación de grados alcohólicos en el vino obtenido a partir de carambola y achotillo.

Equipos	Materiales/Insumos	Muestras
		Vino de carambola
Alcoholímetro	Probeta de 200 ml	Vino de achotillo

3.2.5 Determinación de densidad

Tabla 8.

Recursos necesarios para la determinación de densidad del vino de carambola y achotillo.

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
			Pulpa de carambola
Baño maría	Picnometro	Agua destilada	Pulpa de carambola
Balanza analítica			Vino de carambola
			Vino de achotillo

3.2.6 Análisis Físico Químico del Vino de Carambola y Achotillo

Después de que pase el tiempo de fermentación correspondiente de los tratamientos se procederá a evaluar las características de la bebida obtenida; se determinarán los grados brix, pH, acidez y grados alcohólicos de la misma.

3.2.7 Recuento e identificación de poblaciones microbianas

Tabla 9.

Recursos necesarios para el recuento e identificación de poblaciones microbianas

Equipos	Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
		Medio de cultivo PDA	
Incubadora	Tubos d ensayo	Medio de cultivo Manitol	Pulpa de carambola
Autoclave	Láminas Petrifilm	H2O2 (Agua Oxigenada)	Pulpa de carambola
Cámara de flujo laminar	Mecheros	KOH	Vino de carambola
	Asas Met	Agua destilada	Vino de achotillo
Microscopio		Azul de metileno	

Safranina

Aceite de inmersión

Alcohol-acetona

3.2.8 Pruebas toxicológicas para determinar la presencia de metanol en el alcohol etílico

Tabla 10.

Recursos necesarios para la realización de pruebas toxicológicas para determinar la presencia de metanol en el alcohol etílico.

Materiales/Insumos	Reactivos	Muestras
	Permanganato de potasio 1%	
	Ácido sulfúrico puro	
Vaso de precipitación	Acido oxálico	Alcohol etílico de
Balanza analítica	Ácido sulfúrico	vino de carambola y
Pipeta automática	Fuxina bisulfatada (reactivo de Shiff)	achotillo
Puntas desechables	Yodo	
	Hidróxido de sodio	

3.2.9 Destilación del Vino de Carambola y Achotillo

Inmediatamente después de evaluar las características físico-químicas del vino de mucílago de cacao se procederá a filtrar el mismo para evitar problemas con la destilación y a continuación se procederá a destilar el mismo a 65°C.

3.2.10 Análisis Físico Químico del Destilado del Vino de Carambola y Achotillo

Una vez obtenido el destilado del vino se procederá a evaluar sus características físico-químicas como grados brix, pH, acidez y grados alcohólicos; además se enviara una muestra del líquido destilado a un laboratorio que determinara si existe presencia de metanol en el mismo.

3.3 MÉTODOS

3.3.1 Obtención de la Materia Prima

La obtención de la materia prima se la realizara por la compra directa de las frutas de carambola y achotillo; en el caso del achotillo se lo realizara en el mercado mayorista de frutas de la costa y la carambola se la comprara en varias fincas donde existen las plantas, ya que no existe un cultivo intensivo o un mercado donde se venda esta fruta. La fruta deberá estar en el punto de madurez adecuado para obtener una mayor cantidad de azúcares; se obtendrá toda la fruta necesaria para extraer aproximadamente 10 litros de pulpa de cada fruta.

3.3.2 Método de extracción de la pulpa de carambola y achotillo

Una vez lavadas y peladas las frutas se procederá a extraer la pulpa mediante la utilización de un despulpador industrial, en forma de tambor. El cual cuenta con un tambor interno con orificios que solo permiten el paso de la pulpa y no de las semillas y bagazo. Se recolectara la pulpa en un recipiente previamente esterilizado para evitar la contaminación.

3.3.3 Análisis Físico Químico de la pulpa de carambola y achotillo

Una vez obtenida la pulpa se realizará el análisis físico químico del mismo, el que consiste en evaluar los grados brix, pH y acidez, utilizando los equipos y materiales detallados anteriormente.

3.3.4 Elaboración de Vino de carambola y achotillo

Inmediatamente después de realizar el análisis físico químico de la pulpa de las frutas, se realizara un tratamiento térmico durante 30 minutos a una temperatura de 90° C, con la finalidad de evitar la contaminación por microorganismos. Cuando el producto se enfrié hasta llegar a una temperatura de 50° C, se medirán los grados Brix, se colocará en la estufa a 40° C con la finalidad de evaporar el agua hasta alcanzar los 19° Brix. Luego se colocara la levadura,

de acuerdo como lo requiera cada tratamiento, esta se la disolverá en una mínima cantidad del mismo producto y luego se la adicionara a toda la mezcla.

Se colocará el mosto en botellas de color oscuro y se dejará fermentar los días que se detallan en los tratamientos.

3.3.5 Análisis Físico Químico del Vino de Carambola y Achotillo

Después de que pase el tiempo de fermentación correspondiente de los tratamientos se procederá a evaluar las características de la bebida obtenida; se determinarán los grados brix, pH, acidez y grados alcohólicos de la misma.

3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

3.4.1 Factores y Niveles del Experimento

Tabla 11.

Factores y niveles a probar en el estudio de la cinética enzimática del mosto de achotillo (Nephelium lappaceum l.) y carambola (averrhoa carambola l.) para la obtención de alcohol etílico, aplicando diferentes microorganismos (Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces ellipsoideus) y tipos de clarificantes.

Factores	Niveles
Frutas (F)	f1= Carambola f2= Achotillo
Microorganismo (M)	m1= <i>S. cerevisiae</i> m2= <i>S. ellipsoideus</i>
Clarificante (C)	c1= Peptinasa c2= Arcillas c3= Papaína

3.4.2 Tratamientos

Tabla 12.

Tratamientos a comparar en el estudio de la cinética enzimática del mosto de achotillo (*Nephelium lappaceum* L.) y carambola (*Averrhoa carambola* L.) para la obtención de alcohol etílico, aplicando diferentes microorganismos (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus*) y tipos de clarificantes.

Tratamiento	Código	Descripción
T1	f1m1c1	Carambola + <i>S. cerevisiae</i> + Peptinasa.
T2	f1m1c2	Carambola + <i>S. cerevisiae</i> + Arcilla.
T3	f1m1c3	Carambola + <i>S. cerevisiae</i> + Papaína.
T4	f1m2c1	Carambola + <i>S. ellipsoideus</i> + Peptinasa.
T5	f1m2c2	Carambola + <i>S. ellipsoideus</i> + Arcilla.
T6	f1m2c3	Carambola + <i>S. ellipsoideus</i> + Papaína.
T7	f2m1c1	Achotillo + <i>S. cerevisiae</i> + Peptinasa.
T8	f2m1c2	Achotillo + <i>S. cerevisiae</i> + Arcilla.
T9	f2m1c3	Achotillo + <i>S. cerevisiae</i> + Papaína.
T10	f2m2c1	Achotillo + <i>S. ellipsoideus</i> + Peptinasa.
T11	f2m2c2	Achotillo + <i>S. ellipsoideus</i> + Arcilla.
T12	f2m2c3	Achotillo + <i>S. ellipsoideus</i> + Papaína.

3.4.3 Diseño Experimental

La investigación se diseñó mediante ANOVA multifactorial (DBCA) con arreglo (2X2X3) y tres repeticiones por tratamiento, considerando la necesidad de detectar diferencias en las réplicas debido a la sensibilidad de los equipos y las técnicas, ya que se trata de una investigación de laboratorio.

Tabla 13.

Esquema del análisis de varianza para el estudio de la cinética enzimática del mosto de achotillo (*Nephelium lappaceum* L.) y carambola (*Averrhoa carambola* L.) para la obtención de alcohol etílico, aplicando diferentes microorganismos (*Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces ellipsoideus*) y tipos de clarificantes.

Fuente de Variación		Grados de Libertad
Frutas	F-1	1
Microorganismos	M-1	1

Clarificantes	C-1	2
Frutas x Microorganismos	(F-1)(M-1)	1
Frutas x Clarificantes	(F-1)(C-1)	2
Microorganismos x Clarificantes	(M-1)(C-1)	2
Frutas x Microorganismos x Clarificantes	(F-1)(M-1)(C-1)	2
Replicas	r-1	2
Error Experimental	*-1	22
Total	(F x M x C x r)-1	35

$$*=[(F \times M \times C \times r) - 1] - [(F-1) + (M-1) + (C-1) + (F-1)(M-1) + (F-1)(C-1) + (M-1)(C-1) + (F-1)(M-1)(C-1) + (r-1)]$$

3.4.3.1 Análisis funcional

Se realizó la prueba de significancia de Tukey al 5%.

3.4.4 Variables a Evaluar

3.4.4.1 Rendimiento

Se evaluó el rendimiento de la pulpa y el rendimiento de vino por kilogramo de fruta de carambola y achotillo. Además se midió el rendimiento en alcohol etílico, mediante cromatografía.

3.4.4.2 pH

Se evaluó el pH de la pulpa de la carambola y achotillo obtenido y el pH del vino utilizando un potenciómetro digital.

3.4.4.3 Acidez titulable

- Para la determinación de la acidez titulable de la pulpa de carambola y achotillo y del vino se procedió a realizar la siguiente metodología establecida para este proceso:
- Se colocó en un matraz volumétrico de 25 a 100 cm³ de la muestra preparada, según la acidez esperada, y sumergir los electrodos en la muestra.
- Se añadió rápidamente de 10 a 50 cm³ de la solución 0,1 N de hidróxido de sodio, agitando hasta alcanzar pH 6, determinado con el potenciómetro.
- Se continuó añadiendo lentamente solución 0,1 N de hidróxido de sodio hasta obtener pH 7; luego, adicionar la solución 0,1 N de hidróxido de sodio en cuatro gotas por vez,

registrando el volumen de la misma y el pH obtenido después de cada adición, hasta alcanzar pH 8,3 aproximadamente.

- e) Por interpolación, estableció el volumen exacto de solución 0,1 N de hidróxido de sodio añadido, correspondiente al pH 8,1 y aplicar la siguiente fórmula:

$$A = ((V_1 N_1 M)10)/V_2$$

Siendo:

A = g de ácido en cm³ de producto.

V₁ = cm³ de NaOH usados para la titulación de la alícuota.

N₁ = normalidad de la solución de NaOH.

M = peso molecular del ácido considerado como referencia.

V₂ = volumen de la alícuota tomada para el análisis.

3.4.4.4 Grados brix.

Esta variable se la determinara con un refractómetro, colocando con una piseta una mínima cantidad en el lente y se dará lectura al resultado; este procedimiento se lo realizara para la pulpa y vino obtenido de la carambola y achotillo.

3.4.4.5 Grado alcohólico

Se determinará en el vino de mucílago de cacao y alcohol etílico obtenido con ayuda de un alcoholímetro que se colocará en una probeta con la muestra a evaluar.

3.4.4.6 Determinación de sólidos solubles del mosto y vino

Se colocó de dos a tres gotas de la muestra en el prisma fijo del refractómetro y se procedió a leer la cantidad de sólidos solubles totales en grados Brix.

3.4.4.7 Determinación de densidad del vino

- Se realizó de acuerdo con el procedimiento según la NTE (INEN 391, 1986).
- Se pesó el picnómetro completamente limpio y seco con aproximación al 0,1 mg.
- Se llenó el picnómetro con agua destilada (recientemente hervida y enfriada hasta 15°-18°C) hasta la marca respectiva, evitando la formación de burbujas de aire.
- Se colocó la tapa y sumergió el picnómetro en el baño de agua a $20^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, durante 30 min.
- Se retiró el picnómetro del baño y se sacó exteriormente por completo y pesarlo con aproximación al 0,1 mg.
- Se vació, secó y limpió cuidadosamente el picnómetro y se colocó en él la muestra hasta la marca respectiva, evitando la formación de burbujas de aire; tapar y sumergir el picnómetro en el baño de agua a $20^{\circ} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, durante 30 min.
- Se retiró el picnómetro del baño, se secó cuidadosamente por la parte exterior y pesó con aproximación al 0,1 mg.

Cálculos:

La densidad relativa a 20/20°C se determina mediante la ecuación siguiente:

$$d = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1}$$

Siendo:

d = densidad relativa a 20/20°C.

m1 = masa del picnómetro vacío, en g.

m2 = masa del picnómetro con agua, en g.

m3 = masa del picnómetro con la muestra, en g.

3.4.4.8 Determinación del rendimiento del vino y alcohol etílico

- Para el rendimiento del vino se midió los ml iniciales de jugo de fruta que se puso a fermentar en las botellas, y después se midió los ml finales del vino obtenido y se utilizó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de rendimiento:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{ml de jugo de fruta a fermentar}}{\text{ml de vino final}} \times 100$$

- Para el rendimiento del alcohol etílico se midió los ml iniciales de vino que se puso a destilar, y después se midió los ml finales del alcohol etílico obtenido y se utilizó la siguiente fórmula para calcular el porcentaje de rendimiento:

$$\% \text{ rendimiento} = \frac{\text{ml de vino a destilar}}{\text{ml de alcohol etílico}} \times 100$$

3.4.4.9 Determinación de grados alcohólicos del vino y alcohol etílico

- Se determinó de acuerdo con el procedimiento de la NTE (INEN 340, 1994).
- Se procedió a colocar la muestra preparada en la probeta perfectamente limpia y seca.
- Se limpió y secó cuidadosamente el alcoholímetro y se introdujo suavemente en la probeta con la muestra, manteniéndolo así durante 10 minutos.
- Se dejó en reposo hasta que desaparezcan las burbujas de aire que se forman en el seno del líquido y se efectuó la lectura en el alcoholímetro, considerando el nivel real del líquido y no la elevación del menisco, utilizando una lupa, si fuera necesario.

3.4.4.10 Recuento e identificación de poblaciones microbianas

- **Inoculación en lámina Petrifilm**

- a. Se preparó la muestra (vino carambola y achotillo), en base a las diluciones 10^{-4} , 10^{-3} y 10^{-2} .
- b. Se procedió a inocular (levaduras y bacterias), transfiriendo 1 ml del inóculo a la superficie de la lámina de Petri film.
- c. Se deslizó cuidadosamente hacia abajo la película con el fin de evitar que queden burbujas atrapadas.

- d. Se colocó el difusor encima del inóculo, el círculo dentado limitará el área por la que se extienda el inóculo.
- e. Se aplicó suavemente presión sobre el difusor para distribuir uniformemente el inóculo sobre la totalidad del área circular.
- f. Se retiró el difusor y se esperó 1 minuto para que el gel solidifique.
- g. Se incubó el Petri film de bacterias a 37°C y el de levaduras a 24°C por 48 horas.
- h. Transcurrido este período se procedió a efectuar el conteo.
- i. El número de microorganismos se calculó con la siguiente fórmula según (Yousef & Carlstrom, 2003).

$$\text{Recuento}\left(\frac{\text{UFC}}{\text{ml}}\right) = \frac{\text{media del numero de colonias de placas duplicadas}}{\text{factor de dilución x volumen inoculado en la placa}}$$

3.4.4.11 Análisis de Metanol

Los análisis de metanol se realizaron en el Laboratorio de Bromatología de la Universidad de las Fuerzas Armadas, bajo las normas y respectivos parámetros a seguir.

4 RESULTADOS

4.1 Resultados del Estudio las características de diferentes mostos mediante parámetros físico-químicas del vino clarificado obtenido a partir de la carambola y achotillo.

4.1.1 Análisis de varianza para la absorbancia del vino clarificado

Tabla 14.

Análisis de varianza para Absorbancia del vino clarificado

<i>Fuente</i>	<i>SC</i>	<i>Gl</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Fruta	0,124256	1	0,124256	25587,87	0,0000
B:Microorganismo	0,771762	1	0,771762	158927,64	0,0000
C:Clarificante	30,2621	2	15,1311	3115913,6	0,0000
D:Repetición	0,000033166	2	0,0000165833	3,41	0,0511
INTERACCIONES					
AB	0,0193674	1	0,0193674	3988,29	0,0000
AC	0,188028	2	0,0940141	19360,15	0,0000
BC	0,927162	2	0,463581	95464,44	0,0000
ABC	0,000762389	2	0,000381194	78,50	0,0000
RESIDUOS	0,000106833	22	0,00000485606		
TOTAL	32,2936	35			

En la **tabla 14** analizando la absorbancia del vino clarificado se encontró diferencia significativa en el los tipos de frutas (Factor A), en los tipos de microorganismos (factor B), y en los diferentes clarificantes (factor C), así como en las interacciones (A*B, A*C, B*C y A*B*C), mientras que en las repeticiones no existió diferencia significativa por lo tanto se pudo determinar que existió normalidad en la toma de datos.

