



**Universidad del Azuay**

**Facultad de Ciencia y Tecnología**

**Escuela de Ingeniería en Alimentos**

*Evaluación de variedades locales de manzana (malus comunis)  
como materia prima en la elaboración de sidra*

**Trabajo previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos**

**Autor:**

**Nilton Fabrizzio Mera Patiño**

**Directora:**

**María Elena Cazar Ramírez**

**Cuenca, Ecuador**

**2013**

## **DEDICATORIA**

A mi Padre, a ese gran hombre, dondequiera que su espíritu se encuentre.

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi madre.

Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor.

A mi maestra.

María Elena Cazar, por su gran motivación para la elaboración de este trabajo; por su tiempo compartido, por impulsar el desarrollo mi formación profesional y por el apoyo brindado en asesorías y dudas presentadas en la elaboración de la tesis

A mi hermana, por ser el ejemplo de una hermana mayor y de quien aprendí aciertos y de momentos difíciles; a mi prima Irene, que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y por su brillante colaboración con sus conocimientos y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

¡Gracias a ustedes!

## ÍNDICE DE CONTENIDOS

Dedicatoria.....	ii
Agradecimientos.....	iii
Índice de Contenidos.....	iv
Índice de Ilustraciones y Cuadros.....	vi
Índice de Anexos.....	vi
Resumen.....	vii
Abstract.....	viii
Introducción.....	1

### **CAPÍTULO 1: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA**

1.1 La Manzana: aspectos botánicos y agroindustriales.....	2
1.1.1 Características Generales y botánicas.....	2
1.1.2 La Manzana en Ecuador: Zonas de cultivo y variedades promisorias.....	4
1.2 La fermentación como estrategia de elaboración de bebidas.....	6
1.2.1 Consideraciones Generales.....	6
1.2.2 Microorganismos de la Fermentación.....	11
1.2.3 Bebidas alcohólicas elaboradas por procesos de fermentación.....	16
1.2.3.1. La Cerveza.....	17
1.2.3.2 El vino.....	18
1.2.3.3 El Sake.....	22
1.2.3.4 La Sidra.....	24
1.3 Diseño experimental como estrategia para la optimización del procesamiento de alimentos.....	32

### **CAPÍTULO 2: PROCEDIMIENTO DE EVALUACIÓN**

2.1 Obtención de materia prima.....	34
2.2 Aspectos técnicos y metodológicos.....	34
2.2.1 Recolección de la materia prima.....	34
2.2.2 Clasificación de las variedades.....	35
2.2.3 Estandarización de la materia prima.....	35
2.2.4 Diseño experimental para establecer los parámetros óptimos para la elaboración de sidra de manzana.....	36
2.2.5 Determinación de los parámetros óptimos de elaboración en el proceso fermentativo.....	38
2.2.6 Proceso de fermentación alcohólica.....	38
2.2.7 Determinación de azúcares reductores.....	40
2.2.8 Determinación de grado alcohólico.....	42
2.1.8 Evaluación del producto terminado por análisis sensorial.....	42

### **CAPÍTULO 3: RESULTADOS**

3.1 Resultados.....	44
3.1.1 Parámetros de elaboración de sidra de manzana establecidos mediante Diseño Experimental.....	44

3.2 Formulación de sidra de manzana a partir de los parámetros establecidos por diseño experimental.....	45
3.3 Obtención de modelos polinomiales para evaluar la influencia de las variables en las respuestas experimentales.....	46
3.4 Características organolépticas del producto terminado y aceptabilidad.....	47
3.4.1 Gráficos de características organolépticas variedad Anna.....	47
3.4.2 Gráficos de características organolépticas variedad Flor de Mayo.....	48
3.4.3 Gráficos de características organolépticas variedad Golden Delicious.....	51

## **CAPÍTULO 4: DISCUSIÓN**

4.1 Parámetros de elaboración de sidra de manzana establecidos mediante Diseño Experimental.....	52
4.2 Formulación de sidra de manzana a partir de los parámetros establecidos por diseño experimental.....	53
4.3 Modelos polinomiales.....	54
4.4 Características organolépticas del producto terminado y aceptabilidad.....	55

<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>56</b>
--------------------------	-----------

<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>57</b>
--------------------------	-----------

<b>ANEXOS.....</b>	<b>58</b>
--------------------	-----------

**ÍNDICE DE TABLAS**

Tabla 1.1 Variedades de manzana cultivadas en Ecuador.....	14
Tabla 2.1. Esquema de diseño factorial completo $2^3$ .....	45
Tabla 3.1. Características físico-química de las variedades seleccionada.....	51
Tabla 3.2. Variables de experimentación y Respuesta Experimental por Varieda.....	52
Tabla 3.3. Modelos polinomiales para evaluar la influencia de las variables en las respuestas experimentales.....	53

**INDICE DE FIGURAS**

Figura 1.1 Esquema simplificado de la elaboración de sidra.....	39
Figura 2.2 Diagrama de Flujo utilizado para la elaboración de sidra de manzana.....	47
Figura 3.1 Apariencia variedad Anna.....	54
Figura 3.2 Color Variedad Anna.....	55
Figura 3.3 Olor Variedad Anna.....	55
Figura 3.4 Sabor Variedad Anna.....	56
Figura 3.5 Apariencia variedad Flor de Mayo.....	56
Figura 3.6 Color Variedad Flor de Mayo.....	57
Figura 3.7 Olor Variedad Flor de Mayo.....	57
Figura 3.8 Sabor Variedad Flor de Mayo.....	58
Figura 3.9 Apariencia variedad Golden Delicious.....	58
Figura 3.6 Color Variedad Golden Delicious.....	59
Figura. 3.7 Olor Variedad Golden Delicious.....	59
Figura 3.8 Sabor Variedad Golden Delicious.....	60

## ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Modelo de ficha de evaluación sensorial.....	66
Anexo 2. Resultados del panel de la ficha de evaluación sensorial, por variedad.....	69
Anexo 3. Obtención de modelos polinomiales para evaluar la influencia de las variables en las respuestas experimentales.....	72
Anexo 4. Ubicación de las zonas de producción de manzana en la provincia del Azuay.....	75

*100413*

**EVALUACIÓN DE VARIEDADES LOCALES DE MANZANA  
(*Malus comunis*) COMO MATERIA PRIMA EN LA  
ELABORACIÓN DE SIDRA**

**RESUMEN.**

Para seleccionar las especies locales promisorias de manzana para la elaboración de sidra y obtener mediante diseño experimental, los parámetros óptimos para el proceso de elaboración de sidra, se formuló un producto a partir de variedades locales, en condiciones optimas de proceso, se analizó el consumo de sustrato en relación al tiempo de fermentación para los diferentes tratamientos y se identificó la tasa de producción de etanol en las diferentes condiciones del proceso, determinando así, que la formulación de sidras con variedades locales de manzana es un proceso factible en nuestro medio, convirtiéndose en una alternativa para los productores locales, otorgando un valor agregado a este producto agrícola y que el diseño de experimentos, es una estrategia válida para optimizar los parámetros de elaboración de bebidas alcohólicas y permite establecer los parámetros que tienen mayor influencia en el desarrollo de un producto.

**Palabras Clave:** Anna, Golden Delicious, Inóculo, Fermentación, Diseño Experimental, Elaboración de Sidra, Sustrato, Análisis Sensorial.



-----  
**Ing. Fausto Parra**  
**JUNTA ACADÉMICA**



-----  
**Dra. María Elena Cazar**  
**DIRECTORA**



-----  
**Fabrizio Mera Patiño**  
**AUTOR**

## ABSTRACT

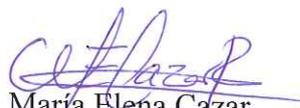
### ***EVALUATION OF THE VARIETY OF LOCAL APPLES (*Malus comunis*) AS PRIME MATER FOR THE PRODUCTION OF CIDER***

In order to select the most promising local species of apples for the production of cider and with the intention of obtaining the optimal parameters for this production process, through an experimental model, we analyzed the consumption of the substrate in relation to the time of fermentation for the different treatments. We identified the rate of ethanol production in the different conditions of the process. Consequently, we were able to determine that the production of cider with local varieties of apples is a feasible process in our environment. This process is an alternative for local producers and it adds value to this agriculture product. In addition, we established that the design of experiments is a valid strategy to optimize the parameters for the production of alcoholic beverages. Also, it allows us to establish which parameters have a better influence in the development of a product.

**Key Words:** Anna, Golden Delicious, Inoculums, Fermentation, Experimental Design, Production of Cider, Substrate, Sensory Analysis.



Ing. Fausto Parra  
ACADEMIC BOARD



Dra. María Elena Cazar  
DIRECTOR



Fabrizio Mera Patiño  
AUTHOR



UNIVERSIDAD DEL  
AZUAY  
DPTO. IDIOMAS



Translated by,  
Diana Lee Rodas

Nilton Fabrizzio Mera Patiño  
Trabajo de Graduación.  
María Elena Cazar Ramírez  
Abril de 2013

*Evaluación de variedades locales de manzana (malus comunis)  
como materia prima en la elaboración de sidra*

## **1. INTRODUCCIÓN**

Las zonas agrícolas de la Región Centro-Sur Ecuatoriana, requieren propuestas con el fin de incrementar el valor agregado de su producción mediante estrategias agroindustriales. Los productores de manzana no cuentan con el apoyo necesario para posicionar su producto a nivel local, ni se les ofrecen alternativas de desarrollo de productos elaborados. En el escenario de una economía agrícola abierta, altamente competitiva y fuertemente articulada a los mercados externos, difícilmente los productores de manzana podrán subsistir.

El desarrollo de la presente investigación, ha permitido estandarizar los procesos de elaboración de sidra de manzana a partir de variedades locales. En este trabajo se han evaluado variables tecnológicas fundamentales dentro del proceso de elaboración del producto como: porcentaje de alcohol, grados Brix, porcentaje de acidez y cultivo de inoculación, los cuales, analizados mediante experimentación y estandarización, han proyectado resultados cuantificables para de esta forma establecer, mediante diferenciación, la variedad con mejores atributos para utilizarse como materia prima en la elaboración y el desarrollo del proceso óptimo para la elaboración de sidra.

Finalmente, los productos con mejores características organolépticas, han sido sometidos a un análisis sensorial por un panel de catadores no entrenados, para evaluar la aceptabilidad del producto. Los resultados obtenidos permiten avizorar una perspectiva positiva en la industrialización de variedades locales de manzana, con el fin de obtener una bebida fermentada con un proceso de producción controlado y estándares de calidad competitivos con la industria local y regional.

## CAPÍTULO 1

### FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

#### 1.1 La Manzana: aspectos botánicos y agroindustriales

##### 1.1.1 Características Generales y botánicas

###### Origen:

Se desconoce la región del origen exacta del manzano, aunque se cree que procede del cruzamiento y selección de varias especies de manzanos silvestres europeos y asiáticos. Según V.V. Ponomarenko es *Malus sieversii* (Ledeb.) Roem., una especie de manzano silvestre que crece de forma natural en las regiones montañosas de Asia media, podría ser esta especie de la que se habrían originado, hace 15.000-20.000 años, las primeras razas cultivadas de manzano. El manzano fue introducido en España por los pueblos del norte de África y durante el proceso de romanización de la península (Calderón, 2005).

###### Taxonomía y Morfología:

-Familia: *Rosaceae*.

-Especie: *Pyrus malus* L.

-Características morfológicas: alcanza como máximo 10 m. de altura y tiene una copa globosa. Tronco derecho que normalmente alcanza de 2 a 2,5 m. de altura, con corteza cubierta de lenticelas, lisa, adherida, de color ceniciento verdoso sobre los ramos y escamosa y gris parda sobre las partes viejas del árbol. Tiene una vida de unos 60-80 años. Las ramas se insertan en ángulo abierto sobre el tallo, de color

verde oscuro, a veces tendiendo a negruzco o violáceo. Los brotes jóvenes terminan con frecuencia en una espina.

-Sistema radicular: raíz superficial, menos ramificada que en peral.

-Hojas: ovales, cortamente acuminadas, aserradas, con dientes obtusos, blandas, con el haz verde claro y tomentosas, de doble longitud que el pecíolo, con 4-8 nervios alternados y bien desarrollados.

-Flores: grandes, casi sentadas o cortamente pedunculadas, que se abren unos días antes que las hojas. Son hermafroditas, de color rosa pálido, a veces blanco y en número de 3-6 unidas en corimbo.