4.1.2 Análisis de varianza para la densidad del vino clarificado

Tabla 15.

Análisis de varianza para la densidad del vino clarificado

Fuente	SC	Gl	CM	Razón-F	Valor-P
A:Fruta	0,00026678	1	0,0002668	192,78	0,0000
B:Microorganismo	0,000001	1	0,000001	0,72	0,4044
C:Clarificante	0,000030056	2	0,0000150	10,86	0,0005
D:Repetición	0,000006889	2	0,0000034	2,49	0,1061
INTERACCIONES					
AB	0,000040111	1	0,0000401	28,99	0,0000
AC	0,000007056	2	0,0000035	2,55	0,1010
BC	0,0000005	2	0,0000002	0,18	0,8359
ABC	0,000003722	2	0,0000018	1,34	0,2812
RESIDUOS	0,0000304444	22	0,0000013		
TOTAL	0,000386556	35			

En la **tabla 15** analizando la absorbancia del vino clarificado se encontró diferencia significativa en el los tipos de frutas (Factor A), en los diferentes clarificantes (factor C), así como en las interacción (A*B), mientras que en los tipos de microorganismos (factor B), interacciones (A*C, B*C y A*B*C) no se observó diferencia significativa en sus niveles, sucediendo lo mismo con las repeticiones por lo tanto se pudo determinar que existió normalidad en la toma de datos.

4.1.3 Análisis de varianza para la humedad del vino clarificado

Tabla 16.

Análisis de varianza para la humedad del vino clarificado

Fuente	SC	Gl	CM	Razón-F	Valor-P
A:Fruta	24,3049	1	24,3049	75666,20	0,0000
B:Microorganismo	28,5868	1	28,5868	88996,78	0,0000
C:Clarificante	40,5095	2	20,2547	63057,16	0,0000
D:Repetición	0,00106667	2	0,000533333	1,66	0,2130
INTERACCIONES					
AB	42,8152	1	42,8152	133292,64	0,0000
AC	47,0518	2	23,5259	73241,04	0,0000
BC	48,5898	2	24,2949	75635,13	0,0000
ABC	48,8314	2	24,4157	76011,15	0,0000
RESIDUOS	0,00706667	22	0,000321212		
TOTAL	280,698	35			

En la **tabla 16** analizando la absorbancia del vino clarificado se encontró diferencia significativa en el los tipos de frutas (Factor A), en los tipos de microorganismos (factor B), y en los diferentes clarificantes (factor C), así como en las interacciones (A*B, A*C, B*C y A*B*C), mientras que en las repeticiones no existió diferencia significativa por lo tanto se pudo determinar que existió normalidad en la toma de datos.

4.1.4 Análisis de varianza para ceniza del vino clarificado

Tabla 17.

Análisis de varianza para la ceniza del vino clarificado.

Fuente	SC	Gl	CM	Razón-F	Valor-P
A:Fruta	160,909	1	160,909	1008228,69	0,0000
B:Microorganismo	170,52	1	170,52	1068448,54	0,0000
C:Clarificante	18,7427	2	9,37135	58719,24	0,0000
D:Repetición	0,0000888889	2	0,0000444444	0,28	0,7596
INTERACCIONES					
AB	311,111	1	311,111	1949365,16	0,0000
AC	67,457	2	33,7285	211336,86	0,0000
BC	369,022	2	184,511	1156111,78	0,0000
ABC	243,2	2	121,6	761922,81	0,0000
RESIDUOS	0,00351111	22	0,000159596		
TOTAL	1340,96	35			

En la **tabla 17** analizando la absorbancia del vino clarificado se encontró diferencia significativa en el los tipos de frutas (Factor A), en los tipos de microorganismos (factor B), y en los diferentes clarificantes (factor C), así como en las interacciones (A*B, A*C, B*C y A*B*C), mientras que en las repeticiones no existió diferencia significativa por lo tanto se pudo determinar que existió normalidad en la toma de datos.

4.1.5 Análisis de varianza para Anhídrido sulfuroso libre vino clarificado

Tabla 18.

Análisis de varianza para Anhídrido sulfuroso libre del vino clarificado.

<i>Fuente</i>	<i>SC</i>	<i>Gl</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Fruta	0,0000040401	1	0,0000040401	12737,89	0,0000
B:Microorganismo	0,00000621671	1	0,00000622	19600,46	0,0000
C:Clarificante	5,47056E-8	2	2,73528E-8	86,24	0,0000
D:Repetición	1,15556E-9	2	5,77778E-10	1,82	0,1853
INTERACCIONES					
AB	0,00000709334	1	0,000007093	22364,37	0,0000
AC	0,0000115666	2	0,000005783	18234,00	0,0000
BC	0,0000196707	2	0,000009835	31009,55	0,0000
ABC	0,00000686291	2	0,000003431	10818,91	0,0000
RESIDUOS	6,97778E-9	22	3,17172E-10		
TOTAL	0,0000555132	35			

En la **tabla 18** analizando la absorbancia del vino clarificado se encontró diferencia significativa en el los tipos de frutas (Factor A), en los tipos de microorganismos (factor B), y en los diferentes clarificantes (factor C), así como en las interacciones (A*B, A*C, B*C y A*B*C), mientras que en las repeticiones no existió diferencia significativa por lo tanto se pudo determinar que existió normalidad en la toma de datos.

4.1.6 Análisis de varianza para ° Brix del vino clarificado.

Tabla 19.

Análisis de varianza para ° Brix del vino clarificado.

<i>Fuente</i>	<i>SC</i>	<i>Gl</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Fruta	27,8256	1	27,8256	5342,52	0,0000
B:Microorganismo	2,97562	1	2,97562	571,32	0,0000
C:Clarificante	5,98875	2	2,99437	574,92	0,0000
D:Repetición	0,0104167	2	0,00520833	1,00	0,3840
INTERACCIONES					
AB	1,05062	1	1,05062	201,72	0,0000
AC	2,22875	2	1,11437	213,96	0,0000
BC	0,10125	2	0,050625	9,72	0,0009
ABC	0,00125	2	0,000625	0,12	0,8875
RESIDUOS	0,114583	22	0,00520833		
TOTAL	40,2969	35			

En la **tabla 19** analizando la absorbancia del vino clarificado se encontró diferencia significativa en el los tipos de frutas (Factor A), en los tipos de microorganismos (factor B), y en los diferentes clarificantes (factor C), así como en las interacciones (A*B, A*C y B*C), mientras que en la interacción A*B*C no existió diferencia significativa, sucediendo lo mismo en las repeticiones, por lo tanto se pudo determinar que existió normalidad en la toma de datos.

4.1.7 Análisis de varianza para pH del vino clarificado.

Tabla 20.

Análisis de varianza para pH del vino clarificado.

Fuente	SC	Gl	CM	Razón-F	Valor-P
A:Fruta	0,00537778	1	0,00537778	266,20	0,0000
B:Microorganismo	0,0676	1	0,0676	3346,20	0,0000
C:Clarificante	1,67361	2	0,836803	41421,74	0,0000
D:Repetición	0,0000888889	2	0,0000444444	2,20	0,1346
INTERACCIONES					
AB	0,0312111	1	0,0312111	1544,95	0,0000
AC	0,0685389	2	0,0342694	1696,34	0,0000
BC	0,00221667	2	0,00110833	54,86	0,0000
ABC	0,0178389	2	0,00891944	441,51	0,0000
RESIDUOS	0,000444444	22	0,000020202		
TOTAL	1,86692	35			

En la **tabla 20** analizando la absorbancia del vino clarificado se encontró diferencia significativa en el los tipos de frutas (Factor A), en los tipos de microorganismos (factor B), y en los diferentes clarificantes (factor C), así como en las interacciones (A*B, A*C, B*C y A*B*C), mientras que en las repeticiones no existió diferencia significativa por lo tanto se pudo determinar que existió normalidad en la toma de datos.

4.1.8 Análisis de varianza para acidez del vino clarificado.

Tabla 21.

Análisis de varianza para acidez del vino clarificado.

<i>Fuente</i>	<i>SC</i>	<i>Gl</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Fruta	47,1053	1	47,1053	280507,01	0,0000
B:Microorganismo	19,3893	1	19,3893	115461,36	0,0000
C:Clarificante	6,16074	2	3,08037	18343,25	0,0000
D:Repetición	0,000238889	2	0,000119444	0,71	0,5020
INTERACCIONES					
AB	8,9401	1	8,9401	53237,29	0,0000
AC	14,6756	2	7,33779	43695,69	0,0000
BC	17,3475	2	8,67377	51651,32	0,0000
ABC	20,4622	2	10,2311	60925,10	0,0000
RESIDUOS	0,00369444	22	0,000167929		
TOTAL	134,085	35			

En la **tabla 21** analizando la absorbancia del vino clarificado se encontró diferencia significativa en el los tipos de frutas (Factor A), en los tipos de microorganismos (factor B), y en los diferentes clarificantes (factor C), así como en las interacciones (A*B, A*C, B*C y A*B*C), mientras que en las repeticiones no existió diferencia significativa por lo tanto se pudo determinar que existió normalidad en la toma de datos.

4.1.9 Análisis de varianza para grados alcohólicos del vino clarificado.

Tabla 22.

Análisis de varianza para grados alcohólicos del vino clarificado.

<i>Fuente</i>	<i>SC</i>	<i>Gl</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Fruta	25,0	1	25,0	300,00	0,0000
B:Microorganismo	4,0	1	4,0	48,00	0,0000
C:Clarificante	14,0	2	7,0	84,00	0,0000
D:Repetición	0,166667	2	0,0833333	1,00	0,3840
INTERACCIONES					
AB	1,0	1	1,0	12,00	0,0022
AC	2,0	2	1,0	12,00	0,0003
BC	8,0	2	4,0	48,00	0,0000
ABC	26,0	2	13,0	156,00	0,0000
RESIDUOS	1,83333	22	0,0833333		
TOTAL	82,0	35			

En la **tabla 22** analizando la absorbancia del vino clarificado se encontró diferencia significativa en el los tipos de frutas (Factor A), en los tipos de microorganismos (factor B), y en los diferentes clarificantes (factor C), así como en las interacciones (A*B, A*C, B*C y A*B*C), mientras que en las repeticiones no existió diferencia significativa por lo tanto se pudo determinar que existió normalidad en la toma de datos.

4.1.10 Análisis de varianza para rendimiento del vino clarificado.

Tabla 23.

Análisis de varianza para rendimiento del vino clarificado.

<i>Fuente</i>	<i>SC</i>	<i>Gl</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Fruta	0,479556	1	0,479556	40,26	0,0000
B:Microorganismo	12,5493	1	12,5493	1053,57	0,0000
C:Clarificante	131,014	2	65,5071	5499,63	0,0000
D:Repetición	0,0782042	2	0,0391021	3,28	0,0565
INTERACCIONES					
AB	9,96981	1	9,96981	837,01	0,0000
AC	77,6717	2	38,8359	3260,46	0,0000
BC	0,288087	2	0,144044	12,09	0,0003
ABC	33,6911	2	16,8455	1414,26	0,0000
RESIDUOS	0,262046	22	0,0119112		
TOTAL	266,004	35			

En la **tabla 23** analizando la absorbancia del vino clarificado se encontró diferencia significativa en el los tipos de frutas (Factor A), en los tipos de microorganismos (factor B), y en los diferentes clarificantes (factor C), así como en las interacciones (A*B, A*C, B*C y A*B*C), mientras que en las repeticiones no existió diferencia significativa por lo tanto se pudo determinar que existió normalidad en la toma de datos.

4.1.11 Análisis de varianza para grados alcohólicos del vino destilado.

Tabla 24.

Análisis de varianza para grados alcohólicos del vino destilado.

<i>Fuente</i>	<i>SC</i>	<i>Gl</i>	<i>CM</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
A:Fruta	110,25	1	110,25	77,41	0,0000
B:Microorganismo	12,25	1	12,25	8,60	0,0077
C:Clarificante	8,375	2	4,1875	2,94	0,0739
D:Repetición	2,66667	2	1,33333	0,94	0,4072
INTERACCIONES					
AB	0,25	1	0,25	0,18	0,6793
AC	47,625	2	23,8125	16,72	0,0000
BC	32,375	2	16,1875	11,37	0,0004
ABC	136,625	2	68,3125	47,96	0,0000
RESIDUOS	31,3333	22	1,42424		
TOTAL	381,75	35			

En la **tabla 24** analizando los grados alcohólicos del vino destilado se encontró diferencia significativa en el los tipos de frutas (Factor A), en los tipos de microorganismos (factor B) así como en las interacciones (A*C, B*C y A*B*C), mientras que en los diferentes clarificantes (factor C), interacción A*B no existió diferencia significativa, sucediendo lo mismo en las repeticiones por lo tanto se pudo determinar que existió normalidad en la toma de datos.

4.1.12 Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para Fruta (Factor A)

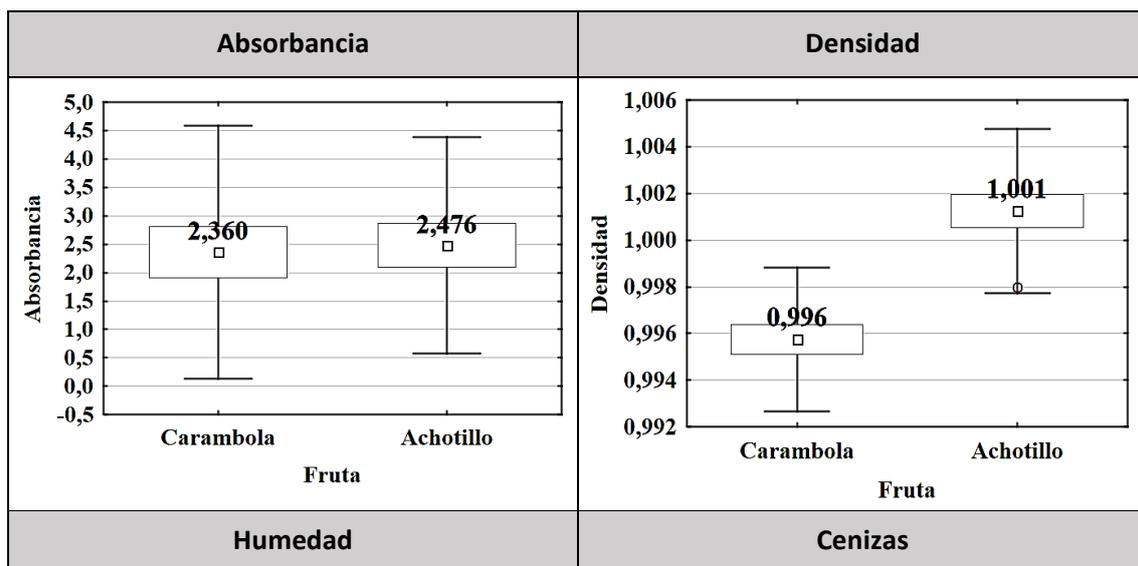
Tabla 25.

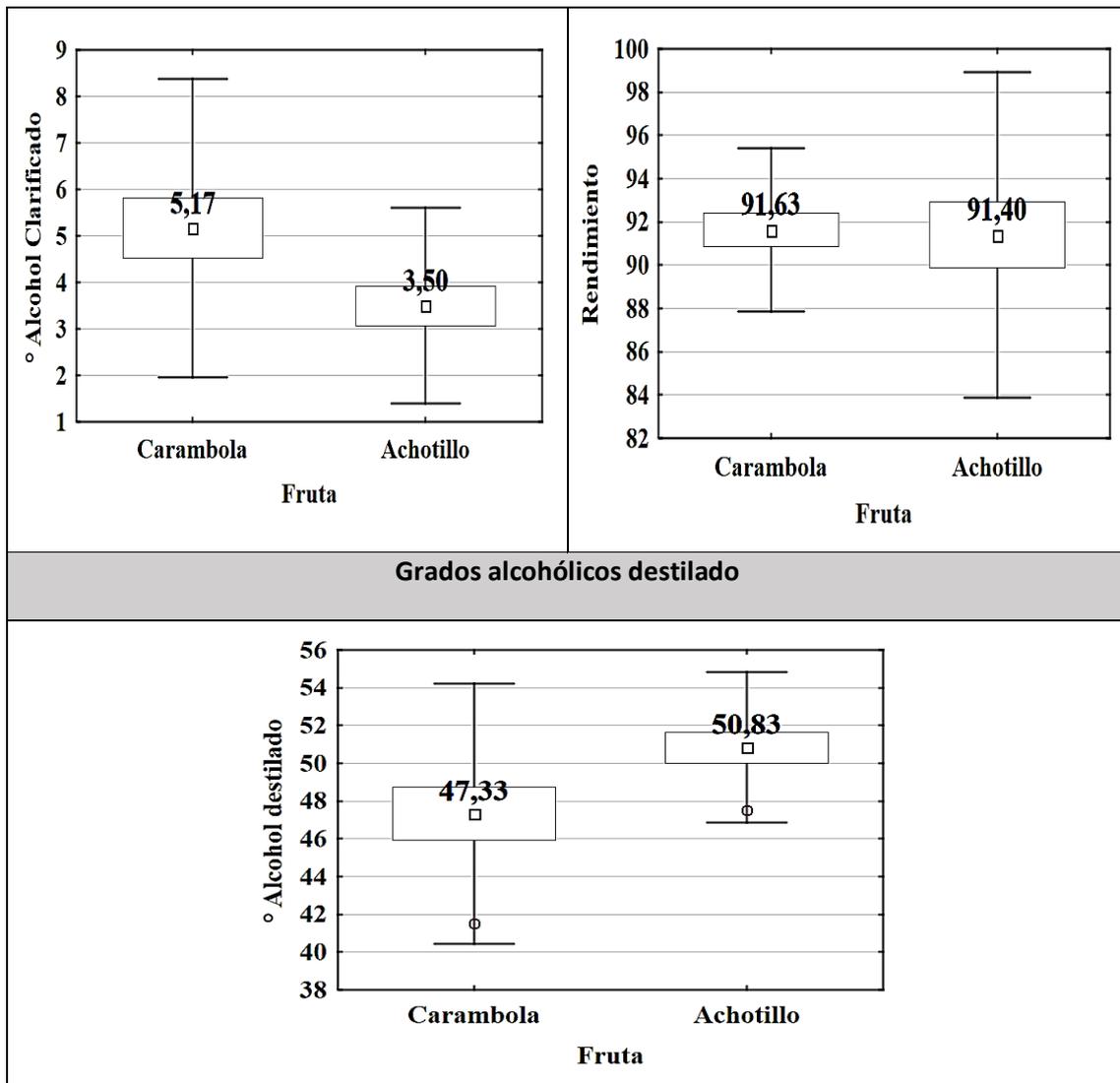
Prueba de significancia de Tukey para Fruta (Factor A)

Fruta	Absorbancia	Densidad	Humedad	Cenizas	Anhídrido Sulfuroso Libre	° Brix	pH	Acidez	Grados alcohólicos clarificado	Rendimiento clarificado	Grados alcohólicos destilado
a0:carambola	2,360 ^a	0,996 ^a	96,78 ^a	26,73 ^a	0,00188 ^a	5,33 ^a	3,86 ^a	5,71 ^a	5,17 ^b	91,63 ^b	47,33 ^a
a1:Achotillo	2,476 ^b	1,001 ^b	98,43 ^b	30,96 ^b	0,00255 ^b	7,17 ^b	3,88 ^b	7,99 ^b	3,50 ^a	91,40 ^a	50,83 ^b

Figura 2.

Prueba de significancia de Tukey para el Fruta (Factor A)





Respecto a la **figura 2** se pudo observar que la fruta achotillo con (2,476) presentó mayor absorbancia en comparación de la carambola con (2,360); en lo que concierne a la densidad se pudo determinar que el achotillo (1,001) presenta un valor más alto mientras que la carambola con (0,996) presenta un valor más bajo; el achotillo (98,43) presentó un porcentaje de humedad más elevado que la carambola con (96,78); en cuanto a la ceniza se pudo observar que el achotillo presenta un valor más alto siendo este de (30,96) mientras que el valor más bajo se observa en la carambola (26,73); el achotillo presentó (0,00255) de anhídrido sulfuroso libre siendo este el valor alto, mientras que un valor bajo se presentó en la carambola (0,00188); el Achotillo (7,17) presento mayor grados brix que la Carambola (5,33); en cuanto al pH se observó que en achotillo (3,88) se obtuvo un valor alto en comparación de

la carambola (3,86); para acidez se observó que Achotillo (7,99) presento mayor valor en comparación con Carambola (5,71); en cuanto Grados alcohólicos en vino Carambola (5,17) presento un mayor valor que Achotillo (3,50); con respecto a Rendimiento del vino clarificado la carambola (91,63%) presentó mayor rendimiento que el achotillo (91,40%); para Grados alcohólicos en destilado Achotillo (50,83) presento mayor valor que Carambola (47,33);

4.1.13 Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para el Microorganismos (Factor B)

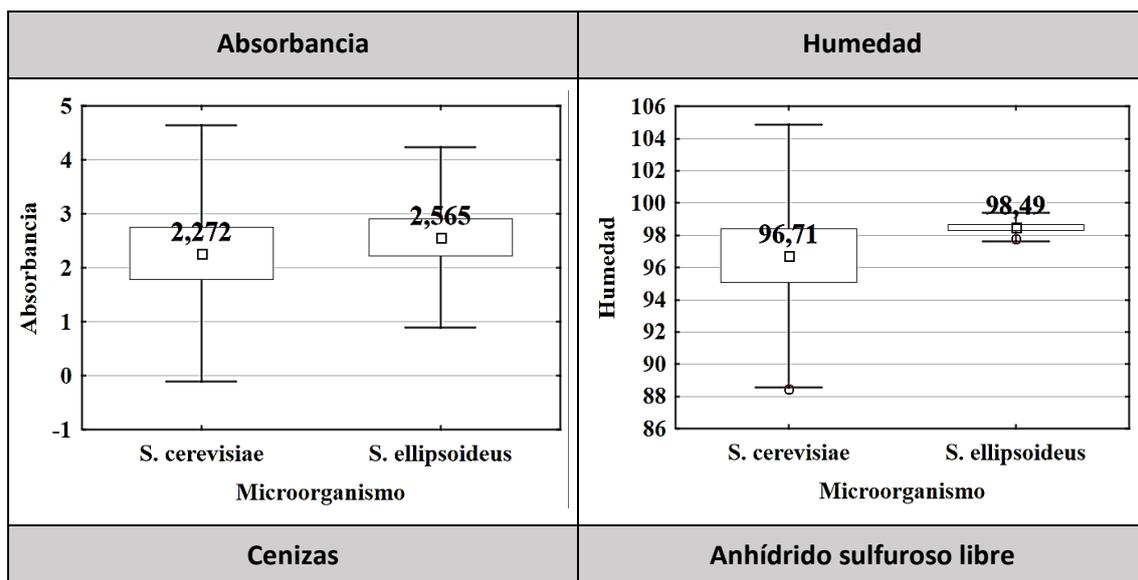
Tabla 26.

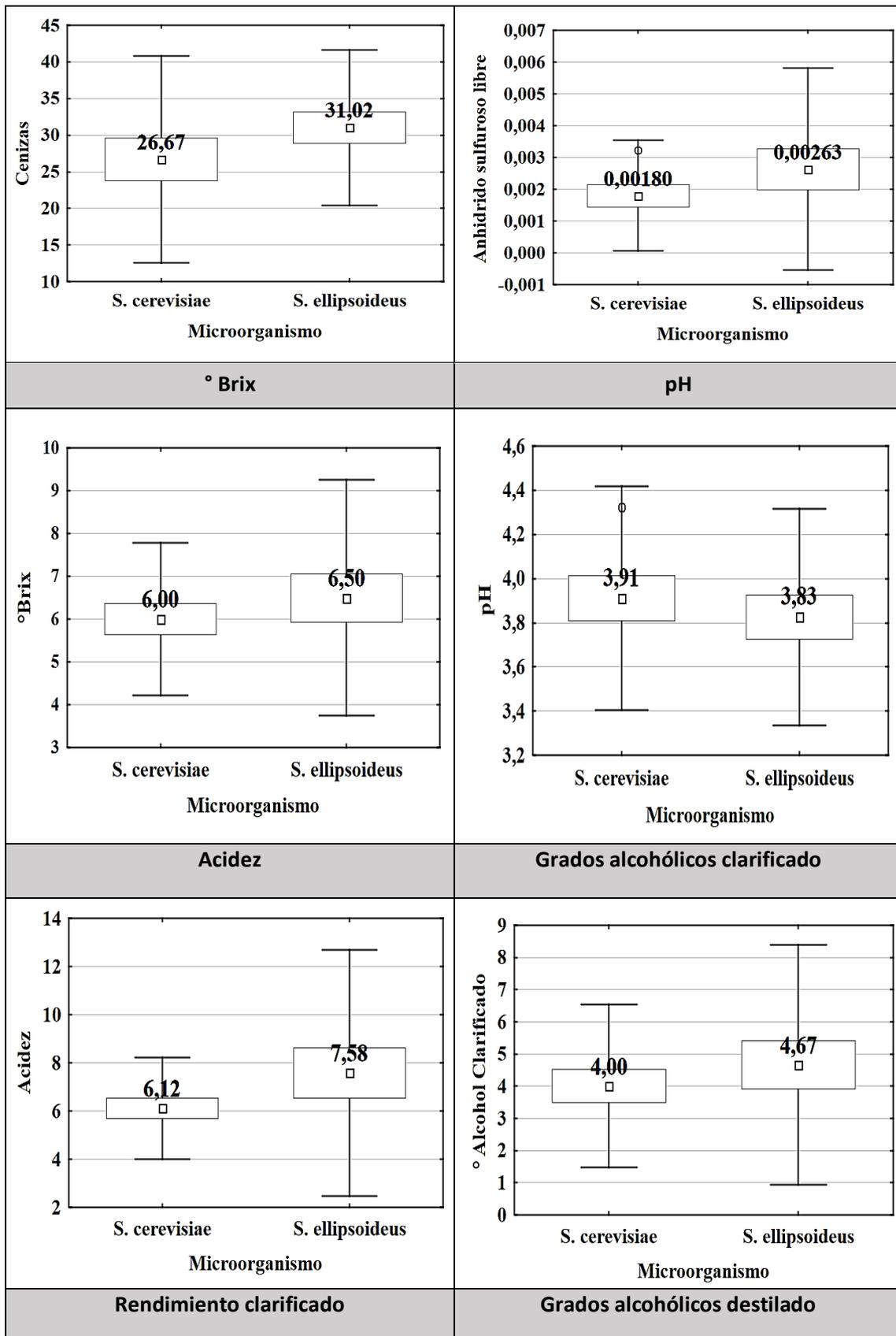
Prueba de significancia de Tukey para Microorganismos (Factor B)

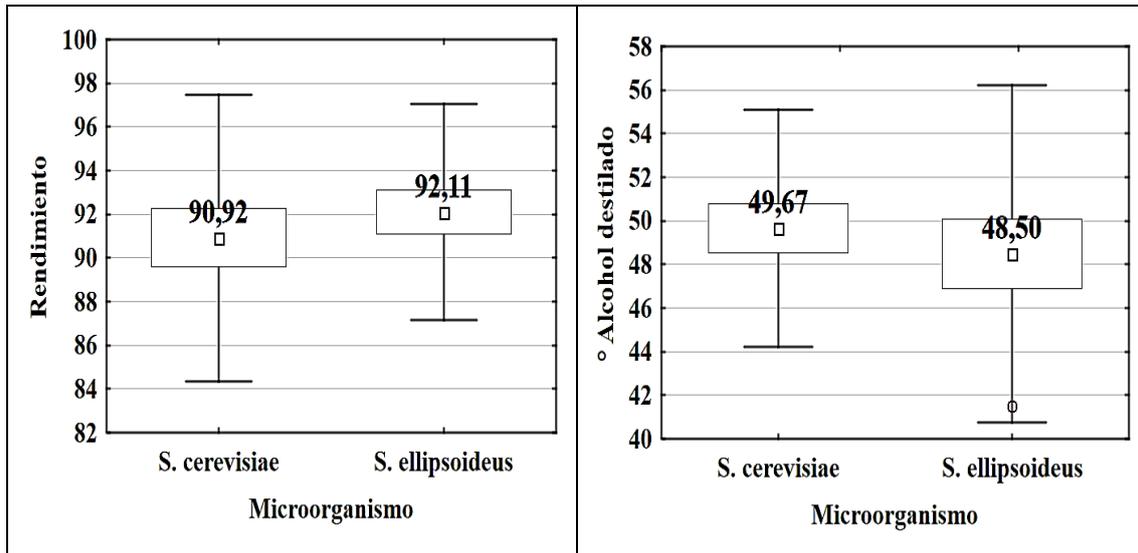
Microorganismos	Absorbancia	Humedad	Cenizas	Anhídrido Sulfuroso Libre	° Brix	pH	Acidez	Grados alcohólicos clarificado	Rendimiento clarificado	Grados alcohólicos destilado
a0: <i>S. cerevisiae</i>	2,272 ^a	96,71 ^a	26,67 ^a	0,00180 ^a	6,00 ^a	3,91 ^b	6,12 ^a	4,00 ^a	90,92 ^b	49,67 ^b
b1: <i>S. ellipsoideus</i>	2,565 ^b	98,49 ^a	31,02 ^b	0,00263 ^b	6,50 ^b	3,83 ^a	7,58 ^b	4,67 ^b	92,11 ^a	48,50 ^a

Figura 3.

Prueba de significancia de Tukey para Microorganismos (Factor B)







Respecto a la **figura 3** se pudo observar que *S. ellipsoideus* con (2,565) presentó mayor absorbancia en comparación de la *S. cerevisiae* con (2,272); *S. ellipsoideus* (98,49) presentó un porcentaje de humedad más elevado que la *S. cerevisiae* con (96,71); en cuanto a la ceniza se pudo observar que *S. ellipsoideus* presenta un valor más alto siendo este de (31,02) mientras que el valor más bajo se observa en la *S. cerevisiae* (26,67); la *S. ellipsoideus* presentó (0,00263) de anhídrido sulfuroso libre siendo este el valor alto, mientras que un valor bajo se presentó en la *S. cerevisiae* (0,00180); *S. ellipsoideus* (6,50) presentó mayor grados brix que la *S. cerevisiae* (6,00); en cuanto al pH se observó que en *S. cerevisiae* (3,91) se obtuvo un valor alto en comparación de la *S. ellipsoideus* (3,83); para acidez se observó que *S. ellipsoideus* (7,58) presentó mayor valor en comparación con *S. cerevisiae* (6,12); en cuanto Grados alcohólicos en vino con la *S. ellipsoideus* se obtuvo (4,67) siendo este mayor que el presentado por *S. cerevisiae* (4,67); con respecto a Rendimiento del vino clarificado la *S. ellipsoideus* (92,11%) presentó mayor rendimiento que *S. cerevisiae* (90,92%); para Grados alcohólicos en destilado la *S. cerevisiae* con (49,67) presentó mayor valor que *S. ellipsoideus* (48,50)

4.1.14 Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para Clarificantes (Factor C)

Tabla 27.