-Floración: tiene lugar en primavera, generalmente por abril o mayo, las manzanas más precoces maduran en junio, aunque existen razas que mantienen el fruto durante la mayor parte del invierno e incluso se llegan a recoger en marzo o abril.

-Fruto: pomo globoso, con pedúnculo corto y numerosas semillas de color pardo brillante (Calderón, 2005).

#### Composición y propiedades:

Desde el punto de vista nutritivo la manzana es una de las frutas más completas y enriquecedoras en la dieta. Un 85% de su composición es agua, por lo que resulta muy refrescante e hidratante. Los azúcares, la mayor parte fructosa y en menor proporción, glucosa y sacarosa, de rápida asimilación en el organismo; es fuente discreta de vitamina E o tocoferol y aporta una escasa cantidad de vitamina C.

Es rica en fibra y entre su contenido mineral sobresale el potasio. Las extraordinarias propiedades dietéticas que se le atribuyen a esta fruta se deben en gran medida a los elementos fitoquímicos que contiene, entre ellos, flavonoides y quercitina, con propiedades antioxidantes. (Cruz, 2010).

### **1.1.2 La Manzana en Ecuador: Zonas de cultivo y variedades promisorias**

En Ecuador se cultivan ciertas variedades de manzana, las cuales se han adaptado al clima y condiciones geográficas de las zonas andinas. Las principales zonas de cultivo de manzana en el país, se encuentran en las regiones templadas altas de la sierra ecuatoriana (2 500msn), en donde existen principalmente variedades de mediano y alto requerimiento de frío. Las principales áreas productoras están en las provincias de Carchi, Imbabura, Pichincha, Tungurahua, Azuay y Loja.

En los valles en donde se cultiva la manzana, la temperatura fluctúa entre 16 y 18°C, con mínimas y máximas medias de 12 y 24°C, respectivamente; las precipitaciones registradas, varían entre 400 y 1 000mm anuales y la humedad relativa ambiental registrada oscila entre 50 y 85%. Estas condiciones permiten que las plantas puedan mantenerse en continua actividad en el sistema de producción forzada. A continuación se describen las principales características de las manzanas cultivadas en nuestro país. De las variedades citadas en el cuadro siguiente, las que se cultivan en la provincia del Azuay son: Ana, Golden Delicious, Gala, Red Delicious, Flor de Mayo, las cuales se localizan en las zonas de Sigsig, Paute, San Bartolomé, El Pan (Díaz, 2012).

<b>Variedad</b>	<b>Propiedades</b>
<b>Ana</b>	De producción buena y regular. Frutos grandes, de color rojo vinoso, carne crujiente y jugosa de color blanco, de sabor muy agradable. Buena conservación.
<b>Golden Delicious</b>	Fruto grande, color amarillo dorado. Carne blanca amarillenta. Variedad muy productiva y de buena conservación natural.
<b>Gala</b>	De producción notable y regular. Los frutos tienen un tamaño medio, de coloración amarilla.
<b>Starking</b>	Fruto grande, cónico, carne amarilla crujiente, de sabor muy agradable. Epidermis de color rojo vinoso y con estrías más oscuras. Buena conservación en frigorífico.
<b>Red Delicious</b>	Fruto grande y más coloreado. Carne crocante, jugosa y perfumada. Es una variedad productiva. Resistente a manipulaciones y transporte. Excelente conservación
<b>Reineta blanca del Canadá</b>	Fruto de tamaño grande, tronco cónico, globoso, ventrudo. Carne blanco-amarillenta, jugosa, dulce y al mismo tiempo acidulada.
<b>Flor de Mayo</b>	Fruto de tamaño mediano, blanco amarillento, ceroso. Carne blanco-verdosa, jugosa, dulce y perfumada. De muy buena conservación.

Tabla 1.1 Variedades de manzana cultivadas en Ecuador. (Cruz, 2010).

## **1.2 La fermentación como estrategia de elaboración de bebidas**

### **1.2.1 Consideraciones Generales.**

La fermentación es un proceso catabólico de oxidación incompleta, totalmente anaeróbico, siendo el producto final un compuesto orgánico. Estos productos finales son los que caracterizan los diversos tipos de fermentaciones. En la industria la fermentación puede ser oxidativa, es decir, en presencia de oxígeno,

pero es una oxidación aeróbica incompleta, como la producción de ácido acético a partir de etanol. Las fermentaciones pueden ser: naturales, cuando las condiciones ambientales permiten la interacción de los microorganismos y los sustratos orgánicos susceptibles; o artificiales, cuando el hombre propicia condiciones y el contacto referido (Drilleau, 2005).

El beneficio industrial primario de la fermentación es la conversión del mosto en vino, cebada en cerveza y carbohidratos en dióxido de carbono para hacer pan. La fermentación de los alimentos sirve a 5 propósitos generales:

- Enriquecimiento de la dieta, a través del desarrollo de una diversidad de sabores, aromas y texturas en los sustratos de los alimentos.
- Preservación de cantidades substanciales de alimentos, a través de ácido láctico, etanol, ácido acético y fermentaciones alcalinas.
- Enriquecimiento de sustratos alimenticios con proteína, aminoácidos, ácidos grasos esenciales y vitaminas.
- Detoxificación durante el proceso de fermentación alimenticia.
- Disminución de los tiempos de cocinado y de los requerimientos de combustible (Steinkraus, 2005).

La fermentación tiene algunos usos exclusivos para los alimentos. Puede producir nutrientes importantes o eliminar antinutrientes. Los alimentos pueden preservarse por fermentación, la fermentación hace uso de energía de los alimentos y puede crear condiciones inadecuadas para organismos indeseables.

Por ejemplo, avinagrando el ácido producido por la bacteria dominante, inhibe el crecimiento de todos los otros microorganismos. La fermentación alcohólica es un proceso biológico en plena ausencia de aire, originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general azúcares: como pueden ser por ejemplo la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.), para obtener como productos finales: un alcohol en forma de etanol (cuya fórmula química es:  $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$ ), dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ) en forma de gas y unas moléculas de ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico. El etanol resultante se emplea en la elaboración de algunas bebidas alcohólicas, tales como el vino, la cerveza, la sidra, el cava, etc. Aunque en la actualidad se empieza a sintetizar también etanol mediante la fermentación a nivel industrial a gran escala para ser empleado como biocombustible, (Owen, 2006).

#### Limitaciones del Proceso:

La determinación de los factores que limitan la glicólisis fermentativa del etanol son complejos, debido a la interrelación existente y a la naturaleza de los parámetros intervinientes durante el proceso de fermentación. Algunos de ellos se deben tener en cuenta en la fermentación alcohólica industrial. En las limitaciones que surgen durante el proceso se pueden enumerar algunos de los más importantes como son:

- Concentración de etanol resultante: Una de las principales limitaciones del proceso, es la resistencia de las levaduras a las concentraciones de etanol que se llegan a producir durante la fermentación. Algunos microorganismos como *Saccharomyces*

*cerevisiae* pueden llegar a soportar hasta el 20% de concentración en volumen. En ingeniería bioquímica estos crecimientos se definen y se modelizan con las ecuaciones de crecimiento celular dadas por las ecuaciones de Tessier, Moser y de la ecuación de Monod.

- Acidez del substrato: El pH es un factor limitante en el proceso de la fermentación ya que las levaduras se encuentran afectadas claramente por el ambiente, bien sea alcalino o ácido. Por regla general el funcionamiento de las levaduras está en un rango que va aproximadamente desde 3.5 a 5.5 pH. Los procesos industriales procuran mantener los niveles óptimos de acidez durante la fermentación usualmente mediante el empleo de disoluciones tampón. Los ácidos de algunas frutas (ácido tartárico, málico) limitan a veces este proceso.
- Concentración de azúcares: La concentración excesiva de hidratos de carbono en forma de monosacáridos y disacáridos puede frenar la actividad microbiana. De la misma forma la baja concentración puede frenar el proceso. Las concentraciones límite dependen del tipo de azúcar, así como de la levadura responsable de la fermentación. Las concentraciones de azúcares afectan a los procesos de ósmosis dentro de la membrana celular.
- Contacto con el aire: Una intervención de oxígeno (por mínima que sea) en el proceso lo detiene por completo (es el denominado Efecto Pasteur). Esta es la razón por la que los recipientes fermentadores se cierran herméticamente.

- La temperatura: El proceso de fermentación es exotérmico, y las levaduras tienen un régimen de funcionamiento en unos rangos de temperatura óptimos, se debe entender además que las levaduras son seres mesófilos. Si se expone cualquier levadura a una temperatura cercana o superior a 55 °C por un tiempo de 5 minutos se produce su muerte. La mayoría cumple su misión a temperaturas de 30 °C.
- Ritmo de crecimiento de las cepas: Durante la fermentación las cepas crecen en número debido a las condiciones favorables que se presentan en el medio, esto hace que se incremente la concentración de levaduras. (Larpent, 2008).

### Fermentación Malo-Láctica

El bajo pH del mosto y del vino suministran un medio selectivo para el crecimiento de las bacterias del ácido acético y del ácido láctico, aunque la supervivencia de las primeras sea usualmente corta debido a las propiedades reductoras del medio. Las bacterias lácticas del vino son anaerobias facultativas u organismos microfílicos que son homofermentivos (todas las *Pediococcus* y algunos *Lactobacillus* producen ácido láctico a partir de glucosa) y heterofermentivos (todos los *Leuconostoc* y algunos *Lactobacillus*, producen ácido láctico, etanol y CO<sub>2</sub> a partir de la glucosa). Las bacterias lácticas pueden metabolizar los ácidos málico y tartárico presentes en el vino a concentraciones elevadas, así como al ácido cítrico, presente en cantidades más bajas. En las regiones productoras de vino puede ser deseable la reducción bacteriana de los ácidos, mientras que en otras regiones, en las que la concentración de ácidos es

pequeña, es importante impedir la posterior pérdida de acidez. También existen métodos químicos para reducir la acidez. La reducción de los ácidos puede impedir el deterioro de los vinos de pH elevado. A pH 3,3-3,4, *Leuconostoc oenus* fermenta el ácido málico aunque *Pediococcus* no lo hacen. *Leuconostoc* se adaptan bien a los pH bajos y generalmente se prefieren siempre que se desee una fermentación malo-láctica. Una fermentación malo-láctica por *Pediococcus*, va con frecuencia acompañada de la formación de diacetilo e histamina, indeseables. (Bueno Sanchez, 2004)

### **1.2.2 Microorganismos de la Fermentación**

Los microorganismos han sido utilizados durante los siglos para modificar los alimentos, y tanto éstos, como las bebidas fermentadas constituyen un sector primario y extremadamente importante de la industria alimentaria. Existen varias aplicaciones de los procesos de fermentación en la producción de bebidas alcohólicas, elaboración de quesos, fabricación de pan, alimentos basadas en soja fermentada, procesado de la carne y elaboración del vinagre. (Owen, 2006)

Los microorganismos responsables de la fermentación son de tres tipos: bacterias, mohos y levaduras. Cada uno de estos microorganismos, poseen una característica propia sobre la fermentación que son capaces de provocar. En algunos casos son capaces de proporcionar un sabor característico al producto final (como en el caso de los vinos o cervezas). A veces estos microorganismos no actúan solos, sino que cooperan entre sí para la obtención del proceso global de fermentación.

Algunas enzimas participan en la fermentación, como puede ser la diastasa o la invertasa. Aunque la única responsable de convertir los hidratos de carbono en etanol y dióxido de carbono es la zimasa. La zimasa es la responsable final de dirigir la reacción bioquímica que convierte la glucosa en etanol. (Larpent. 2008).

### Las Bacterias.

Las bacterias de las fermentaciones alimentarias son bacterias Gram +. Normalmente se consideran como un grupo a las bacterias lácticas, que se caracterizan por una gran producción de ácido láctico. Este grupo está constituido por los géneros *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* y *Pediococcus*. Se pueden incluir también los géneros *Microbacterium*, *Eubacterium* y *Butyribacterium*.

Las bacterias lácticas tienen forma de cocos o de bastoncitos y son catalasa -. Sintetizan su ATP en la fermentación láctica de los glúcidos. El ácido láctico es en algunos casos el único producto final (homofermentación) y en otras ocasiones se producen además etanol, acetato y CO<sub>2</sub> (heterofermentación).