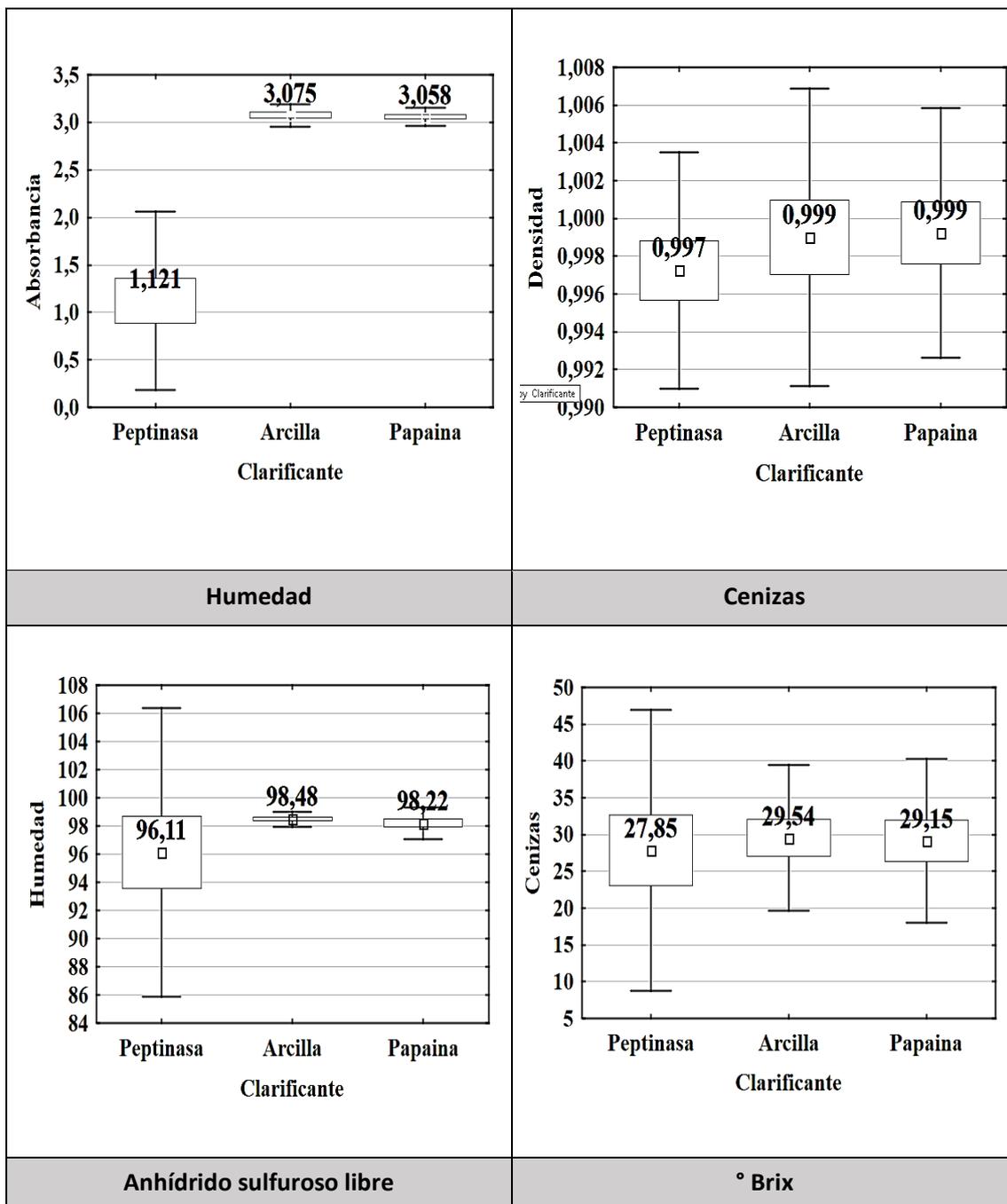
Prueba de significancia de Tukey para clarificantes (Factor C)

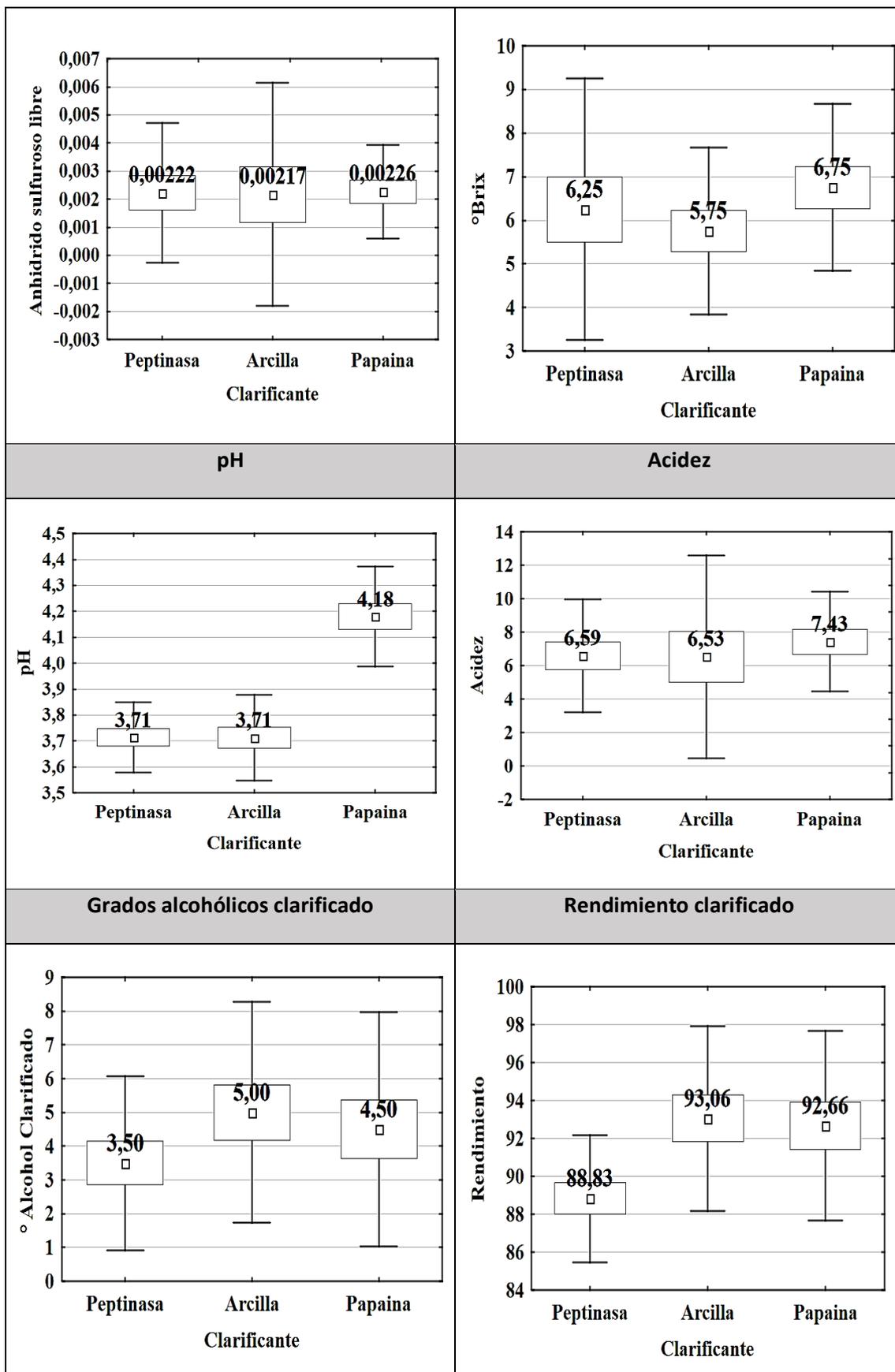
Fruta	Absorbancia	Densidad	Humedad	Cenizas	Anhídrido Sulfitoso Libre	° Brix	pH	Acidez	Grados alcohólicos clarificado	Rendimiento clarificado	Grados alcohólicos destilado
c0:Pectinasa	1,121 ^a	0,997 ^a	96,11 ^a	27,85 ^a	0,00222 ^b	6,25 ^b	3,71 ^b	6,59 ^b	3,50 ^a	88,83 ^a	48,63 ^a
c1:Arcilla	3,075 ^c	0,999 ^b	98,48 ^c	29,54 ^c	0,00217 ^a	5,75 ^a	3,71 ^a	6,53 ^a	5,00 ^c	93,06 ^c	48,88 ^a
c2:Papaina	3,058 ^b	0,999 ^b	98,22 ^b	29,15 ^b	0,00226 ^c	6,75 ^c	4,18 ^c	7,43 ^c	4,50 ^b	92,66 ^b	49,75 ^a

Figura 4.

Prueba de significancia de Tukey para clarificantes (Factor C)

Absorbancia	Densidad
-------------	----------





Respecto a la **figura 4** se pudo observar que la Arcilla con (3,075) presentó mayor absorbanza en comparación de la Peptinasa con (1,121); en lo que concierne a la densidad se pudo determinar que la Arcilla y la Papaina (0,997) presentan un valor más alto mientras que la Peptinasa (0,997) presenta un valor más bajo; la Arcilla con (98,48) presentó un porcentaje de humedad más elevado que la Peptinasa con (96,11); en cuanto a la ceniza se pudo observar que la Arcilla presenta un valor más alto siendo este de (29,54) mientras que el valor más bajo se observa en Peptinasa (27,85); la Papaina presentó (0,00226) de anhídrido sulfuroso libre siendo este el valor alto, mientras que un valor bajo se presentó con la Arcilla (0,00217); la Papaina (6,75) presento mayor grados brix mientras que el menor grado brix se presentó en Arcilla (5,75); en cuanto al pH se observó que en la Papaina (4,18) se obtuvo un valor alto en comparación de la Peptinasa y la Arcilla ambas con (3,71) donde se presentó el valor más bajo; para acidez se observó que la Papaina (7,43) presento mayor valor en comparación con la Arcilla (6,53); en cuanto Grados alcohólicos en vino la Arcilla (5,00) presento un mayor valor que Peptinasa (3,50); con respecto a Rendimiento del vino clarificado la Arcilla (93,06%) presentó mayor rendimiento que la Peptinasa (88,83%).

4.1.15 Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para Fruta * Microorganismo (Interacción

A*B)

Tabla 28.

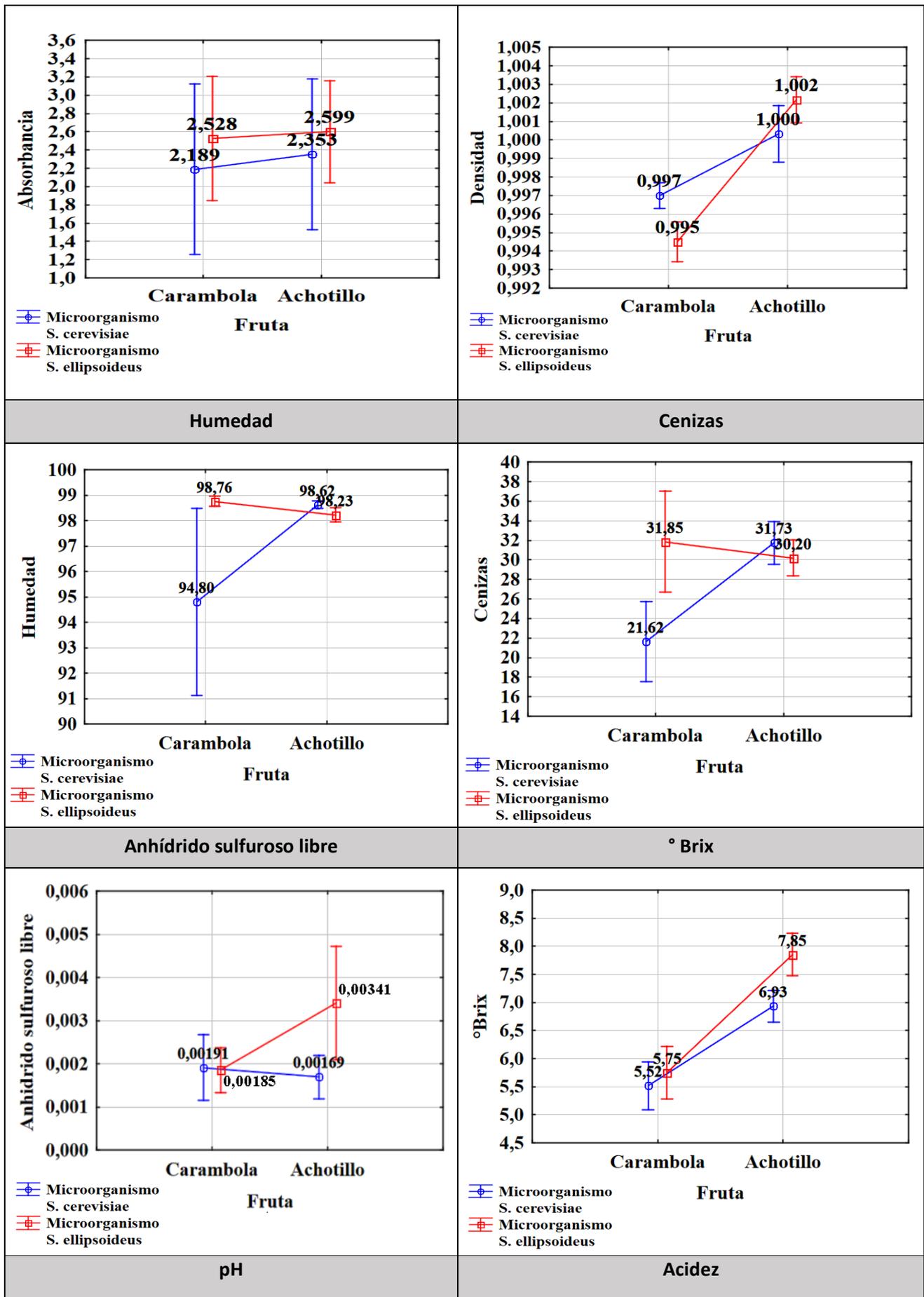
Prueba de significancia de Tukey para Fruta * Microorganismo (Interacción A*B)

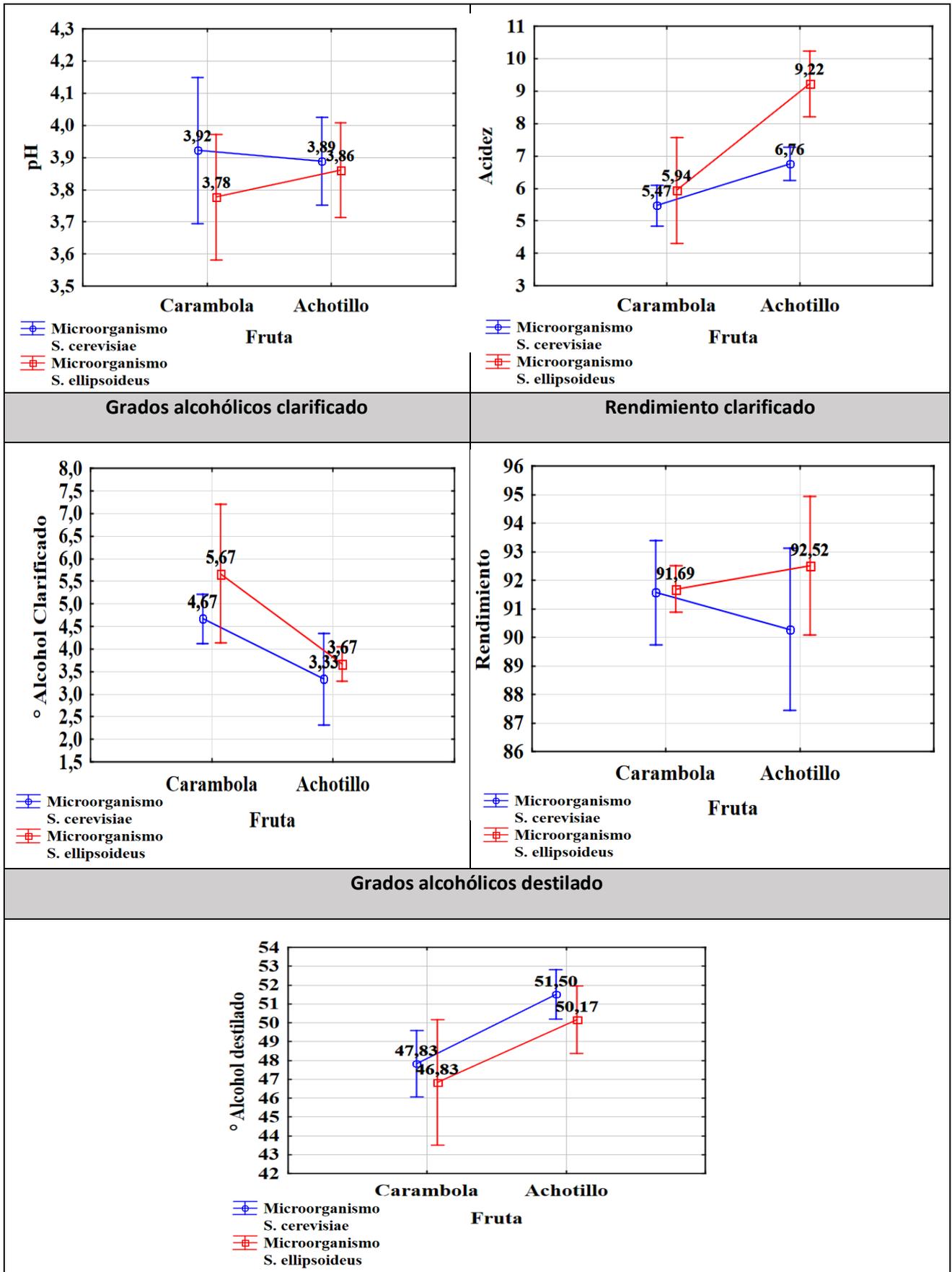
Fruta + Microorganismo	Absorbancia	Densidad	Humedad	Cenizas	Anhidrido Sulfuroso Libre	° Brix	pH	Acidez	Grados alcohólicos clarificado	Rendimiento clarificado	Grados alcohólicos destilado
a0b0: carambola + <i>S. cerevisiae</i>	2,189 ^a	0,997 ^b	94,80 ^a	21,62 ^a	0,00191 ^c	5,52 ^a	3,92 ^d	5,47 ^a	4,67 ^b	91,69 ^b	47,83 ^a
a0b1: Carambola + <i>S. ellipsoideus</i>	2,528 ^c	0,995 ^a	98,76 ^d	31,85 ^d	0,00185 ^b	5,75 ^b	3,78 ^a	5,94 ^b	5,67 ^c	91,70 ^b	46,83 ^a
a1b0: Achotillo + <i>S. cerevisiae</i>	2,353 ^b	1,000 ^c	98,62 ^c	31,73 ^c	0,00169 ^a	6,93 ^c	3,89 ^c	6,76 ^c	3,33 ^a	90,28 ^a	51,50 ^b
a1b1: Achotillo + <i>S. ellipsoideus</i>	2,599 ^d	1,002 ^d	98,23 ^b	30,20 ^b	0,00341 ^d	7,85 ^d	3,86 ^b	9,22 ^d	3,67 ^a	92,52 ^c	50,17 ^b

Figura 5.

Prueba de significancia de Tukey para Fruta * Microorganismo (Interacción A*B)

Absorbancia	Densidad
-------------	----------





Respecto a la **figura 5** se pudo observar que en Achotillo + *S. ellipsoideus* (2,599) se presentó mayor absorbancia mientras que el valor bajo se presentó en Carambola + *S. cerevisiae* (2,189); Achotillo + *S. ellipsoideus* (1,002) presentó una mayor densidad, mientras que la menor densidad se observó en Carambola + *S. ellipsoideus* (0,995); la Carambola + *S. ellipsoideus* (98,76) presentó el porcentaje de humedad más elevado mientras que el menor porcentaje se presentó en Carambola + *S. cerevisiae* con (94,80); en cuanto a la ceniza se pudo observar que Carambola + *S. ellipsoideus* (31,85) presentó un valor más alto, mientras que el valor más bajo se observa en Carambola + *S. cerevisiae* (21,62); Achotillo + *S. ellipsoideus* presentó (0,00341) de anhídrido sulfuroso libre siendo este el valor alto, mientras que un valor bajo se presentó en Achotillo + *S. cerevisiae* (0,00169); Achotillo + *S. ellipsoideus* (7,85) presentó mayor grados brix y Carambola + *S. cerevisiae* (5,52) presentó el menor valor; en cuanto al pH se observó que en Carambola + *S. cerevisiae* (3,92) se obtuvo un valor alto mientras que en Carambola + *S. ellipsoideus* (3,78) se presentó el menor valor; para acidez se observó que Achotillo + *S. ellipsoideus* (9,22) presentó mayor valor, mientras que el menor valor se presentó en Carambola + *S. cerevisiae* (5,47); en cuanto Grados alcohólicos en vino con la Carambola + *S. ellipsoideus* se obtuvo (5,67) siendo este mayor que el presentado por Achotillo + *S. cerevisiae* (3,33); con respecto a Rendimiento del vino clarificado el Achotillo + *S. ellipsoideus* (92,52%) presentó mayor rendimiento y el menor rendimiento se observó en Achotillo + *S. cerevisiae* (90,28%); para Grados alcohólicos en destilado el Achotillo + *S. cerevisiae* con (51,50) presentó mayor valor que Carambola + *S. ellipsoideus* (46,83).

4.1.16 Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para Fruta * Clarificantes (Interacción A*C)

Tabla 29.

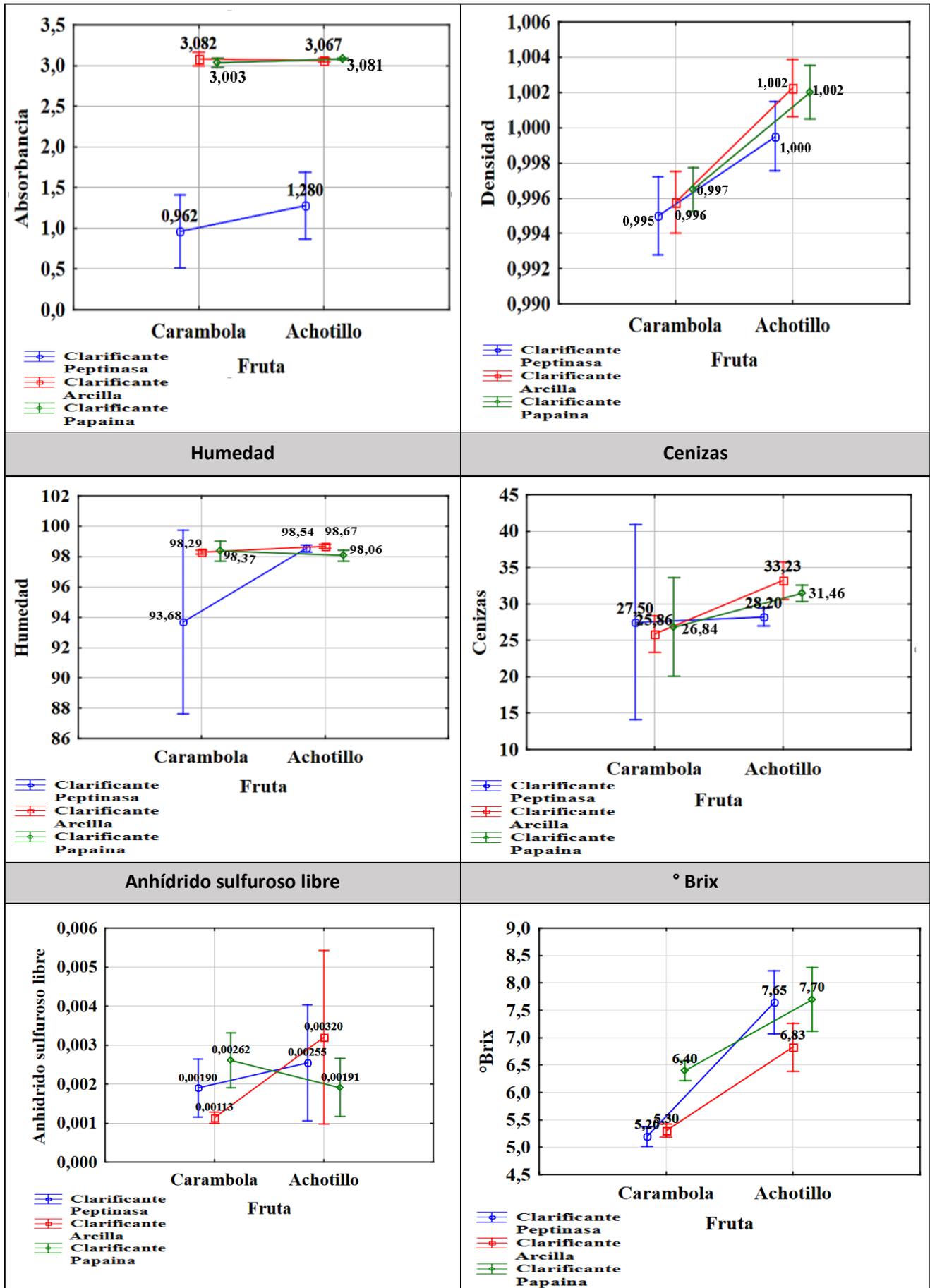
Prueba de significancia de Tukey para Fruta * Clarificantes (Interacción A*C)

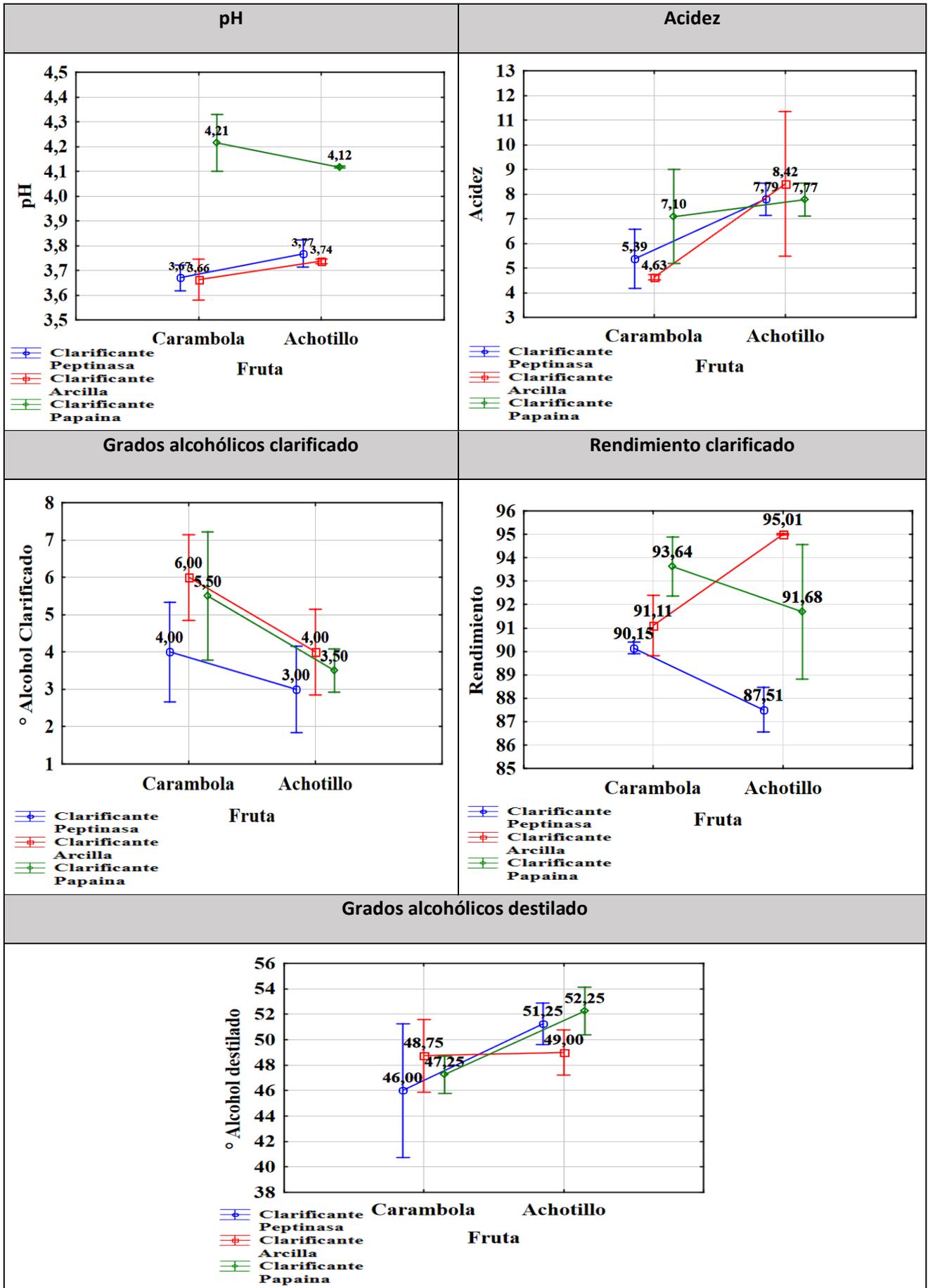
Fruta + Microorganismo	Absorbancia	Densidad	Humedad	Cenizas	Anhidrido Sulfuroso Libre	° Brix	pH	Acidez	Grados alcohólicos clarificado	Rendimiento clarificado	Grados alcohólicos destilado
a0c0:carambola + Peptinasa	0,962 ^a	0,995 ^a	93,68 ^a	27,51 ^c	0,00190 ^b	5,20 ^a	3,67 ^a	5,39 ^b	4,00 ^b	90,15 ^b	46,00 ^a
a0c1:Carambola + Arcilla	3,082 ^e	0,996 ^a	98,29 ^c	25,86 ^a	0,00113 ^a	5,30 ^a	3,66 ^a	4,63 ^a	6,00 ^c	91,11 ^c	48,75 ^b
a0c2:Carambola + Papaina	3,003 ^c	0,997 ^a	98,37 ^d	26,84 ^b	0,00262 ^d	6,40 ^b	4,21 ^e	7,10 ^c	5,50 ^c	93,64 ^e	47,25 ^{ab}
a1c0:Achotillo + Peptinasa	1,280 ^b	1,000 ^b	98,54 ^e	28,20 ^d	0,00255 ^c	7,65 ^d	3,77 ^c	7,79 ^d	3,00 ^a	87,51 ^a	51,25 ^c
a1c1:Achotillo + Arcilla	3,067 ^d	1,002 ^c	98,67 ^f	33,23 ^f	0,00320 ^e	6,83 ^c	3,74 ^b	8,42 ^e	4,00 ^b	95,01 ^f	49,00 ^b
a1c2:Achotillo + Papaina	3,081 ^e	1,002 ^c	98,06 ^b	31,46 ^e	0,00191 ^b	7,70 ^d	4,12 ^d	7,77 ^d	3,50 ^{ab}	91,68 ^d	52,25 ^c

Figura 6.

Prueba de significancia de Tukey para Fruta * Clarificantes (Interacción A*C)

Absorbancia	Densidad
-------------	----------





Respecto a la **figura 6** se pudo observar que en la carambola + Arcilla (3,082) se presentó mayor absorbancia mientras que el valor bajo se presentó en Carambola + Peptinasa (0,962); Achotillo + Arcilla y Achotillo + Papaina ambas con (1,002) presentaron una mayor densidad, mientras que la menor densidad se observó en Carambola + Peptinasa (0,995); Achotillo + Arcilla (98,67) presentó el porcentaje de humedad más elevado mientras que el menor porcentaje se presentó en Carambola + Peptinasa con (93,68); en cuanto a la ceniza se pudo observar que Achotillo + Arcilla (33,23) presentó un valor más alto, mientras que el valor más bajo se observa en Carambola + Arcilla (25,86); Achotillo + Arcilla presentó (0,00320) de anhídrido sulfuroso libre siendo este el valor alto, mientras que un valor bajo se presentó en Carambola + Arcilla (0,00113); Achotillo + Papaina (7,70) presentó mayor grados brix y Carambola + Peptinasa (5,26) presentó el menor valor; en cuanto al pH se observó que en Carambola + Papaina (4,21) se obtuvo un valor alto mientras que en Carambola + Arcilla (3,66) se presentó el menor valor; para acidez se observó que Achotillo + Arcilla (8,42) presentó mayor valor, mientras que el menor valor se presentó en Carambola + Arcilla (4,63); en cuanto Grados alcohólicos en vino con la Carambola + Arcilla se obtuvo (6,00) siendo este mayor que el presentado por Achotillo + Peptinasa (3,00); con respecto a Rendimiento del vino clarificado el Achotillo + Arcilla (95,01 %) presentó mayor rendimiento y el menor rendimiento se observó en Achotillo + Peptinasa (87,51 %); para Grados alcohólicos en destilado el Achotillo + Papaina con (52,25) presentó mayor valor que Carambola + Peptinasa (46,00).