Las bacterias lácticas son generalmente aerotolerantes, aunque algunas especies, como las que se encuentran en el intestino de los animales, son anaerobias estrictas. Incluso en presencia de O<sub>2</sub> no son capaces de llevar a cabo las fosforilaciones oxidativas, lo que está muy relacionado con su incapacidad para sintetizar citocromo y enzimas con grupos hemo. Sin embargo, gracias a las flavoproteínas, oxidasas o peroxidasas, pueden realizar limitadas oxidaciones no fosforilantes.

La ausencia de catalasa es característica, pero algunas especies adquieren una actividad catalásica en medios ricos en hemo (por ej., agar-sangre). Esta pseudocatalasa, incluso sin hemo pero con manganeso posee una débil actividad catalásica que podría, en aerobiosis, prolongar la vida de los cultivos estacionarios. El manganeso desempeña un papel importante para las bacterias, protegiéndolas de la toxicidad del oxígeno, (Bourgeois. 2007).

Algunas cepas de bacterias tienen eficiencias de fermentación altas sin necesidad de fijación, incluso a relativas velocidades de movilidad, tal y como puede ser el caso de *Zymomonas mobilis*. Sin embargo, esta bacteria no se ha empleado industrialmente para la fermentación de la cerveza y de la sidra por proporcionar sabores y olores desagradables. No obstante posee una alta resistencia a sobrevivir a concentraciones elevadas de etanol, lo que la convierte en una bacteria ideal en la generación de etanol para usos no comestibles, como puede ser biocombustibles (Owen, 2006)

### Las levaduras:

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* es un hongo unicelular responsable de gran parte de las fermentaciones alcohólicas. Las levaduras son cuerpos unicelulares (generalmente de forma esférica) de un tamaño que ronda los 2 a 4  $\mu\text{m}$  y que están presentes de forma natural en algunos productos como las frutas, cereales y verduras. Son lo que se denominan organismos anaeróbicos facultativos, es decir que pueden desarrollar sus funciones biológicas sin oxígeno. Se puede decir que el 96% de la producción de etanol la llevan a cabo hongos microscópicos, diferentes especies de levaduras, entre las que se encuentran principalmente *Saccharomyces cerevisiae*,

*Kluyveromyces fragilis*, *Torulaspota* y *Zymomonas mobilis*. Las propias levaduras se han empleado a veces en la alimentación humana como un subproducto industrial. Se ha descubierto que en algunos casos es mejor inmovilizar (reducir el movimiento) de algunas levaduras para que pueda atacar enzimáticamente mejor y con mayor eficiencia sobre el substrato de hidratos de carbono evitando que los microorganismos se difundan y facilitando su recuperación (los biocatalizadores suelen ser caros), para ello se emplean 'fijadores' como agar, alginato de calcio, astillas de madera de bálsamo, etcétera. La utilización de las levaduras es la base de un gran número de procesos fermentativos y de productos resultantes, que se pueden clasificar en siete grupos:

- levaduras de panadería y productos de panificación,
- levaduras de cervecería y cervezas,
- levaduras de vinificación y vinos,
- levaduras de destilación y licores,
- levaduras-alimentos,
- productos derivados de las levaduras (autolisados, etc.),
- etanol industrial y carburante. (Bourgeois, 2007).

Cuando el medio es rico en azúcar (como puede ser el caso de las melazas o siropes), la transformación del mismo en alcohol hace que la presencia de una cierta concentración (generalmente expresada en grados brix) afecte a la supervivencia de levaduras no pudiendo realizar la fermentación en tal medio (las altas concentraciones de azúcar frenan los procesos osmóticos de las membranas de las células). Aunque hay distintos tipos de levaduras con diferentes tolerancias a las

concentraciones de azúcares y de etanol, el límite suele estar en torno a los 14° de alcohol para las levaduras del vino, por ejemplo. Los azúcares empleados en la fermentación suelen ser: dextrosa, maltosa, sacarosa y lactosa (azúcar de la leche). Los microorganismos ‘atacan’ específicamente a cada una de los hidratos de carbono, siendo la maltosa la más afectada por las levaduras. (Owen, 2005).

### Los mohos:

Las fermentaciones alimentarias son algunos de los procesos biotecnológicos en los que intervienen los hongos. Se han definido los mohos, se ha indicado su posición sistemática dentro de los hongos, se ha tratado brevemente su modo de vida, sus condiciones de desarrollo y sus extraordinarias posibilidades de adaptación. Por la acción de sus activos y complejos sistemas enzimáticos, los mohos son capaces de alterar nuestros productos alimenticios, produciendo en ellos cambios irremediables.

Pero también debido a sus actividades bioquímicas se comportan como agentes responsables de biodegradaciones, biosíntesis o bioconversiones, transformando para nuestro beneficio sustratos de escaso valor alimenticio y poco atractivos, en un alimento rico en elementos asimilables, de agradable sabor y aroma o en sabrosos condimentos, (Bourgeois. 2007).

El moho utilizado para la elaboración de los quesos de pasta blanda y corteza florida (camembert, brie, etc.) es *Penicillium camembertii* frecuentemente denominado por los queseros «*P. candidum*». Las esporas que se utilizan para sembrar los quesos se preparan en laboratorios especializados. Estas esporas se obtienen de cultivos con

medio en agitación en fermentadores de gran tamaño, se separan del micelio por centrifugación y se comercializan en suspensión en un líquido, en forma liofilizada o algunas veces desecados y mezclados con un polvo de caolita micronizada. (Bourgeois. 2007).

### **1.2.3 Bebidas alcohólicas elaboradas por procesos de fermentación.**

Las bebidas alcohólicas se producen a partir de diversas materias primas, pero especialmente a partir de cereales, frutas y productos azucarados. Entre ellas hay bebidas no destiladas, como la cerveza, el vino, la sidra y el sake y destiladas, como el whisky y el ron, que se obtienen a partir de cereales y melazas fermentadas, respectivamente, en tanto que el brandy se obtiene por destilación del vino. Otras bebidas destiladas, por ejemplo el vodka y la ginebra, se elaboran a partir de bebidas alcohólicas neutras obtenidas por destilación de melazas, cereales, patatas o lactosuero fermentados. Además también se obtienen una gran variedad de vinos de alta graduación mediante adición de alcohol destilado a los vinos normales con objeto de elevar su contenido alcohólico hasta el 15 o el 20 %; entre éstos se incluyen productos tan notables como el jerez, el oporto y el madeira, ( Owen, 2005).

#### **1.2.3.1. La Cerveza.**

La fabricación de la cerveza consiste, esencialmente en fermentar el jugo azucarado extraído de los cereales y aromatizado por el lúpulo. Las materias primas son la malta y otros cereales, lúpulo y agua. La malta es el producto de la transformación en maltería de cebada especialmente seleccionada. Esta transformación comprende

sucesivamente: una imbibición que rehidrata los granos, una fase de germinación controlada que causa la aparición de diversas enzimas, concretamente amilasas y proteasas y al final una desecación y una torrefacción (calentamiento breve) que estabilizan el grano de malta y su contenido enzimático, encargado de llevar a cabo a lo largo del malteado la hidrólisis en moléculas de sacarosa del almidón de la malta. Por razones económicas, se emplean a menudo también en sustitución parcial de la malta, «granos crudos», es decir, cereales no germinados tales como maíz, arroz, trigo, cebada, donde el almidón será hidrolizado por los enzimas de la malta hidrolizada simultáneamente, (Larpen, 2008).

El lúpulo tiene el papel de contribuir al aroma, concretamente aportando el amargor y también de inhibir a los contaminantes por sus propiedades antisépticas, se añade, bien como inflorescencias femeninas nativas denominadas «conos» o bien como polvos o concentrados. La composición del agua influye fuertemente en la calidad de la cerveza producida, sin duda actuando sobre los procesos de extracción, transformación enzimática y precipitación, pero hoy en día puede ser adaptada en función del tipo de cerveza deseada.

### **1.2.3.2 El vino**

El vino es una bebida alcohólica elaborada por fermentación del jugo, fresco o concentrado, de uvas. Su nombre proviene de la variedad '*Vitis Vinifera*' que es la variedad de uva de la que descienden la mayoría de las utilizadas para la elaboración de vinos y las primeras en ser utilizadas para ello (aunque existen algunas excepciones a este último dato).

Las características del vino las dan los factores que afectan a sus viñedos, a saber: región con clima, suelo y topología, más los cuidados que le den los productores que lo elaboran. Es sabido que una uva que crece en un determinado lugar y produce un determinado vino, llevada y cultivada en otro lugar, producirá un vino con características distintas.

Para la producción del vino, las uvas recién recogidas son prensadas para que liberen su mosto o jugo, que es rico en azúcares. Luego de esto, las levaduras transportadas por el aire o la adición de levaduras seleccionadas al mosto, provocan la fermentación de éste, resultando como principales productos de la fermentación el alcohol etílico y el dióxido de carbono. Este último, liberado en forma de gas.

La fermentación se interrumpe normalmente cuando, todos los azúcares fermentables han sido transformados en alcohol y dióxido de carbono o cuando la concentración del primero supera la tolerancia de las levaduras. Para ese momento, lo que era mosto, se ha transformado en vino. La graduación de los vinos varía entre un 7 y un 16% de alcohol por volumen, aunque la mayoría de los vinos embotellados oscilan entre 10 y 14 grados. Los vinos dulces tienen entre un 15 y 22% de alcohol por volumen. (Larpen, 2008).

### Clasificación

Sería poco eficiente clasificar a los vinos solamente en el lugar de origen. Una clasificación primaria es aquella que los divide como (1) Vinos Calmos o Naturales, (2) Vinos Fuertes o Fortificados y (3) Vinos Espumantes. Esta clasificación se basa en la técnica de producción llamada vinificación. (Drilleau, 2005).

#### Vinos Calmos o Naturales

Son aquellos que se hacen desde el mosto y que es fermentado en forma natural, o con algún aditivo en cantidades controladas como levaduras, azúcar o cantidades muy pequeñas de sulfuros. Estos vinos son de una graduación alcohólica que va desde el 10% al 15%, ya que se les detiene la fermentación alcanzando estos valores. Son los habitualmente conocidos como blancos, tintos y rosados.

#### Vinos Fortificados o Fuertes

Reciben alguna dosis de alcohol, usualmente un brandy de uvas, en alguna etapa de su vinificación. Las interferencias controladas tipifican la producción y características de los vinos fuertes resultando el Vermouth, Jerez, Marsala, Madeira y Oporto. El contenido alcohólico de estas variedades va desde los 16° a los 23° (grados por volumen).

### Vinos Espumantes

Son aquellos del tipo del Champagne, los cuales tienen dos fermentaciones. La primera que es la habitual del vino natural y una segunda que tiene lugar en la botella. Algunos vinos naturales tienen cierta efervescencia llamada pétillance, pero esta es muy suave y no es causada como resultado de interferencias en el proceso de fermentación.

Si se trata de vino espumoso, este se elabora según distintos métodos, siendo el más barato el de carbonatación forzada usando dióxido de carbono. Los de calidad son aquellos que no cuentan con aditivos y su segunda fermentación es alcanzada por añejamiento. En todos los casos los vinos espumantes presentan cierta sedimentación, donde los de calidad son de-sedimentados utilizando distintas técnicas que pueden incluir auxilios mecánicos y reapertura de las botellas, previo a su comercialización.

### Colores

#### Vinos Tintos

El color del vino proviene del color de la piel de la uva, donde el mosto es dejado en contacto con la piel de la uva hasta que se alcance un color deseado. Para hacer vino tinto, las uvas rojas se aplastan y el mosto pasa parte o la totalidad del periodo de fermentación y, en muchos casos, un periodo de maceración previo o posterior a la fermentación, en contacto con las pieles u hollejos. Toda la materia colorante,

además de múltiples compuestos saborizantes y taninos, se encuentran en los hollejos de las uvas y la fermentación y maceración se encargan de liberarlos. Esta liberación se intensifica a menudo por técnicas de activación mecánica (remontado), o batido (bazuqueado), durante estos periodos.

### Vinos Blancos

Los vinos blancos son aquellos producidos a partir de uvas verdes o blancas; o bien a partir de uvas negras aunque en estos casos nunca se deja al mosto en contacto con la piel de las uvas. El color obtenido en los vinos blancos es de tono verdoso o amarillento, característico de los vinos de esta variedad.