4.1.17 Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para Microorganismo * Clarificantes
(Interacción B*C)

Tabla 30.

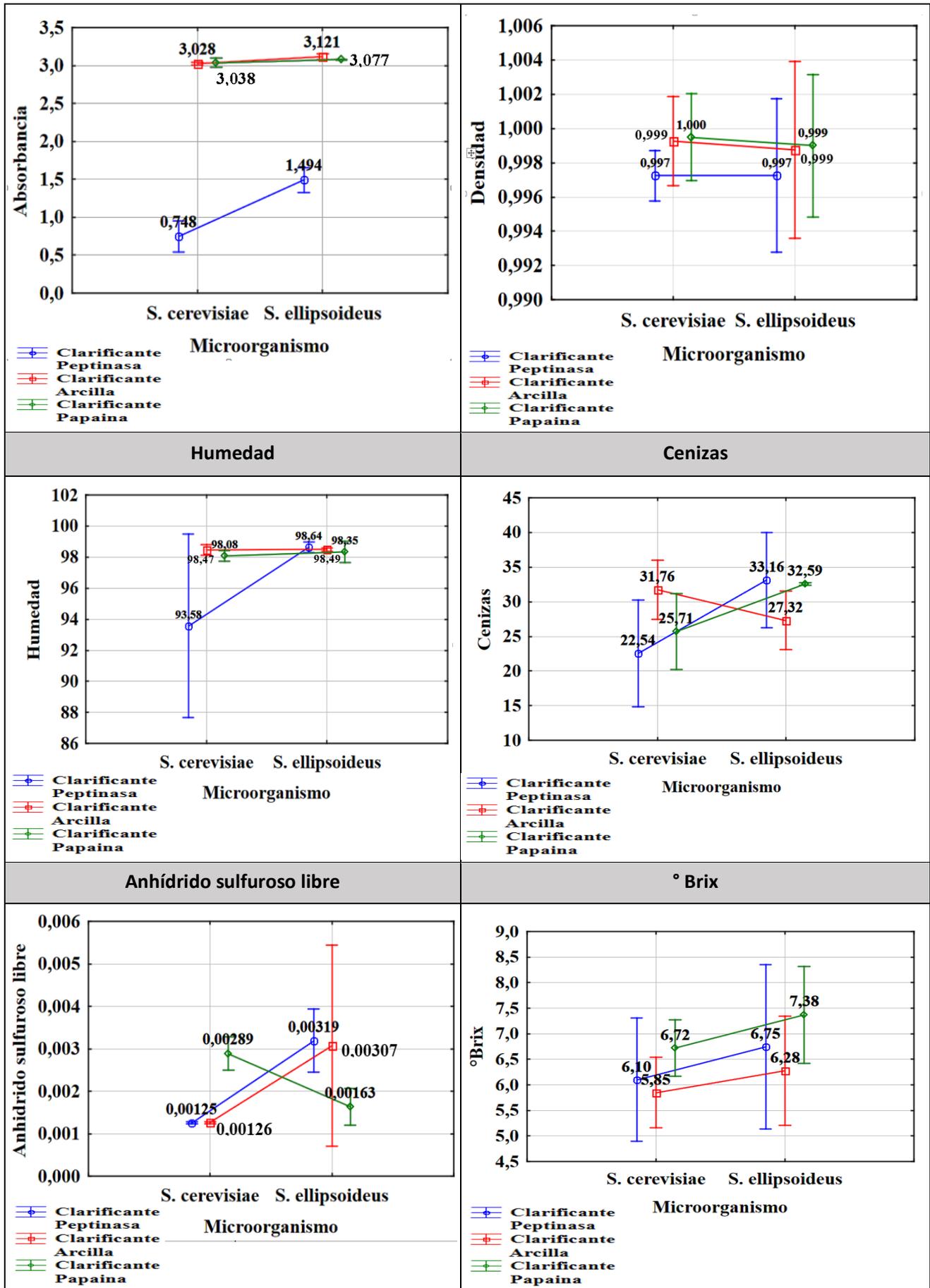
Prueba de significancia de Tukey para Microorganismos * Clarificantes (Interacción B*C)

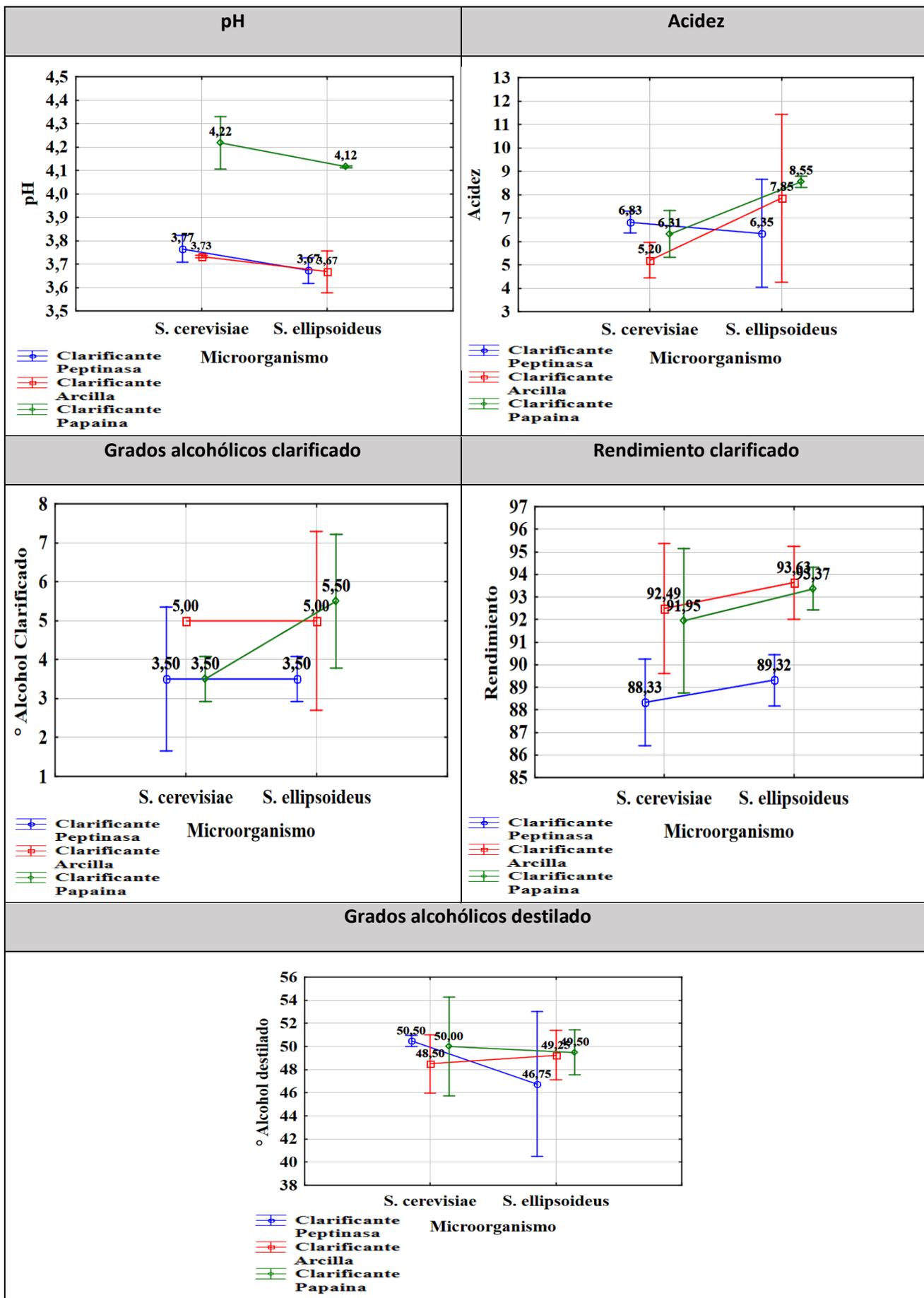
Fruta + Microorganismo	Absorbancia	Densidad	Humedad	Cenizas	Anhidrido Sulfuroso Libre	° Brix	pH	Acidez	Grados alcohólicos clarificado	Rendimiento clarificado	Grados alcohólicos destilado
b0c0: S. cerevisiae + Peptinasa	0,748 ^a	0,997 ^a	93,58 ^a	22,54 ^a	0,00125 ^a	6,10 ^b	3,77 ^c	6,83 ^d	3,50 ^a	88,33 ^a	50,50 ^b
b0c1: S. cerevisiae + Arcilla	3,028 ^c	0,999 ^a _b	98,47 ^d	31,76 ^d	0,00126 ^a	5,85 ^a	3,73 ^b	5,20 ^a	5,00 ^b	92,49 ^d	48,50 ^{ab}
b0c2: S. cerevisiae + Papaina	3,038 ^d	1,000 ^b	98,08 ^b	25,71 ^b	0,00289 ^c	6,72 ^d	4,22 ^e	6,31 ^b	3,50 ^a	91,95 ^c	50,00 ^b
b1c0: S. ellipsoideus+ Peptinasa	1,494 ^b	0,997 ^a	98,64 ^e	33,16 ^f	0,00319 ^e	6,75 ^d	3,67 ^a	6,35 ^c	3,50 ^a	89,32 ^b	46,75 ^a
b1c1: S. ellipsoideus+ Arcilla	3,121 ^f	0,999 ^a _b	98,48 ^d	27,32 ^c	0,00307 ^d	6,28 ^c	3,67 ^a	7,85 ^e	5,00 ^b	93,63 ^f	49,25 ^b
b1c2: S. ellipsoideus+ Papaina	3,077 ^e	0,999 ^a _b	98,35 ^d	32,59 ^e	0,00163 ^b	7,38 ^e	4,12 ^d	8,55 ^f	5,50 ^b	93,37 ^e	49,50 ^b

Figura 7.

Prueba de significancia de Tukey para Microorganismos * Clarificantes (Interacción B*C)

Absorbancia	Densidad
-------------	----------





Respecto a la **figura 7** se pudo observar que en *S. ellipsoideus* + Arcilla (3,121) se presentó mayor absorbancia mientras que el valor bajo se presentó en *S. cerevisiae* + Peptinasa (0,748); *S. cerevisiae* + Papaina (1,000) presentó una mayor densidad, mientras que la menor densidad se observó en *S. cerevisiae* + Peptinasa y *S. ellipsoideus* + Peptinasa ambas con (0,997); *S. ellipsoideus* + Peptinasa (98,64) presentó el porcentaje de humedad más elevado mientras que el menor porcentaje se presentó en *S. cerevisiae* + Peptinasa con (93,58); en cuanto a la ceniza se pudo observar que *S. ellipsoideus* + Peptinasa (33,16) presentó un valor más alto, mientras que el valor más bajo se observa en *S. cerevisiae* + Peptinasa (22,54); *S. ellipsoideus* + Peptinasa presentó (0,00319) de anhídrido sulfuroso libre siendo este el valor alto, mientras que un valor bajo se presentó en *S. cerevisiae* + Peptinasa (0,00125); *S. ellipsoideus* + Papaina (7,38) presentó mayor grados brix y *S. cerevisiae* + Arcilla (5,85) presentó el menor valor; en cuanto al pH se observó que en *S. ellipsoideus* + Arcilla y *S. ellipsoideus* + Peptinasa ambas con (3,67) se obtuvo un valor bajo mientras que en *S. cerevisiae* + Arcilla (4,22) se presentó el mayor valor; para acidez se observó que *S. ellipsoideus* + Arcilla (8,55) presento mayor valor, mientras que el menor valor se presentó en *S. cerevisiae* + Arcilla (5,20); en cuanto Grados alcohólicos en vino con la *S. ellipsoideus* + Arcilla se obtuvo (5,50) siendo este mayor, mientras que *S. cerevisiae* + Peptinasa, *S. cerevisiae* + Arcilla y *S. ellipsoideus* + Peptinasa presentaron un valor de (3,50) siendo este el menor valor; con respecto a Rendimiento del vino clarificado el *S. ellipsoideus* + Arcilla (93,63 %) presentó mayor rendimiento y el menor rendimiento se observó en *S. cerevisiae* + Peptinasa (88,33 %); para Grados alcohólicos en destilado *S. cerevisiae* + Peptinasa con (50,50) presentó mayor valor que *S. ellipsoideus* + Peptinasa (46,75).

4.1.18 Prueba de significancia de Tukey $p < 0,05$ para Frutas * Microorganismo *

Clarificantes (Interacción A*B*C)

Tabla 31.

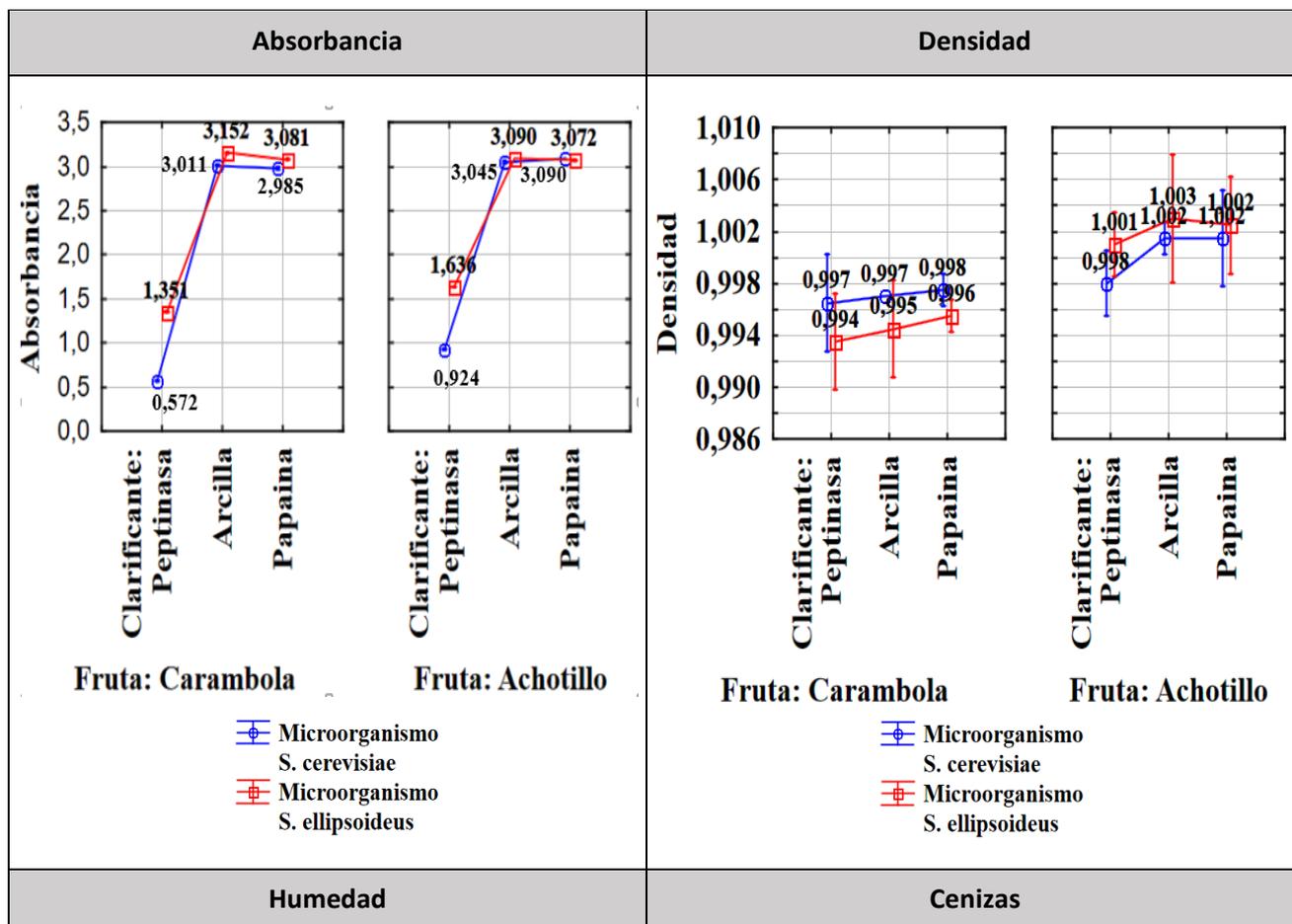
Prueba de significancia de Tukey para Frutas * Microorganismo * Clarificantes (Interacción A*B*C)

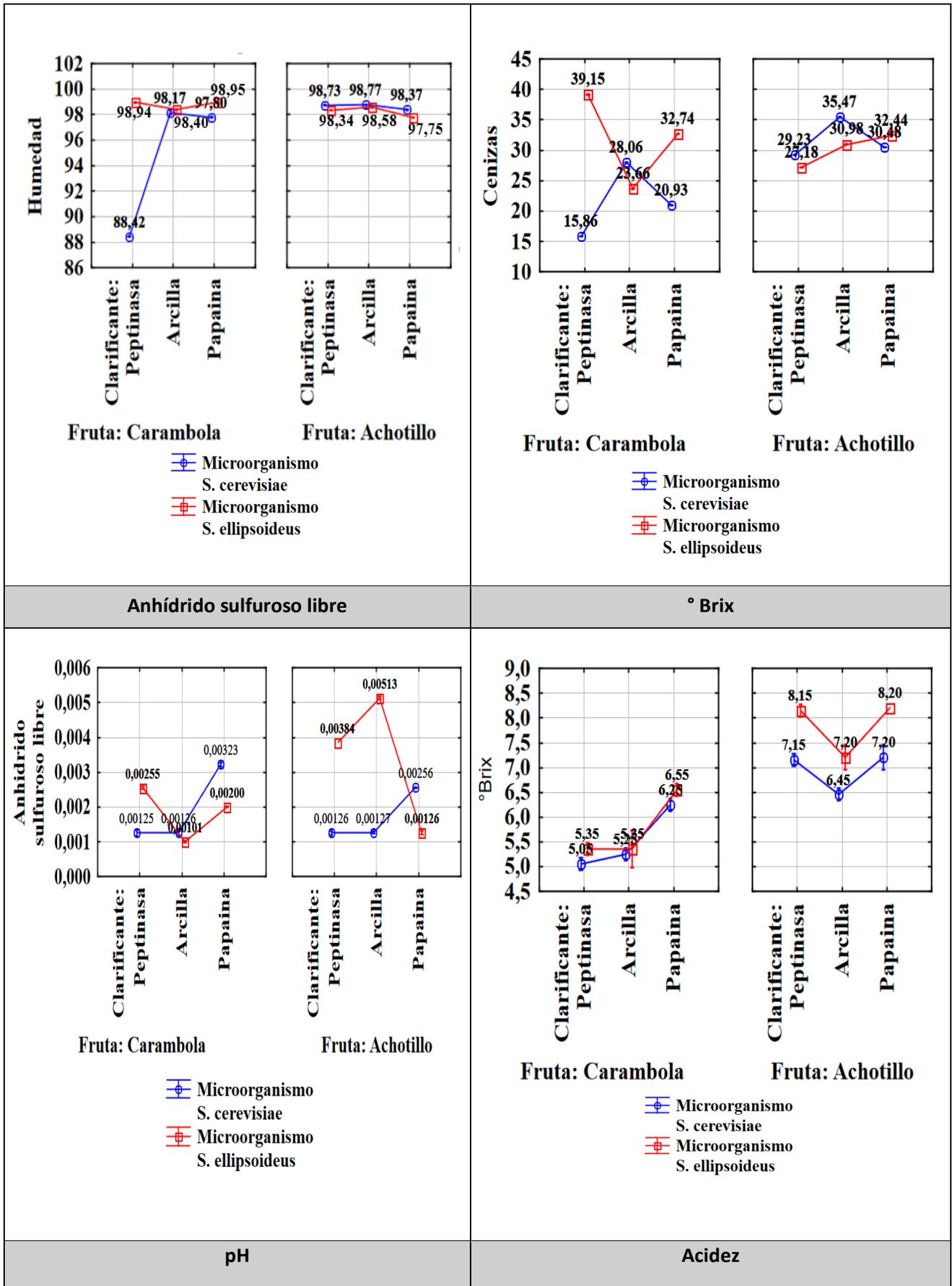
Fruta + Microorganismo	Absorbancia	Densidad	Humedad	Cenizas	Anhidrido Sulfuroso Libre	° Brix	pH	Acidez	Grados alcohólicos clarificado	Rendimiento clarificado	Grados alcohólicos destilado
a0b0c0: Carambola + S. cerevisiae + Peptinasa	0,572 ^a	0,997 ^{abc}	88,43 ^a	15,86 ^a	0,00125 ^b	5,05 ^a	3,72 ^c	6,43 ^f	5,00 ^d	90,00 ^d	50,50 ^{cd}
a0b0c1: Carambola + S. cerevisiae + Arcilla	3,011 ^f	0,997 ^{bc}	98,18 ^c	28,06 ^e	0,00126 ^b	5,25 ^{ab}	3,74 ^{ef}	4,54 ^b	5,00 ^d	89,98 ^d	46,50 ^b
a0b0c2: Carambola + S. cerevisiae + Papaina	2,985 ^e	0,998 ^{bc}	97,80 ^b	20,94 ^b	0,003,23 ^e	6,25 ^c	4,32 ⁱ	5,44 ^d	4,00 ^c	94,72 ^g	46,50 ^b
a0b1c0: Carambola + S. ellipsoideus + Peptinasa	1,352 ^c	0,994 ^a	98,94 ^h	39,15 ^l	0,00255 ^d	5,35 ^b	3,63 ^b	4,35 ^a	3,00 ^b	90,30 ^d	41,50 ^a
a0b1c1: Carambola + S. ellipsoideus + Arcilla	3,153 ^k	0,995 ^{ab}	98,40 ^e	23,66 ^c	0,00101 ^a	5,35 ^b	3,59 ^a	4,72 ^c	7,00 ^e	92,24 ^e	51,00 ^{cd}
a0b1c2: Carambola + S. ellipsoideus + Papaina	3,081 ⁱ	0,996 ^{abc}	98,95 ^h	32,74 ^j	0,00201 ^c	6,55 ^d	4,12 ^h	8,76 ^j	7,00 ^e	92,56 ^e	48,00 ^{bc}
a1b0c0: Achotillo + S. cerevisiae + Peptinasa	0,925 ^b	0,998 ^{cd}	98,73 ^g	29,23 ^f	0,00126 ^b	7,15 ^e	3,82 ^g	7,23 ^h	2,00 ^a	86,67 ^a	50,50 ^{cd}
a1b0c1: Achotillo + S. cerevisiae + Arcilla	3,045 ^g	1,002 ^e	98,77 ^g	35,47 ^k	0,00127 ^b	6,45 ^{cd}	3,73 ^{de}	5,87 ^e	5,00 ^d	95,00 ^g	50,50 ^{cd}

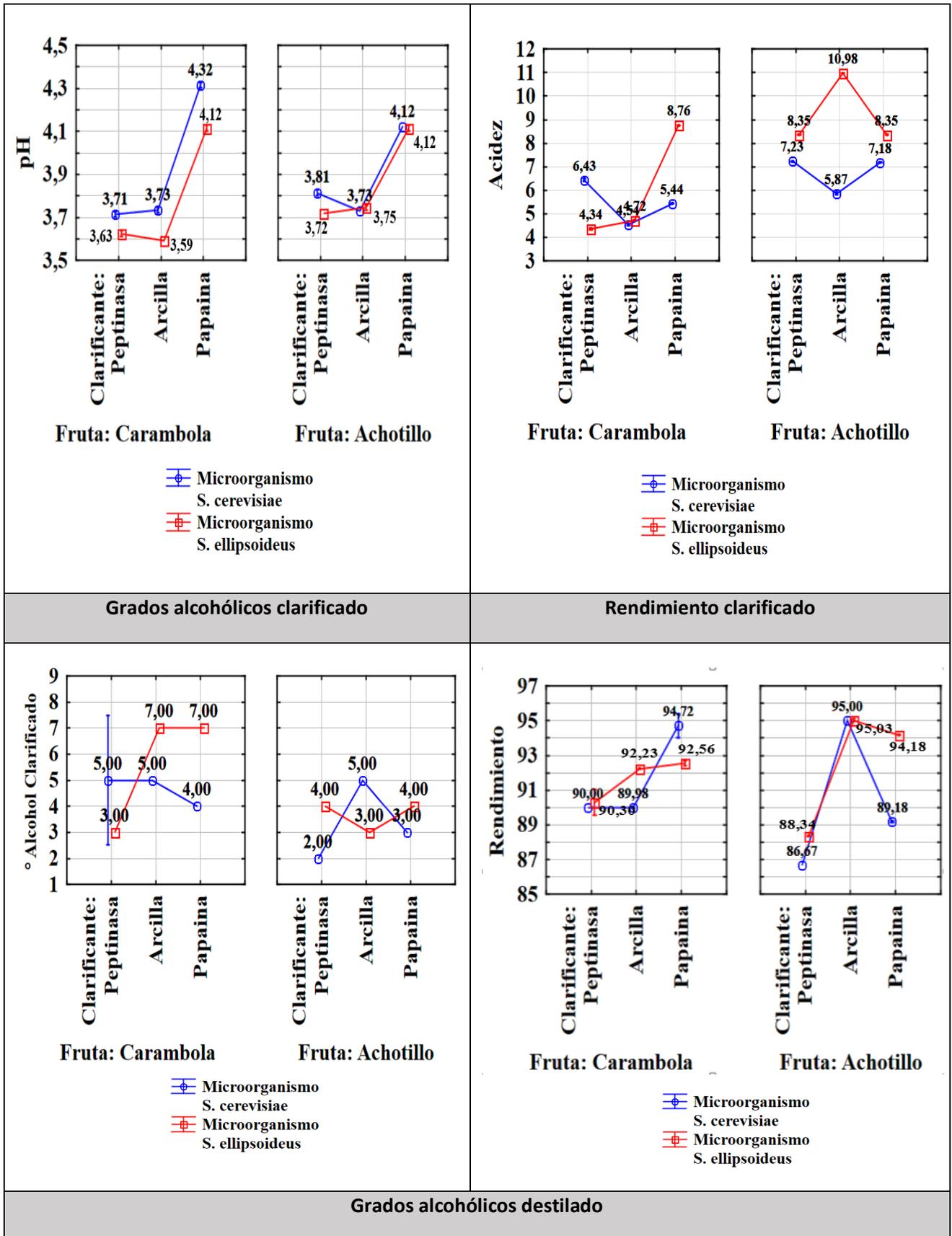
a1b0c2: Achotillo + S. cerevisiae + Papaina	3,090 ^j	1,002 ^e	98,37 ^d _e	30,48 ^g	0,00256 ^d	6,25 ^c	4,12 ^h	7,19 ^g	3,00 ^b	94,72 ^g	53,50 ^d
a1b1c0: Achotillo + S. ellipsoideus + Peptinasa	1,636 ^d	1,001 ^{de}	98,34 ^d	27,18 ^d	0,00384 ^f	8,15 ^f	3,72 ^{cd}	8,35 ⁱ	4,00 ^c	90,30 ^d	52,00 ^d
a1b1c1: Achotillo + S. ellipsoideus + Arcilla	3,090 ^j	1,003 ^e	98,58 ^f	30,98 ^h	0,00514 ^g	7,20 ^e	3,75 ^f	10,98 ^k	3,00 ^b	92,24 ^e	47,50 ^{bc}
a1b1c2: Achotillo + S. ellipsoideus + Papaina	3,073 ^h	1,003 ^e	97,75 ^b	32,44 ⁱ	0,00201 ^c	8,20 ^f	4,12 ^h	8,35 ⁱ	4,00 ^c	92,56 ^e	51,00 ^{cd}

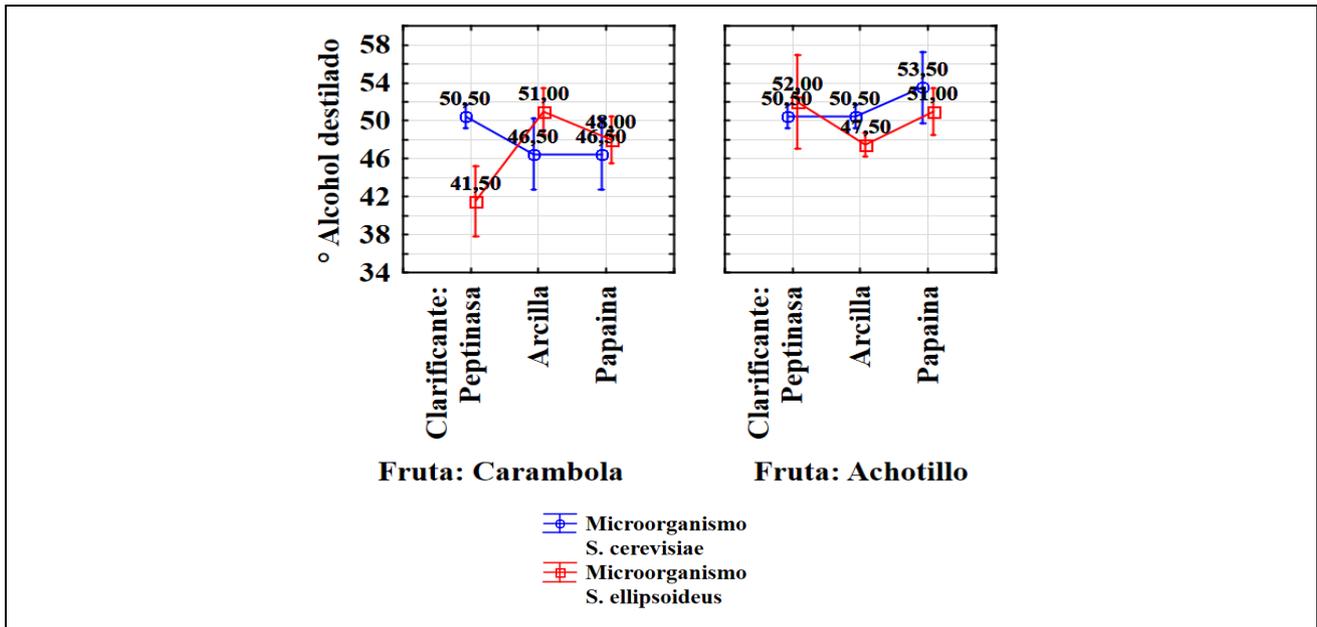
Figura 8.