### Vinos Rosados

El rosado (rosé) es producido dejando el mosto en contacto por un tiempo breve con la piel de las uvas. Suele producirse utilizando uvas rojas que permanecen en contacto con los hollejos (piel de la uva) por breves períodos. Con menor frecuencia se produce mezclando vinos tintos y blancos. La última clasificación conocida para los vinos es la que los separa como dulces o secos. (Drilleau, 2005).

### **1.2.3.3 El Sake**

Sake es una palabra japonesa que significa "bebida alcohólica", sin embargo, en los países occidentales se refiere a un tipo de bebida alcohólica japonesa, preparada de una infusión hecha a partir del arroz y conocida en Japón como nihonshu ( "alcohol japonés"). En Occidente, el sake es comúnmente referido como "vino de arroz"; sin embargo, esta designación no es apropiada puesto que "vino" es exclusivamente la

bebida obtenida por fermentación alcohólica del mosto de la uva. La producción de bebidas alcohólicas por fermentación del grano es más común en la cerveza que en el vino. También existen otras bebidas conocidas como "vino de arroz" que son significativamente diferentes del nihonshu. Según la marca del producto puede alcanzar de 14 a 20 grados de alcohol.

Bioquímica del proceso:

La elaboración del sake consiste en una serie de pasos bien diferenciados, tanto por las condiciones en las que cada una se lleva a cabo, como por los microorganismos que participan en cada una de ellas. En la elaboración del koji, por ejemplo, prácticamente solo participa *Aspergillus oryzae*, mientras que en la del mosto se desarrolla una importante microflora, si bien los tres principales actores de esta etapa son *Aspergillus oryzae*, *Lactobacillus sakei*, *Leuconostoc mesenteroides var. sake* y *Saccharomyces sake*. Finalmente, en la etapa del moromi, *Aspergillus oryzae* y *Saccharomyces sake* son los principales microorganismos, tanto en número, como en importancia de cara a la elaboración de la bebida.

En esta, a parte de una concentración de entre 15 y 20% de etanol, los principales componentes responsables de su sabor característico son: ácido succínico (500 a 700 mg/L), ácido málico (200 a 400 mg/L), ácido cítrico (100 a 500 mg/L), ácido acético (50 a 200 mg/L), alcohol isoamílico (70 a 250 mg/L), n-propanol (120 mg/L), 2-fenil etanol (75 mg/L), isobutanol (65 mg/L), etilacetato (50 a 120 mg/L), etilcaproato (10 mg/L) e acetato de isoamilo (10 mg/L).

Estos metabolitos también pueden encontrarse en cervezas y la mayoría de vinos ya que provienen de la fermentación alcohólica. También hay que añadir a estos componentes el etileucinato, que es el que contribuye en mayor medida al aroma del Sake. No obstante, la concentración de todos estos compuestos en el Sake es significativamente mayor. No hay que olvidar la presencia de ácido láctico (0,3 a 0,5 mg/L) que es casi enteramente fruto de la actividad de las bacterias fermentadoras acidolácticas, presentes durante la etapa del mosto. También se detecta, aunque en concentraciones menores, una variedad de aminoácidos. La presencia de estos tiende a ser la mínima posible, ya que le dan al Sake un sabor desagradable.

Se han llevado a cabo gran cantidad de mejoras genéticas de las cepas de *Saccharomyces sake*, con tal de incrementar la presencia de algunos de estos metabolitos (como es el caso del fenil etanol, el isoamyl alcohol o el etilcaproato), al igual que reducir la de otros (aminoácidos, etilcarbamato, urea). También se han dado el caso de cepas diseñadas para mejorar la productividad, ya sea disminuyendo la formación de espuma, el incremento de tolerancia al etanol o la no proliferación de cepas productoras de toxinas (Drilleau, 2005).

#### **1.2.3.4 La Sidra**

La sidra natural es el producto elaborado siguiendo las prácticas tradicionales, a partir de variedades de manzana, sin adición de azúcares, que contiene gas carbónico de origen endógeno exclusivamente. Su graduación alcohólica adquirida es superior a 4,5 grados. Esta bebida tiene colores en distintas tonalidades de amarillo con

irisaciones pajizas, con un aspecto limpio, transparente y brillante. La sidra contiene atributos de gas que manifiestan aguante, empalme y pegue. Su aroma debe ser limpio y equilibrado, con notas varietales o frutales y sensación de acidez, a la vez que presente un sabor franco con equilibrio entre acidez y amargor, ligera o moderadamente astringente.(Drilleau,2005)

La composición del mosto se ve afectada por dos factores fundamentalmente: las características de la materia prima (variedades, estado de madurez, mezclas, condiciones higiénico-sanitarias de la manzana) y los sistemas de transformación de la manzana en mosto.

#### Prensado:

Operación que tiene por objeto extraer de la pulpa de la manzana el mosto, bajo la acción de presiones. Es la técnica más utilizada. Puede hacerse una primera clasificación en función de la duración del tiempo de prensado: prensado lento (tiempos de extracción de 2-4 días) utilizado profusamente en la elaboración de sidra natural y prensado rápido (tiempos de extracción de horas) ampliamente utilizado en la sidra gasificada y en la elaboración de zumo.

#### Difusión:

Consiste en una extracción sólido-líquido, en la cual los constituyentes de la manzana (fase sólida), son extraídos por agua (fase líquida) a temperatura elevada. La operación puede ser considerada como una ósmosis haciendo la pared celular de membrana, manteniendo todas las características del fruto.

Clarificación Prefermentativa:

La clarificación de los mostos como paso previo al proceso fermentativo, asume una importancia fundamental, con el fin de eliminar partículas dispersas o sustancias consideradas como indeseables, asimismo se consigue disminuir la tasa de microorganismos, regulando de esta forma la velocidad del proceso fermentativo, consiguiendo una menor pérdida en aromas y dióxido de carbono en la sidra.

Entre las técnicas propuestas para la clarificación prefermentativa se pueden citar:

- Desfangado estático (sedimentación-decantación)
- Desfangado dinámico (centrifugación)
- Flotación
- Defecación enzimática
- Clarificación convencional

Fermentación Alcohólica

Es conducida por las levaduras típicamente alcoholígenas (*Saccharomyces cerevisiae*). Consiste en la degradación de azúcares, vía glicolítica, comprendiendo todo un conjunto de reacciones, que permiten a las levaduras transformar las hexosas (glucosa, fructosa, y la sacarosa, previa hidrólisis a fructosa y glucosa) en ácido pirúvico, siendo éste descarboxilado en una etapa intermedia a acetaldehído, el cual es finalmente reducido a etanol con desprendimiento de dióxido de carbono.

No todos los azúcares fermentables van a seguir la ruta anteriormente descrita, sino que dependiendo del propio metabolismo de las levaduras y en las primeras fases de la fermentación alcohólica, un determinado número de moléculas de monosacáridos (5/10%) son degradadas mediante la fermentación glicero-pirúvica, en la que se forman como productos mayoritarios glicerina y ácido pirúvico.

A partir del ácido pirúvico se sintetizarán los denominados productos secundarios de la fermentación alcohólica, entre los que se pueden citar:

- Ácidos orgánicos: láctico, succínico, acético, ácidos grasos...
- Compuestos carboxílicos: acetoína, diacetilo, acetaldehído, 2-3 butanodiol.
- Alcoholes superiores: amílicos, isobutanol, tirosol, propanol, etc.
- Esteres de etilo: acetato de etilo y 2-fenil acetato de etilo.

Estos compuestos pueden conferir a la sidra gustos extraños, cuando se generan en cantidades anormales, así, el ácido succínico aporta un sabor salado y desagradable, el acético y su éster etílico son los responsables de la sensación de avinagramiento, los compuestos carbonílicos, como el acetaldehído y acetoína, dan gustos picantes, el diacetilo recuerda a los productos lácteos y los alcoholes amílicos, tantas veces buscados, pueden resultar demasiado fuertes, violentos y agresivos en concentraciones excesivas, recordando los sabores a "barniz" o "esmalte de uñas". La glicerina, componente apreciado por su contribución al "cuerpo" de la sidra y por sus características de suavidad y aterciopelado, se trueca en no deseado a concentraciones elevadas. (Bueno-Sánchez. 2004).

### Rellenos

En todo momento, los toneles que contienen el mosto o la sidra deberán estar perfectamente llenos de líquido, evitando en lo posible el contacto de la sidra el aire. En el transcurso de la fermentación tumultuosa, debido a la expulsión continua de espuma por la boca del tonel, se produce una gran evacuación de líquido, por lo tanto, los rellenos deberán hacerse al menos una vez al día; al final de esta fase, se pueden colocar tapones asépticos o hidráulicos, que impiden la entrada de oxígeno y permiten la salida de dióxido de carbono.

Durante la fermentación lenta, las pérdidas de sidra serán menores que en la fase tumultuosa, es aconsejable rellenar el tonel siempre que se precise, evitando de este modo alteraciones del proceso fermentativo por la microflora oxidativa. En las fases de conservación y maduración de la sidra, las mermas serán debidas a imbibición de las paredes del tonel, evaporación, extracciones para catas y muestreos; el relleno sistemático de los toneles evitará los riesgos de proliferación de levaduras oxidativas filmógenas y/o acetobacterias, que conducirían al crecimiento en la superficie libre de la sidra de velos indeseables y al picado acético (avinagramiento). Asimismo, durante la maduración de la sidra en el tonel es aconsejable tapar herméticamente la boca de éste, para minimizar las pérdidas de anhídrido carbónico.

La operación de rellenar los toneles, exige cuidado y limpieza; hay que prestar atención a la naturaleza del líquido de reposición, el cuál deberá ser de buena calidad y exento de alteraciones sensoriales o microbianas. Un mal caldo de reposición puede alterar seriamente las características organolépticas de las sidras o ser una fuente potencial de contaminación (Bueno-Sánchez, 2003).

Trasiegos:

Durante la fermentación, se depositan en el fondo de los toneles compuestos insolubles que se encuentran en suspensión y microorganismos (fundamentalmente levaduras), constituyendo depósitos fangosos que se denominan "borras". La operación que tiene por objeto separar la sidra clara y limpia de sus borras, se conoce con el nombre de trasiego. Los trasiegos cumplen diversos fines:

- Proporcionar una mayor estabilidad biológica a la sidra: Dado que las borras son núcleos de microorganismos y factores de crecimiento de éstos, su separación disminuirá la actividad microbiana en la sidra trasegada. Del mismo modo, se evitará que por causas ambientales (temperaturas elevadas), los microorganismos atrapados en las borras recobren su actividad provocando alteraciones en la sidra.

-Evitar enturbiamientos, gustos y olores extraños: Que se pueden producir como consecuencia de un prolongado contacto de la sidra con las borras y de una eventual diseminación de éstas, debido a corrientes de convección (ocasionadas por cambios atmosféricos) o a trepidaciones del suelo de la bodega.

-Proporcionar uniformidad a la bodega: Mediante mezcla de sidras de distintos toneles.

Los trasiegos se realizarán en días fríos y con altas presiones atmosféricas, para reducir en lo posible, las pérdidas en anhídrido carbónico y favorecer las condiciones para que las borras estén depositadas en los fondos de los toneles. Los Lagareros Asturianos aprovechan los meses de Enero-Febrero, para realizar el trasiego (haciéndolo coincidir con el menguante de la luna), pues en esta época, las condiciones climáticas son idóneas.

Al realizar los trasiegos, es conveniente no airear en exceso la sidra, evitando de éste modo aumentos en la acidez volátil y oxidaciones innecesarias. Las trasegadoras que menos "machacan" la sidra son las de pistón o desplazamiento directo, las menos aconsejables las centrífugas. Con ocasión del trasiego se procederá de forma sistemática al control, revisión y limpieza de la tonelería y de las mangueras y máquinas trasegadoras. También, es un buen momento para hacer posibles correcciones en la sidra (acidez y tanino) y adicionar o reajustar el contenido en anhídrido sulfuroso si fuera necesario (Bueno-Sánchez. 2004)

### Embotellado

Una vez que la sidra alcance una densidad de 1000g/l, haya realizado la transformación maloláctica y experimente un período de maduración, estará lista para su embotellado. Como operación previa al embotellado se puede realizar el "Coupage", que consiste en mezclar dos o más sidras con el objeto de lograr unas características sensoriales adecuadas. Al embotellar la sidra, se pretende estabilizar el producto y mantenerlo de forma duradera. La secuencia del embotellado será:

-Lavado.

-Llenado.

-Taponado.

-Etiquetado (Bueno-Sánchez, 1992). La elaboración de sidra sigue el

diagrama de flujo presentado a continuación:

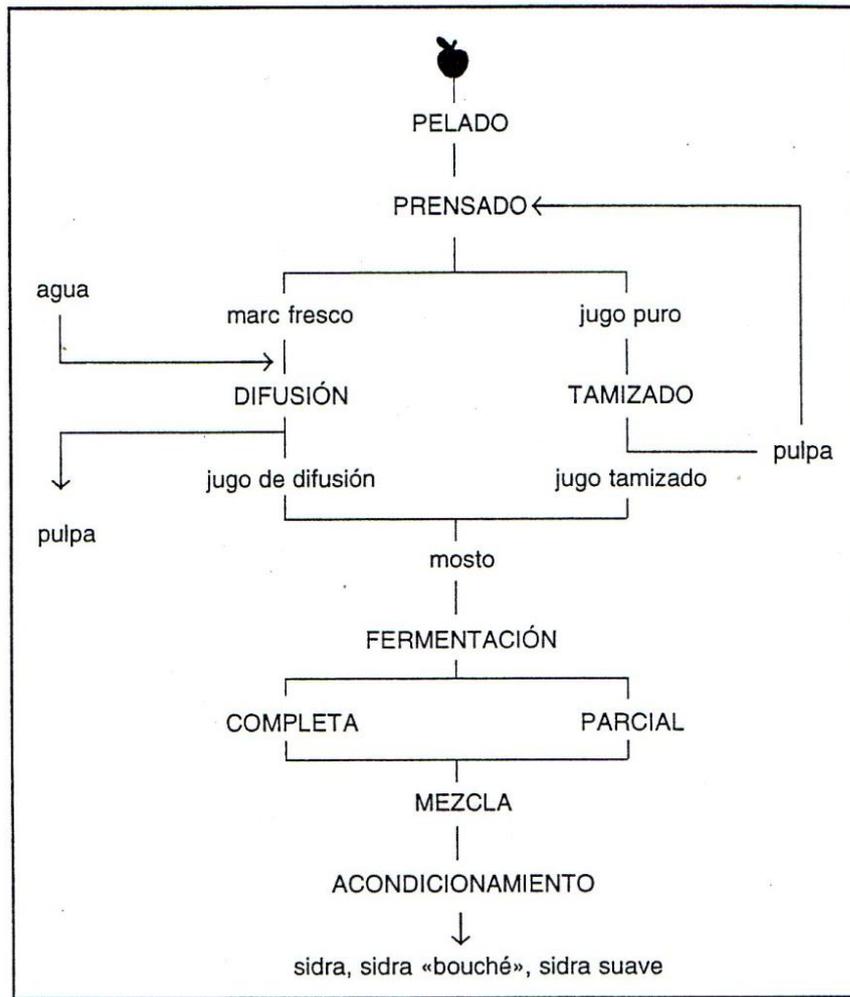


Figura 1.1 Esquema simplificado de la elaboración de sidra (Bourgeois, 2005).

### **1.3 Diseño experimental como estrategia para la optimización del procesamiento de alimentos**

El diseño experimental y optimización de procesos son herramientas usadas para examinar sistemáticamente diferentes tipos de problemas que surgen en la investigación, desarrollo y producción. Resulta obvio que si los experimentos son desarrollados aleatoriamente el resultado también será aleatorio. Por tanto, es necesario planificar los experimentos con el fin de conseguir la mayor y mejor información posible (Lunstedt et al., 2008).

El término diseño experimental se utiliza habitualmente para describir las etapas de:

1. Identificación de los factores que pueden influir en el resultado de un experimento
2. Diseño del experimento de modo que se minimicen los efectos de los factores incontrolados.
3. Utilización del análisis estadístico para separar y evaluar los efectos de los diversos factores implicados (Miller y Miller, 2002).

En cualquier procedimiento experimental, ciertas variables pueden influenciar el resultado. Un experimento de screening es desarrollado para determinar las variables experimentales e interacciones que tienen influencia significativa en el resultado, medido en una o varias respuestas. En un diseño factorial, las influencias de todas las variables experimentales, factores e interacciones en la respuesta o respuesta son investigadas. Si la combinación de  $k$  factores es investigada a dos niveles, un diseño factorial consiste en  $2^k$  experimentos. Los niveles de los factores se establecen como mínimos y máximos. No obstante, en la mayoría de las investigaciones es razonable

asumir que la influencia de las interacciones de tercer orden o mayores es relativamente pequeña o despreciable y que pueden excluirse del diseño experimental. Para obtener la información referente a la influencia de las variables principales e interacciones seleccionadas, una fracción de los diseños factoriales completos puede ser aplicada. En un diseño factorial fraccionario a dos niveles;  $2^{k-p}$  experimentos pueden ser desarrollados, donde  $k$  es el número de las variables y  $p$  es el tamaño de la fracción. El tamaño de la fracción influenciará el número posible de efectos a estimar y evidentemente, el número de experimentos necesarios en la investigación (Lunstedt *et al.*,2008).

## CAPÍTULO 2

### PROCEDIMIENTO DE EVALUACIÓN

#### 2.1 Obtención de materia prima

Para la elaboración de sidra se utilizaron como sustratos tres variedades de manzana: Flor de Mayo, Golden Delicious y Anna, cultivadas en la provincia del Azuay, en las zonas de Paute, San Bartolomé, Oña y Sigsig. Fue utilizada como inóculo para la fermentación, la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, LEVAPAN, en presentación liofilizada en sobres de 7 gramos, que se emplea para la panificación, adquirida en las despensas de la ciudad de Cuenca.

#### 2.2 Aspectos técnicos y metodológicos

##### 2.2.1 Recolección de la materia prima:

Las especies de manzanas necesarias para este estudio fueron recolectadas en la Provincia del Azuay. Se visitaron las zonas de la provincia en donde se encuentran las áreas de cultivo de las variedades incluidas en el estudio y de superficie considerable. Las coordenadas de los puntos de recolección de materia prima fueron determinadas mediante sistema de posicionamiento global (GPS), mediante un dispositivo Etdrex.garmin. Se registraron imágenes de las zonas de recolección con una cámara Nikon 3100, para determinar la ubicación de las zonas de cultivo, en los mapas aterrizados. El Consejo de Gestión de Aguas de la Cuenca del Río Paute facilitó los mapas de la zona, los cuales fueron procesados con el programa Arcgis 9.3, necesario para la ubicación de las coordenadas en los mismos.

### 2.2.2 Clasificación de las variedades

Las variedades de manzana utilizadas fueron clasificadas botánicamente, por género y especie. Esta actividad se la realizó con la asesoría del personal de Laboratorio Botánico de la Universidad del Azuay, determinando las variedades Anna, Flor de Mayo y Golden Delicious, especies nativas de la provincia del Azuay.

### 2.2.3 Estandarización de la materia prima

El ensayo de determinación del índice de madurez fue estandarizado en los laboratorios de Bioquímica de la Universidad del Azuay. Esta técnica de análisis físico-químico se determinó con el estándar de variedades sidreras, para luego ser aplicada en los especímenes de trabajo, para esta caracterización se realizaron los análisis de laboratorio correspondientes a: acidez total, determinación de sólidos solubles y pH. La acidez total se determinó por titulación. Se utilizaron 25 mL de jugo y se tituló con hidróxido de sodio 0,1N y gotas de fenolftaleína como indicador. La acidez total fue expresada en porcentaje peso/volumen, por medio de la fórmula.

$$\%AcMal = \frac{VNaOH \cdot NNaOH \cdot meqacd}{Vm} \cdot 100$$

Donde:

%AcMal:	Acidez en porcentaje
VNaOH:	volumen que se gastó en mL de NaOH
NNaOH:	normalidad del titulante
Meqacd:	factor del ácido málico
Vm:	volumen de la muestra

La determinación del contenido de sólidos solubles en las muestras, se realizó por lectura directa, al colocar en un refractómetro electrónico, una gota de la muestra a 20° centígrados, con un rango de medición de 0 a 50 grados Brix. Se determinó el pH de las muestras con pH-metro, a una temperatura ambiental de 20° aproximadamente.

#### **2.2.4 Diseño experimental para establecer los parámetros óptimos para la elaboración de sidra de manzana.**

Con el fin de establecer los parámetros óptimos de elaboración de sidra a partir de variedades locales de manzana, se desarrolló un diseño experimental  $2^3$  con tres repeticiones. Se realizaron dieciséis experimentos por cada variedad de manzana. Las variables a evaluadas fueron:

Concentración de inóculo

Tiempo

Temperatura

Para la variable de concentración de inóculo se escogieron concentraciones de 1 y 2.5 gramos de inóculo por litro de mosto, para el cual se trabajó con tres variedades seleccionadas. Se estableció el mejor tratamiento mediante comparación del tiempo de fermentación, con parámetros organolépticos como color y aroma de las muestras, así como el grado alcohólico final, determinado mediante el método volumétrico oficial.

Mediante un diseño factorial completo, según el esquema que se presenta a continuación, se elaboraron sidras, siguiendo el procedimiento tradicional, con cada una de las variedades de estudio, para de esta forma obtener los parámetros óptimos para la elaboración de sidra. Las variables respuestas a obtenerse fueron el grado alcohólico y el contenido de azúcares reductores. Los niveles, mínimo y máximo de las variables se establecieron con una exploración previa (Lundstedt, et al., 1998).

Experimento No	Variables			Respuestas	
	Conc. Inóculo	Tiempo	Temperatura	Grado alcohólico	Azúcares Reductores
1	-	-	-		
2	+	-	-		
3	-	+	-		
4	+	+	-		
5	-	-	+		
6	+	-	+		
7	-	+	+		
8	+	+	+		

Tabla 2.1. Esquema de diseño factorial completo  $2^3$

### 2.2.5 Determinación de los parámetros óptimos de elaboración en el proceso fermentativo

Para la determinación de los parámetros óptimos de elaboración en el proceso fermentativo, se utilizaron como sustratos los jugos de las variedades Anna, Flor de Mayo y Golden Delicious, sin adición de agua ni azúcar. Los sustratos se mantuvieron a temperatura de refrigeración de 4° centígrados, en botellas plásticas herméticamente cerradas, durante 24 horas. Se utilizó la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, que fue adquirida en presentación de sobres de 7 gramos, liofilizada y granulada; la levadura se almacenó en lugar fresco y seco en el laboratorio.

### 2.2.6 Proceso de fermentación alcohólica

El sustrato utilizado, fue previamente filtrado, luego se tomó el volumen exacto de la muestra y se colocó en erlenmeyers de 500 mL de capacidad, de vidrio refractario, marca Pyrex y llevados a 30° centígrados para la activación de las levaduras. La levadura *Saccharomyces cerevisiae*, que se utilizó como inóculo en el proceso fermentativo, fue pesada en una balanza analítica, en las proporciones de 1 y 2.5 g/L, para que esta se active, permaneció a 30° centígrados durante 10 minutos y luego colocada en el baño termostático a la temperatura deseada y una velocidad de agitación de 100 revoluciones por minuto, para que inicie la fermentación. La elaboración de sidra sigue el diagrama de flujo presentado a continuación:

## - Diagrama de Flujo

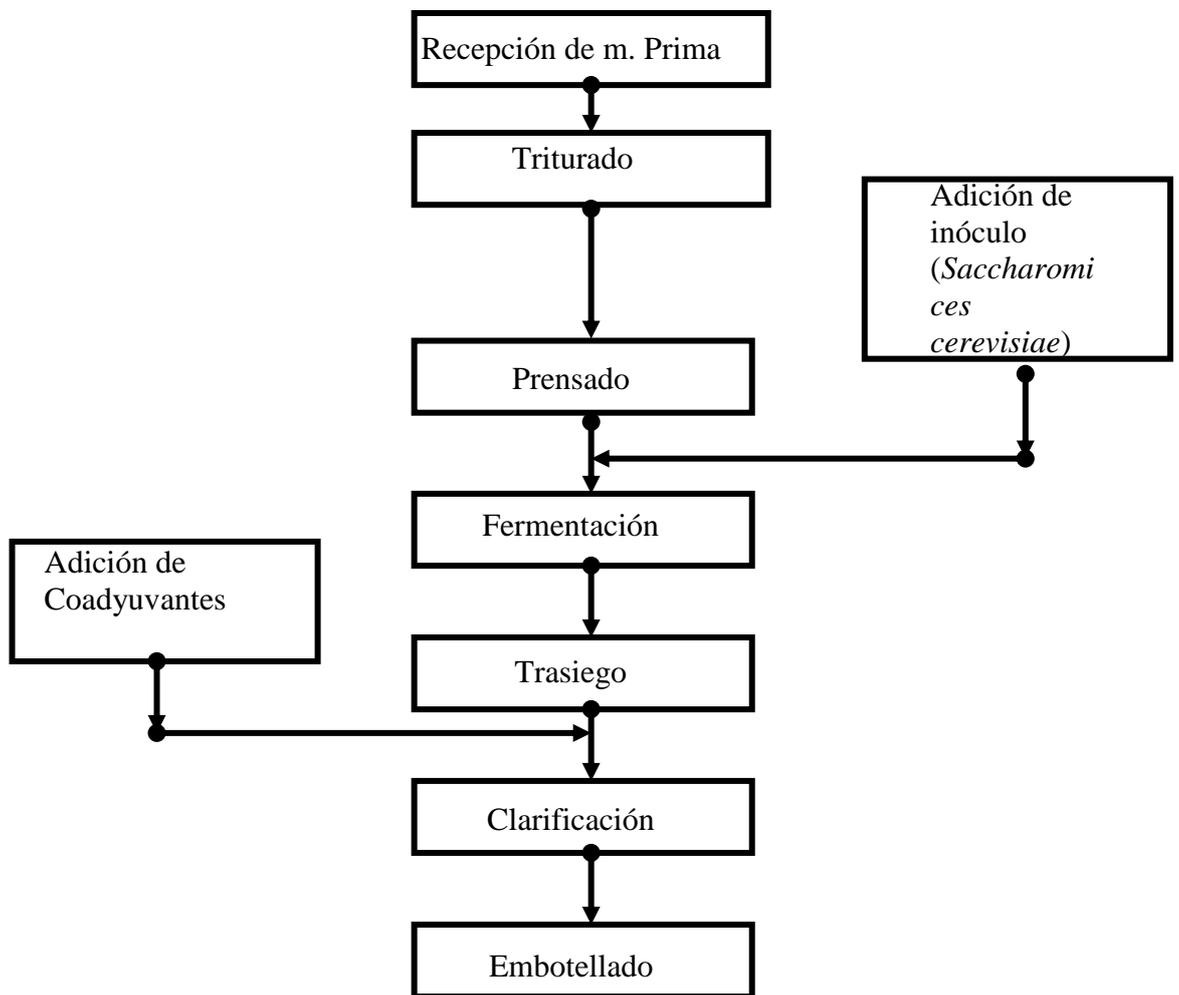


Figura 2.2 Diagrama de Flujo utilizado para la elaboración de sidra de manzana

**2.2.7 Determinación de azúcares reductores.**

Se determinaron los azúcares reductores de las diferentes muestras según el método Fehling. Para la determinación de azúcares reductores mediante el método de licor de Fehling, no fue necesario realizar diluciones de cada muestra, ya que eran lo suficientemente transparentes, para no interferir en la visualización de cambio de color en el proceso.

En un matraz se colocaron 5mL de solución A (cúprica), 5 ml de solución B (sódica) y 25 ml de agua destilada. Esta mezcla se calentó en una plancha agitadora, hasta ebullición y se utilizó azul de metileno como indicador en la titulación. Se colocó la muestra en una bureta de 25 ml, luego se transmitió el contenido, paulatinamente sobre la solución de Fehling, hasta obtener un líquido transparente con un precipitado pardo rojizo, indicativo del final de la titulación. La cantidad de azúcares reductores fue expresada como porcentaje peso/peso, con las fórmulas.

#### **Cálculo del Factor de Fehling:**

100cc sol. Glucosa	0.5g glucosa
10cc	X=

$$AR = \frac{X \cdot Vm}{V}$$

Donde:

AR: azúcares reductores en gramos/Litro

X: factor de titulación

Vm: volumen de la muestra

V: volumen de muestra gastado

#### **2.2.8 Determinación de grado alcohólico**

El grado alcohólico que presentaron las muestras al final del proceso fermentativo, fue determinado por método volumétrico. Este método permite identificar el número de litros de etanol contenidos en 100 litros de sidra, es decir, es un indicativo del porcentaje en volumen y su símbolo es % vol.

El mosto fermentado y trasegado fue llevado a temperatura de 20° centígrados y colocados en una probeta de 100 mL, posteriormente con un alcoholímetro se determinó el grado alcohólico aparente y la temperatura, con cada una de las muestras realizadas.

### **2.2.9 Evaluación del producto terminado por análisis sensorial**

Para determinar la aceptabilidad del producto terminado, obtenido mediante proceso de fermentación alcohólica de las variedades de manzana, se utilizaron fichas de análisis sensorial. Las sidras preparadas y que presentaron los mejores atributos de apariencia, aspecto y características organolépticas, mediante el proceso, fueron sometidas a un análisis sensorial por medio de encuestas de aceptación, con un formato elaborado de acuerdo a las condiciones óptimas del producto.

Se presentaron las muestras en copas de 25 mL, a una temperatura ambiente promedio de 17° centígrados; ante un panel de catadores no entrenados, correspondientes a potenciales consumidores del producto, es decir, mujeres y hombres mayores de 21 años de edad de la ciudad de Cuenca. Los individuos fueron separados entre sí, en un área limpia, con iluminación natural, buena ventilación, para impedir acumulación de olores que interfieran en el proceso de degustación y libre de ruidos que puedan distraer a los panelistas. Los resultados obtenidos de las evaluaciones, fueron interpretados por técnicas de estadística descriptiva, con el fin de analizar el nivel de aceptación del producto final.

## CAPÍTULO 3

### RESULTADOS

#### 3.1 Resultados

##### 3.1.1 Parámetros de elaboración de sidra de manzana establecidos mediante Diseño Experimental.

Previo a la preparación de sidra de manzana, fue necesario realizar la caracterización físico-química de las materias primas, para establecer los parámetros de elaboración de esta bebida fermentada. Los resultados de la caracterización físico-química, del jugo de manzana se presentan en el siguiente cuadro.

Característica	Variedad			Variedad Sidrera
	Anna	Golden Delicious	Flor de Mayo	
Índice de Madurez	25.4	31.36	29.3	32
Sólidos Solubles °Brix	12.65	13.6	14.3	12 – 14
pH	4,2	3.4	3.8	3 – 4
Acidez Total g ácido málico/100mL	0,57	0,42	0,49	0,2 - 0,6

Tabla 3.1. Características físico-química de las variedades seleccionadas.

### 3.2 Formulación de sidra de manzana a partir de los parámetros establecidos por diseño experimental.

Para determinar el proceso óptimo de elaboración de sidra de manzana, se efectuó un diseño experimental, aplicado a cada una de las variedades seleccionadas. Los resultados de este procedimiento, se presentan en el cuadro siguiente, que muestra las variables de experimentación y las variables respuesta, para de esta forma, establecer los parámetros óptimos para este proceso fermentativo.

Exp.	Variables			Respuesta experimental por variedad					
				ANNA		GOLDEN		FLOR DE MAYO	
	Conc. Inóculo	Tiempo	Temperatura	Grado Alcohólico °GL	Azúcares Reductores g/l	Grado Alcohólico °GL	Azúcares Reductores g/l	Grado Alcohólico	Azúcares Reductores
1	1%	80h	10°C	3	55,6	3.5	49	4,7	33,87
2	2.5%	80h	10°C	4	51,6	4.5	43	5,2	32,41
3	1%	120h	10°C	3	50,47	4	35,8	4,2	53,03
4	2.5%	120h	10°C	3	45,34	4.2	34,4	4,8	39,18
5	1%	80h	15°C	4	44,6	5	36,4	4,5	55
6	2,5%	80h	15°C	3	50	7	35,3	5	36,321
7	1%	120h	15°C	4	46,8	7	53,13	5	50
8	2,5%	120h	15°C	5	40,8	8	50,8	4	42,777

Tabla 3.2. Variables de experimentación y Respuesta Experimental por Variedad.

### 3.3 Obtención de modelos polinomiales para evaluar la influencia de las variables en las respuestas experimentales.

Para evaluar la influencia de las variables experimentales en el proceso de elaboración de sidra, fue necesaria la obtención de modelos polinomiales, para determinar el proceso óptimo para cada una de las variedades en estudio, mediante la relación con las variables respuesta. El cuadro a continuación, muestra los modelos polinomiales obtenidos.

Variedad	Respuesta Experimental	Modelo polinomial
ANNA	% Alcohol	$3,625 + C + 0,125T + 0,125T^{\circ} + 0,125 CT - 0,125 CT^{\circ} + 0,375 TT^{\circ} + 0,375 CTT^{\circ}$
	A.R. g/L	$48,15125 - 1,21625C - 2,29875T - 2,60125T^{\circ} - 1,56625CT + 1,06625CT^{\circ} + 0,54875TT^{\circ} - 1,28375 CTT^{\circ}$
GOLDEN	% Alcohol	$3,875 - 0,125C + 0,875T + 2,875T^{\circ} - 0,625CT + 0,875CT^{\circ} - 0,125TT^{\circ} + 0,375CTT^{\circ}$
	A.R. g/L	$42,22875 - 1,35375C + 1,30375T + 1,67875T^{\circ} + 0,42125CT + 0,49625CT^{\circ} + 6,75375TT^{\circ} - 0,72875CTT^{\circ}$
FLOR DE MAYO	% Alcohol	$4,675 - 0,05C - 0,175T - 0,05T^{\circ} - 0,8CT + 0,875CT^{\circ} - 0,075TT^{\circ} - 0,2CTT^{\circ}$
	A.R. g/L	$42,8235 - 6,50525C + 3,42325T + 3,201T^{\circ} - 0,11675CT - 1,324CT^{\circ} - 3,05925TT^{\circ} + 2,252CTT^{\circ}$

C= Concentración de Inóculo

T= Tiempo de Fermentación

T°= Temperatura

Tabla 3.3. Modelos polinomiales para evaluar la influencia de las variables en las respuestas experimentales.

### 3.4 Características organolépticas del producto terminado y aceptabilidad.

Las sidras elaboradas, mediante el procedimiento óptimo, determinado por diseño experimental, fueron sometidas a un análisis sensorial por medio de encuestas de aceptación, con un formato elaborado de acuerdo a las condiciones óptimas del producto y por paneles de catadores no entrenados, para de esta forma, establecer la aceptabilidad del producto terminado, obtenido mediante proceso de fermentación alcohólica de las variedades de manzana en estudio. Para este propósito se tomó una muestra de 100 personas, con el fin de que evalúen las características organolépticas de cada una de las sidras elaboradas. Los datos obtenidos fueron analizados, tabulados y graficados, para así lograr establecer la aceptación real del producto y la idoneidad del proceso tecnológico, como se muestra a continuación.