Prueba de significancia de Tukey para Frutas * Microorganismo * Clarificantes (Interacción A*B*C)









Respecto a la **figura 8** se pudo observar que en Carambola + *S. cerevisiae* + Arcilla (3,152) se presentó mayor absorbancia mientras que el valor bajo se presentó en Carambola + *S. cerevisiae* + Peptinasa (0,572); Achotillo + *S. ellipsoideus* + Arcilla (1,003) presentó una mayor densidad, mientras que la menor densidad se observó en Carambola + *S. ellipsoideus* + Peptinasa (0,994); la Carambola + *S. ellipsoideus* + Papaina (98,95) presentó el porcentaje de humedad más elevado mientras que el menor porcentaje se presentó en Carambola + *S. cerevisiae* + Peptinasa con (88,42); en cuanto a la ceniza se pudo observar que Carambola + *S. ellipsoideus* + Peptinasa (39,15) presentó un valor más alto, mientras que el valor más bajo se observa en Carambola + *S. cerevisiae* + Peptinasa (15,86); Achotillo + *S. ellipsoideus* + Arcilla presentó (0,00513) de anhídrido sulfuroso libre siendo este el valor alto, mientras que un valor bajo se presentó en Carambola + *S. ellipsoideus* + Arcilla (0,00101); Achotillo + *S. ellipsoideus* + Papaina (8,20) presentó mayor grados brix y Carambola + *S. cerevisiae* + Peptinasa (5,05) presentó el menor valor; en cuanto al pH se observó que en Carambola + *S. cerevisiae* + Papaina (4,32) se obtuvo un valor alto mientras que en Carambola + *S. ellipsoideus* + Arcilla (3,59) se presentó el menor valor; para acidez se observó que Achotillo + *S. ellipsoideus* + Arcilla (10,98) presento mayor valor, mientras que el menor valor se presentó en Carambola +

S. ellipsoideus + Peptinasa (4,34); en cuanto Grados alcohólicos en vino con la Carambola + *S. ellipsoideus* + Arcilla y Carambola + *S. ellipsoideus* + Papaina se obtuvo (7,00) siendo estos los de mayor valor mientras que el menor valor se presentó en por Achotillo + *S. cerevisiae* + Peptinasa (2,00); con respecto a Rendimiento del vino clarificado el Achotillo + *S. ellipsoideus* + Arcilla (95,03%) presentó mayor rendimiento y el menor rendimiento se observó en Achotillo + *S. cerevisiae* + Peptinasa (86,67%); para Grados alcohólicos en destilado el Achotillo + *S. cerevisiae* + Papaina con (53,50) presentó mayor valor que Carambola + *S. ellipsoideus* + Peptinasa con (41,50).

5 DISCUSIÓN

5.1 Con respecto a las Frutas (Factor A)

En las frutas estudiadas, se observó que el Achotillo (7,17) presenta mayor grados Brix a comparación de la Carambola (5,33). La cantidad de azúcares presentes en el vino luego de la fermentación, son resultado de la efectividad de los microorganismos inoculados para la fermentación. El contenido alcohólico procede casi en su totalidad de la fermentación del jugo de fruta (Hoyos O, Velez P, 2000).

En la variable Acidez el Achotillo presenta un valor mayor con 7,99 mientras que la Carambola un valor de 5,71. Cabe recalcar que no existen relaciones directas, o que permitan predicciones, entre el pH y la acidez total valorable. La acidez valorable se utiliza durante las operaciones de elaboración y acabado, para normalizar los vinos y para descubrir alteraciones indeseables debidas a bacterias y fermentos (Amerine M, 1976).

En cuanto a los grados de Alcohol en el vino de Achotillo fue de 3,50 ° y para la Carambola de 5,17 °. Un mosto con 10° Brix contiene aproximadamente 10% de azúcar, considerando que dos grados Brix produce aproximadamente 1°GL, se deben hacer las correcciones necesarias para lograr alcanzar la cantidad deseada de alcohol en el vino (Corazza M, 2001).

En Grados de Alcohol destilado fueron mayores en Achotillo (50,83°GL) y en Carambola (47,33°GL) y en la variable rendimiento de vino clarificado el Achotillo (91,40%) presenta el valor mayor diferencia de la Carambola (91,63%). Estos valores de grados alcohólicos y rendimiento de vino clarificado, se deben a la acción de los microorganismos y las condiciones del medio. Los microorganismos son los responsables de la transformación de glucosa (azúcar) en alcohol etílico y como resultado da un vino ya sea de uva específicamente

o de diversas frutas. Las levaduras son las encargadas en concreto de realizar el proceso bioquímico denominado fermentación alcohólica (Mesas J & Alegre M, 1999).

En referencia a la Absorbancia Carambola (2,36') presento un valor menor al Achotillo (2,476) esto ya que a su coloración natural, el mosto de la carambola presenta un color más claro y a su vez el achotillo presenta un color oscuro y también una de las características del mosto de achotillo, es que una vez extraído este se oxida, cambiando su color y haciéndolo más oscuro.

5.2 Con respecto a los Microorganismos (Factor B)

En la variable Brix el microorganismo *S. cerevisiae* (6,00) presento un valor menor, comparado con *S. ellipsoideus* (6,50), esto hace referencia a la efectividad que tiene cada microorganismo para convertir los azúcares en alcohol. *Saccharomyces cerevisiae* es una importante levadura en la enología ya que es responsable de la fermentación de los azúcares del mosto presentes en gran cantidad. Su poder alcohológeno es elevado (17°) y resistente al SO₂ (mg/l).

Los microorganismos son los responsables de la transformación de glucosa (azúcar) en alcohol etílico y como resultado da un vino ya sea de uva específicamente o de diversas frutas. Las levaduras son las encargadas en concreto de realizar el proceso bioquímico denominado fermentación alcohólica (Mesas & Alegre, 1999).

En las siguientes variables se determinó que; *S. cerevisiae* (3,91) presento mayor pH que *S. ellipsoideus* (3,83); en Acidez, Absorbancia y % Ceniza, *S. ellipsoideus* (7,58 – 2,565 – 31,02%) presento mayor valor que *S. cerevisiae* (6,12 – 2,272 – 26,67 %) respectivamente.

5.3 Con respecto a los Clarificantes (Factor C)

En la variable Rendimiento de Vino clarificado la Arcilla (93,06%) y Papaína (92,83%) presentaron mayores rendimientos a diferencia de la Peptinasa (88,83%). Esto se debe a que la

Arcilla y Papaína, solamente precipitaron los sólidos de mayor tamaño suspendidos en el vino, lo cual creó un precipitado de menor cantidad, y mayor vino “clarificado”, ya que este aún tiene muchos sólidos suspendidos en el vino, lo que le dio un color opaco. Sin embargo la Peptinasa, presenta menor rendimiento, ya que la efectividad del clarificante fue mayor, es decir, se obtuvo mayor precipitado y menor cantidad de vino, pero con un color transparente rojizo.

La explicación anterior se la corrobora con la variable Absorbancia en donde Peptinasa (1,121) obtiene un valor menor comparado con Arcilla (3,075) y Papaína (3,058) con valores mayores. La Peptinasa al obtener un valor menor, nos indica que el vino está mayormente clarificado. La adición de pectinasas exógenas suele ser beneficiosa, porque aunque se encuentran de forma natural en los frutos, su actividad natural es menor que la necesaria para hidrolizar toda la pectina del mosto (Felix R. & Viletta J.C, 1983).

5.4 Con respecto a la Interacción (AxBxC)

Con respecto a las interacciones la que mejor resultados presento fue la combinación Carambola - *S. cerevisiae* – Peptinasa, ya que en las interacciones AxB, AxC y BxC muestra los mejores resultados en cuanto a Brix, Acidez, pH, Absorbancia, %Rendimiento de Vino y Etanol. Siendo así esta combinación la más recomendada para obtener un vino de cualidades aceptables y aptas para la comercialización

6 CONCLUSIONES

En la obtención del vino clarificado de achotillo y carambola se determinó según la prueba de Tukey al 5% que existió diferencia significativa para las variables Acidez (Achotillo con mayor acidez con 7,99) Brix (Achotillo con mayor Brix con 7,17) Absorbancia (Carambola con menor turbidez con 2,36 de Absorbancia) carambola con menor densidad (0,996) carambola con menor Humedad (96,78%) y cenizas (26,73)

En la obtención del vino destilado de achotillo y carambola se determinó según la prueba de Tukey al 5% que existió diferencia significativa para las variables Grados alcohólicos destilado siendo el Achotillo el de mayor grado con 50,83° alcohólicos.

En la obtención de vino clarificado de achotillo y carambola se determinó según la prueba de Tukey al 5% que existió diferencia significativa para las siguientes variables; pH del vino clarificado (*S. ellipsoideus* con 3,83 y *S. cerevisiae* con 3,91) lo que tiene relación con la variable Acidez del vino clarificado (*S. ellipsoideus* con 7,58 y *S. cerevisiae* con 6,12).

También hubo diferencia en la variable grados Brix (*S. ellipsoideus* con 6,50 y *S. cerevisiae* con 6,00) y la variable Absorbancia (*S. ellipsoideus* con 2,56 y *S. cerevisiae* con 2,27).

De acuerdo a la prueba de Tukey al 5% en la obtención del vino clarificado se encontraron diferencias significativas en las siguientes variables; pH del vino clarificado (papaína con mayor pH con un valor de 4,18) Brix del vino clarificado (Arcilla con menor grados Brix con un valor de 5,75) Acidez del vino clarificado (Arcilla menor acidez con 6,53).

En las variables rendimiento de vino clarificado la enzima que presento menor rendimiento fue la peptinasa con un 88,83% sin embargo en la variable Absorbancia la peptinasa presenta una menor turbidez con 1,121 dando como conclusión que la enzima que mejor actúa como clarificante es la peptinasa. Densidad (Peptinasa con valor menos 0,997) cenizas (peptinasa 27,85) grados alcohólicos vino clarificado (arcilla °5).

En esta investigación por el modelo aplicado en cuanto a los factores y procesos de la misma, se concluye con que existen dos tratamientos que presentaron los mejores resultados de acuerdo al tipo de fruta a utilizar.

El mejor tratamiento para la obtención de vino clarificado en la Carambola fue el T1 (Carambola + *S. cerevisiae* + Peptinasa) ya que presento un mejor pH, Acidez, grados Brix y Rendimiento de vino clarificado con una mejor Absorbancia. Al igual que un mayor rendimiento de alcohol destilado con un mayor grado alcohólico.

Sin embargo, en la otra fruta, los factores B y C también actuaron como mejor tratamiento para la obtención de vino clarificado en la Achotillo fue el T7 (Achotillo + *S. cerevisiae* + Peptinasa) ya que presento un mejor pH, Acidez, grados Brix y Rendimiento de vino clarificado con una mejor Absorbancia. Al igual que un mayor rendimiento de alcohol destilado con un mayor grado alcohólico.

7 RECOMENDACIONES

Realizar una correcta selección de las frutas a utilizar, ya que de esto dependerá que los organismos a inocular puedan desarrollarse de la manera óptima y las enzimas también puedan actuar de mejor manera.

Mantener la inocuidad durante todo el proceso para la obtención del vino, ya que de esto dependerá que se evite una contaminación con patógenos que puedan afectar el proceso de fermentación, clarificación y por ende la obtención de alcohol etílico.

Monitorear constantemente los parámetros que se requieren durante cada proceso para así mantener un ambiente óptimo en donde las levaduras y enzimas clarificantes puedan actuar de manera efectiva.

8 BIBLIOGRAFIA

- Aguilar K. (4 de Julio de 2016). *issuu*. Obtenido de https://issuu.com/kattheriineaguilar/docs/pruebas_de_identificacion_del__meta
- Amerine M. (1976). *Análisis de Vinos y Mostos*. Zaragoza - España: Acribia.
- Anonimo. (2004).
- Arozarena. (2009). Parámetros Enológicos básicos. En *Tecnología de la elaboración de vinos de frutas*. España: In U.P d.N.
- Bernabeu, R., & Olmeda, M. (2002). Factores que coincidan la frecuencia de consumo de vino. Distribución y consumo.
- Casares. (17 de julio de 2010). *Elaboración del vino. Analisis de polifenoles de Iso vinos mediante metodos de separación*. Barcelona, España. Obtenido de <http://loxarel.com/news/analisis%20polifenoles.pdf>
- Cooperación Química Venezolana. (2010). *Propiedades y características físico químicas del alcohol etílico*. Recuperado el 20 de Agosto de 2017, de http://iio.ens.uabc.mx/hojas-seguridad/alcohol_etilico.pdf
- Corazza M. (2001). Preparation and Characterization of Apple Wine. *Quim. Nova*.
- Coronel, M. (2008). *Universidad Tecnologica del Ecuador*. Obtenido de <http://www.ute.edu.ec/fci/Coronel.pdf>
- Fajardo, E., & Sarmiento, S. (2007). *Evaluación de melaza de caña como sustrato para la producción de Saccharomyces cerevisiae*. Bogota, Colombia.

Felix R. & Vilettaz J.C. (1983). *Industrial Enzymology: The applications of enzymes in industry.*

En G. a. Reichelt. New York: The Nature Press.

Ferreira, M., Schwab, M., Gerard, L., Zapata, L., & Davies, C. (2009). Fermentación alcohólica de

jugo de naranja con *S. cereviceae*. *Ciencia, Docencia y Tecnologia*, 143-158.

García. (2004). Las Levaduras. En *Introducción a la microbiología* (págs. 108-116). San José,

Costa Rica.

García, M., Quintero, & López. (2004). Característica general de bebidas alcohólicas.

Biotecnología Alimentaria, 263-311.

González, X. (2012). *Desarrollo de na tecnología par elaborar una bebida alcohólica a partir de*

grosella blanca (Phyllaplanthus acidus). Ambato, Tungurahua, Ecuador.

Hernández, A. (2013). *Microbiología Alcohólicas*.

Hoyos O, Velez P. (2000). *Análisis de alimentos: Manual de prácticas de laboratorio*. Popayan:

Universidad del Cauca.

INEN 0362. (2014). Bebidas alcohólicas. Aguardiente de caña rectificado. Requisitos. En I. E.

Normalización. Quito.

INEN 0374. (2016). *NTE INEN 0374: Bebidas alcohólicas. Vino de frutas. Requisitos*. Obtenido

de <https://archive.org/details/ec.nte.0374.1987/page/n3>

INEN 340. (1994). *DETERMINACIÓN DEL GRADO ALCOHOLICO*. Quito. Obtenido de

[https://studylib.es/doc/5147131/nte-inen-0340--bebidas-alcoh%C3%B3licas.-](https://studylib.es/doc/5147131/nte-inen-0340--bebidas-alcoh%C3%B3licas.-determinaci%C3%B3n-del-grado)

[determinaci%C3%B3n-del-grado](https://studylib.es/doc/5147131/nte-inen-0340--bebidas-alcoh%C3%B3licas.-determinaci%C3%B3n-del-grado)

Lagunas S, Vega L. (2013). *MANUAL DE PRÁCTICAS DE LABORATORIO DE BACTERIOLOGÍA Y*

MICOLOGÍA. México: Subdirección Académica. Obtenido de Obtenido de

http://veterinaria.uaemex.mx/_docs/607_970_MP%20Bacteriolog%C3%ADa%20y%20Micolog%C3%ADa.pdf

Mendez, M. (2006). *Evaluación de la estabilidad del vino de Naranja (Citrus senencis) utilizando un agente y encima clarificante*. Zamorano, Honduras: Escuela Agrícola Panamericana Zamorano.

Mesas J & Alegre M. (1999). The Role of the microorganism in winemaking. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*. Journal of Food.

Mesas, J., & Alegre, M. (1999). The role of the microorganisms in winemaking. *Ciencia y Tecnología Alimentaria*, 174-183.

MNS. (s.f.). European Fruits and Vegetables Report (ITC).

Olmos A, Fuentes C, Nieto J, Ramos S. (2010). *Procedimientos en Microbiología Clínica*. España: EIMC. Obtenido de <https://www.seimc.org/contenidos/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimientomicrobiologia37.pdf>

PROCHILE. (6 de Agosto de 2015). *PRO CHILE*. Obtenido de <http://www.prochile.gob.cl/noticia/consumo-mundial-de-vino-registra-ligera-disminucion-en-2014/>

Ramirez. (2004). Rambutan (*Nephelium lappaceum*). En *Tropical tree fruits for Australia* (págs. 198-203). Queensland Departement of Primary Industry: Horticulture Branch.

Ramirez, T. (2003). *Guía para la propagación del rambutan en honduras*. FHIA.

Salazar L. (2017). *AISLAMIENTO Y CARACTERIZACIÓN DE MICROORGANISMOS DURANTE EL PROCESO DE FERMENTACIÓN DE THEOBROMA CACAO L. DE LA VARIEDAD*. Cuzco, Perú: Universidad Peruana Cayetano Heredia. Obtenido de

http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/1436/Aislamiento_SalazarAlvarez_Lilian.pdf?sequence=1&isAllowed=y

The Parker. (2000).

Tindall, H. D. (1994). Rambutan cultivation. Roma: FAO.

Uribe, L. (2007). *Pontificia Universidad Javeriana*. Obtenido de

<http://javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis276.pdf>

Watson, J. (1988). Rambutan cultivars in north Queensland after harvest. *Queensland Agriculture Journal*, 37-41.