#### 3.4.1 Gráficos de características organolépticas variedad Anna

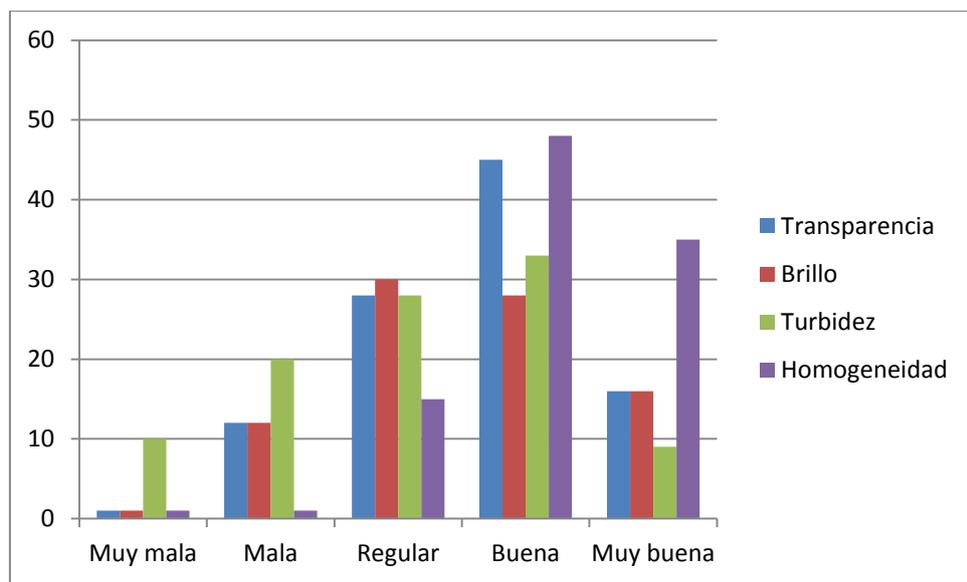


Figura 3.1 Apariencia variedad Anna

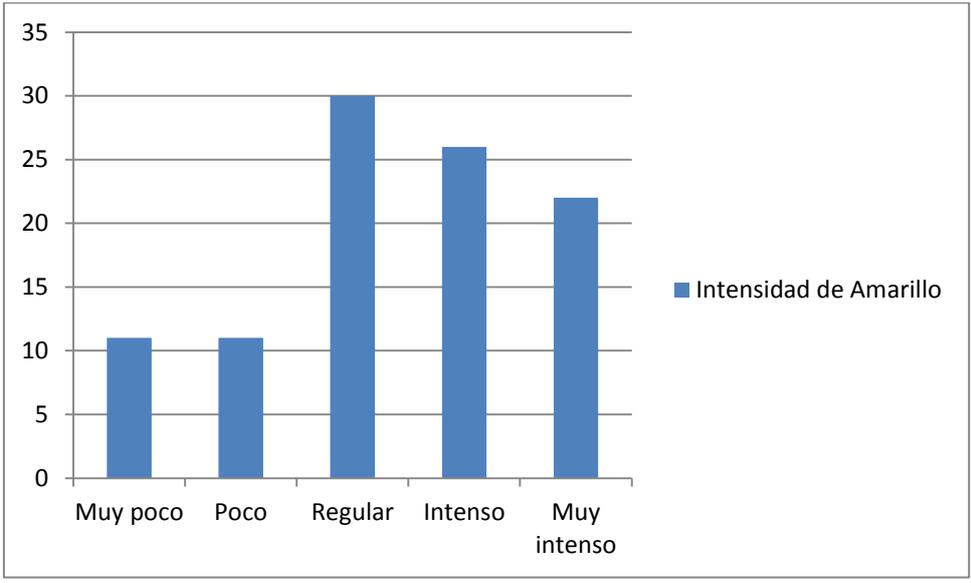


Figura 3.2 Color Variedad Anna

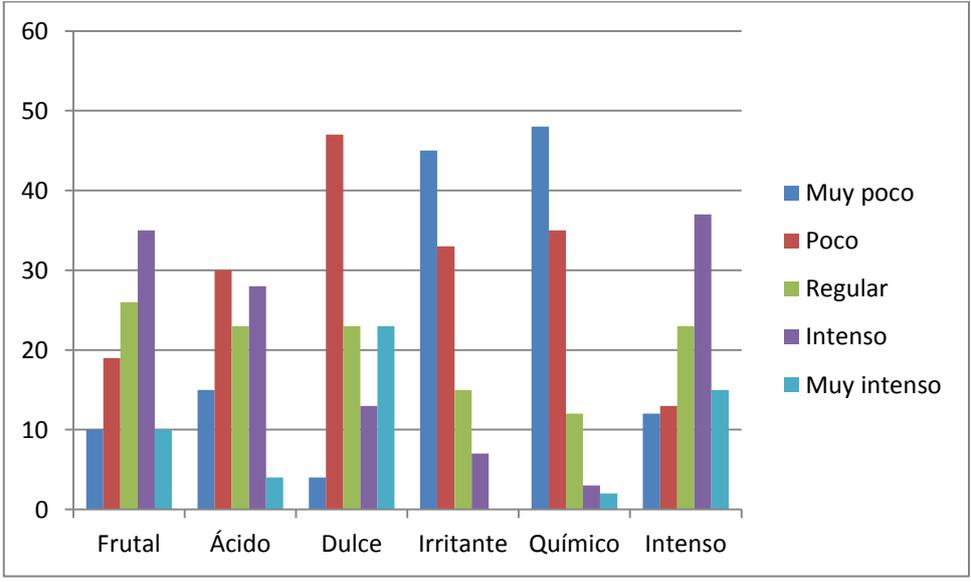


Figura 3.3 Olor Variedad Anna

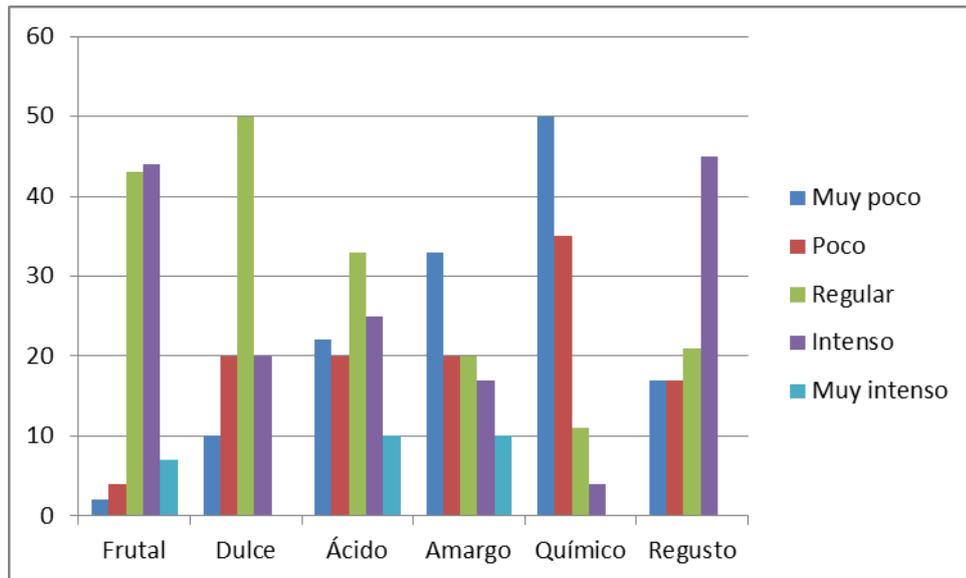


Figura 3.4 Sabor Variedad Anna

### 3.4.2 Gráficos de características organolépticas variedad Flor de Mayo

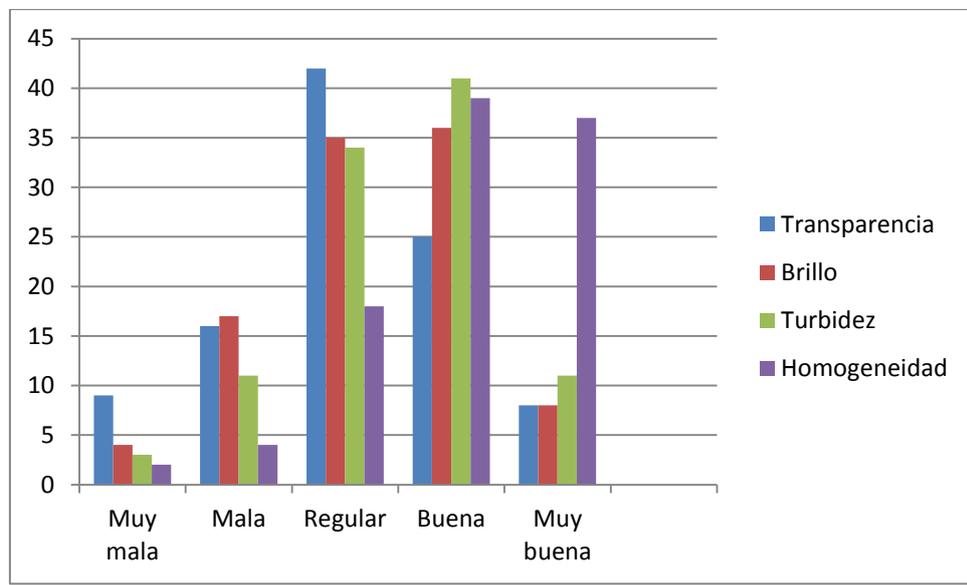


Figura 3.5 Apariencia variedad Flor de Mayo

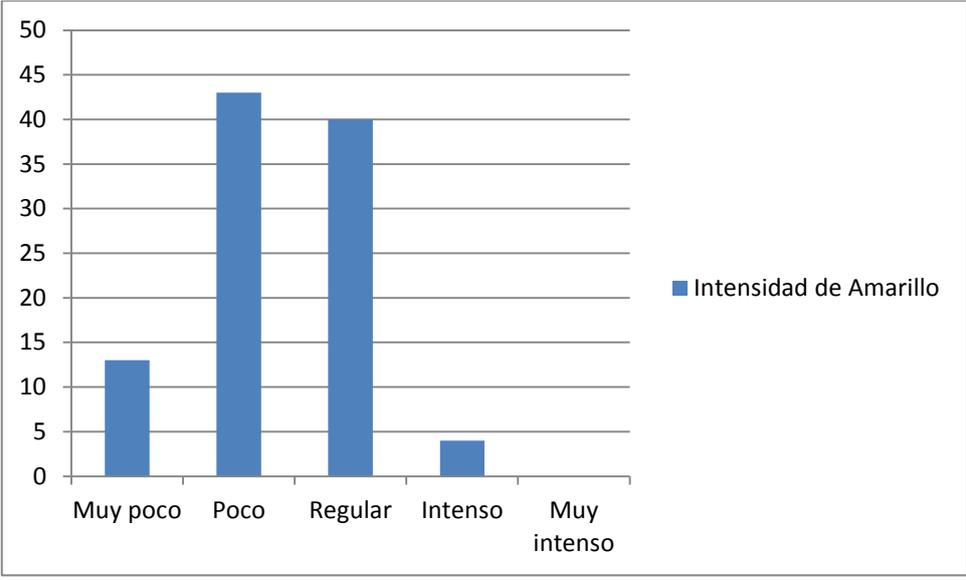


Figura 3.6 Color Variedad Flor de Mayo

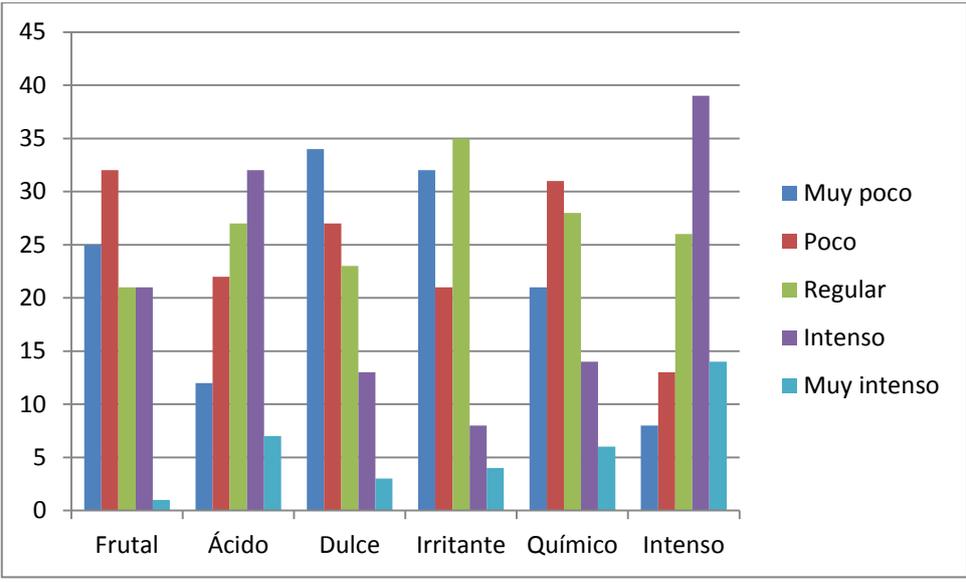


Figura 3.7 Olor Variedad Flor de Mayo

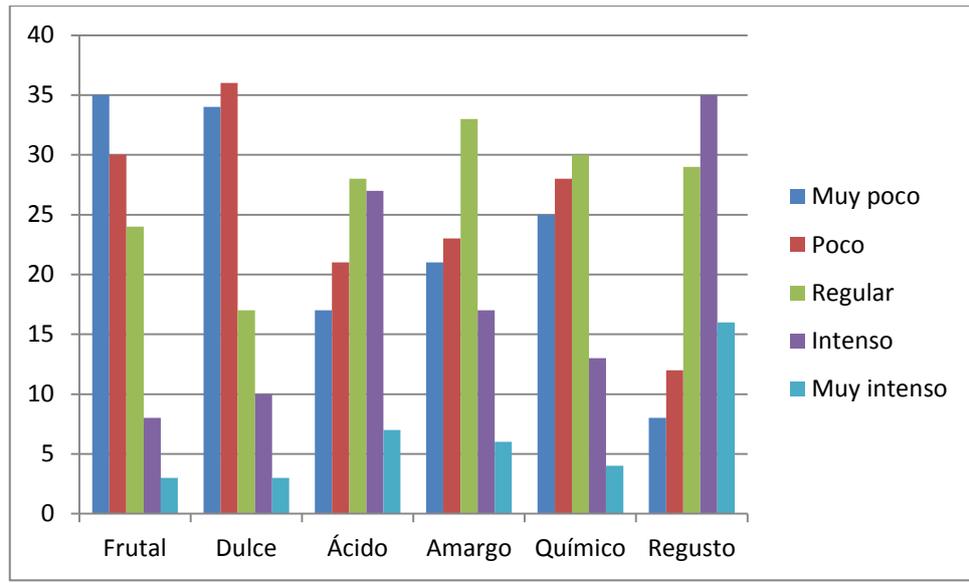


Figura 3.8 Sabor Variedad Flor de Mayo

**3.4.3 Gráficos de características organolépticas variedad Golden Delicious.**

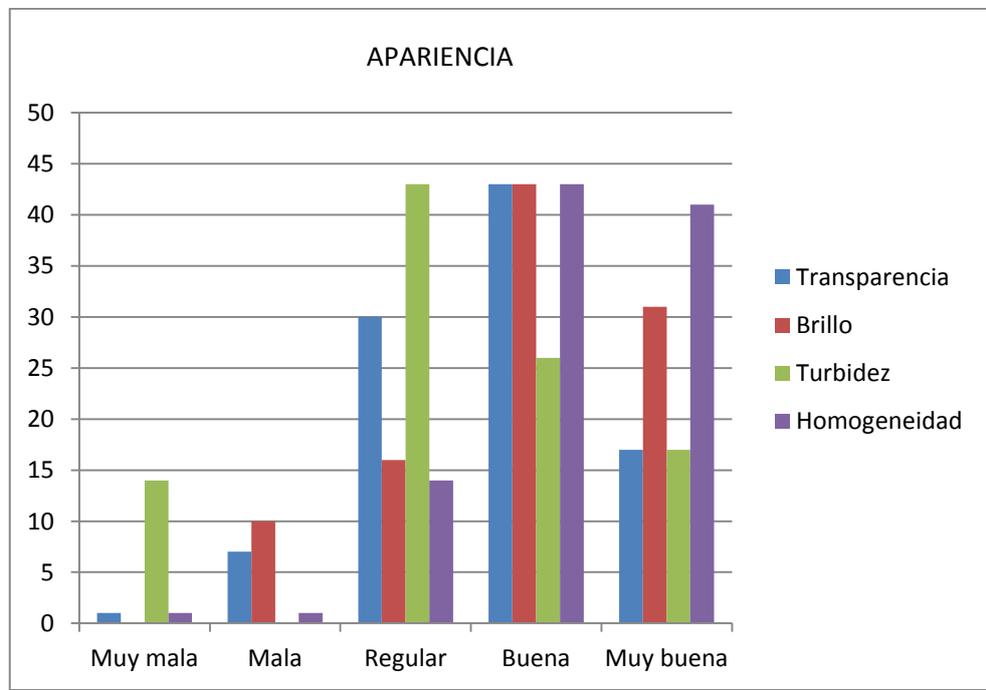


Figura 3.9 Apariencia variedad Golden Delicious

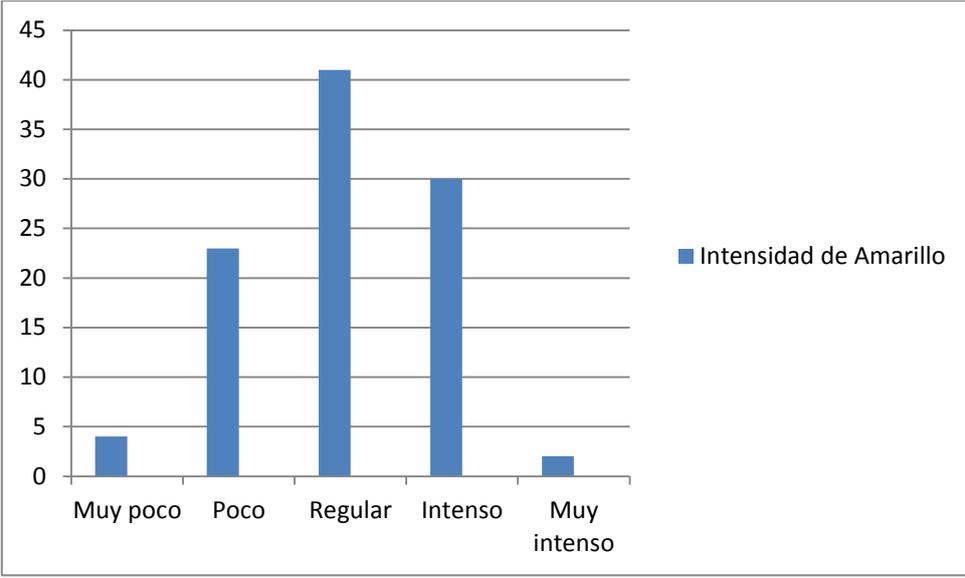


Figura 3.10 Color Variedad Golden Delicious

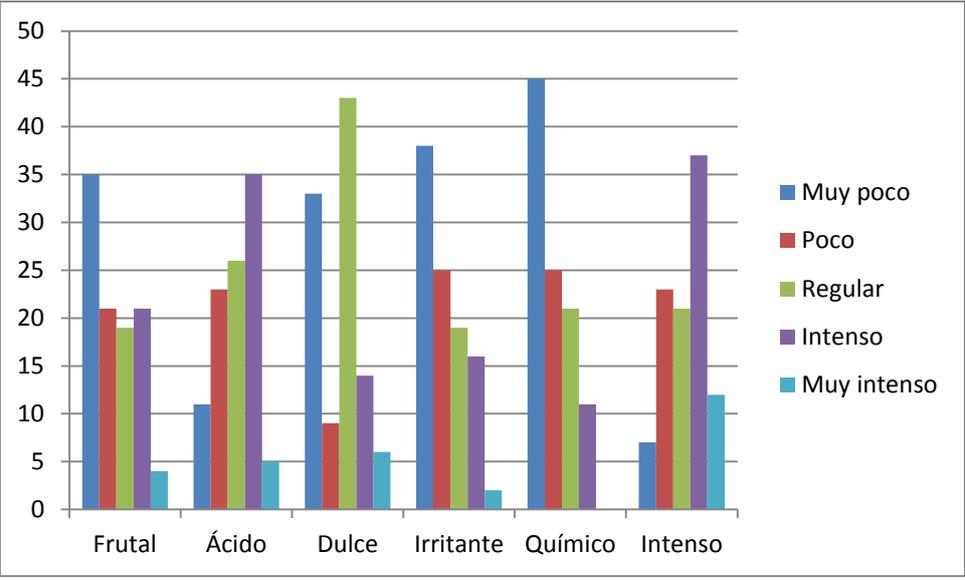


Figura 3.11 Olor Variedad Golden Delicious

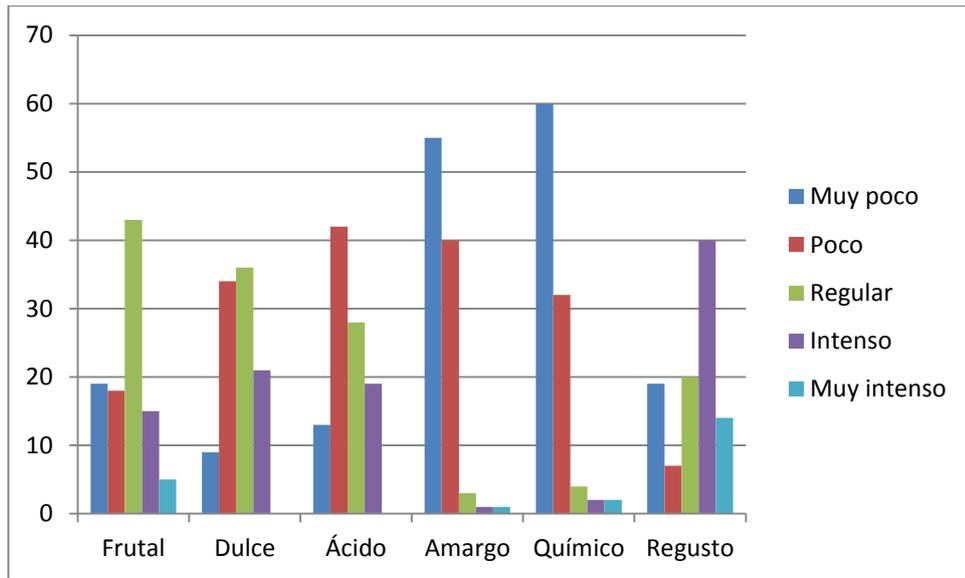


Figura 3.12 Sabor Variedad Golden Delicious

## CAPÍTULO 4

### DISCUSIÓN

#### **4.1 Parámetros de elaboración de sidra de manzana establecidos mediante Diseño Experimental.**

Los resultados obtenidos permiten establecer un índice de madurez similar entre las variedades de manzana utilizadas. La manzana es una fruta climatérica, es decir, que continúa su proceso de maduración una vez que ha sido cosechada. Los frutos de las variedades de estudio fueron cosechados en estado de madurez apropiado, para aprovechar la mayor cantidad de azúcares posibles y el contenido de ácido málico conveniente. Esto fue debido a que la relación entre estos dos parámetros, constituye un indicador de la idoneidad de los frutos para el proceso, por lo que, se almacenaron a temperatura ambiente y no hubo cambios significativos en sus características y composición.

En cuanto al contenido de sólidos solubles, se puede observar que su presencia en las muestras es bastante considerable, lo que permite estimar que los azúcares totales presentes, se encuentran en concentración aceptable. Los azúcares constituyen más del 90% de la materia soluble en el jugo de manzana, representando el principal parámetro de referencia del avance en el proceso fermentativo.

Se puede observar también, que el pH de las muestras es bastante bajo. Un pH ácido, permite el trabajo de las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y a su vez, protege al sustrato contra posibles ataques microbianos. La acidez total, expresada en gramos de ácido málico por 100mL de sustrato de las muestras analizadas, tiene valores cercanos a los de las variedades sidreras de referencia, lo que indica que las tres variedades utilizadas en esta experimentación, presentan un alto grado de idoneidad para ser utilizadas en la elaboración de esta bebida fermentada.

#### **4.2 Formulación de sidra de manzana a partir de los parámetros establecidos por diseño experimental.**

Como puede apreciarse, en la mayoría de los experimentos el grado alcohólico se ve influenciado de manera importante con la concentración de inóculo, al igual que el contenido de azúcares reductores, ya que la variación en su proporción hace que la presencia de estos atributos sea distinta, afectando de esta forma a la calidad del producto elaborado. Se fermentaron 500mL de sustrato para cada experimento y se tomaron 100mL aproximadamente para realizar la determinación del grado alcohólico. Además, con la concentración más alta de inóculo, la mayoría de las muestras presentaron ciertos aromas y sabores no tan agradables, así mismo, como mayor turbidez, al tiempo que los experimentos mostraron una significativa disminución en el contenido de azúcares reductores.

### 4.3 Modelos polinomiales

El análisis de los modelos polinomiales, obtenidos con estrategias de diseño de experimentos, permite establecer los factores que influyen mayoritariamente la respuesta experimental y su relación con las especies en estudio. En la variedad Anna, la concentración de inóculo es el factor que influye mayoritariamente el porcentaje de alcohol y la concentración de azúcares reductores del producto obtenido. La combinación de los factores concentración de inóculo y temperatura disminuye la concentración de alcohol. Una influencia opuesta se observa para la concentración de azúcares reductores, donde la combinación de estos factores ejerce un efecto sinérgico y potencia la respuesta experimental.

Se puede observar, en la variedad Golden Delicious, que las variables concentración de inóculo y temperatura en combinación, ejercen un efecto predominante para las respuestas grado alcohólico y concentración de azúcares reductores, debido a que su variación en el proceso de elaboración, incide de manera directa en la concentración de las mismas en el producto obtenido, afectando así, la calidad del mismo. La deducción más importante que se pudo constatar en este modelo, fue que la variable concentración de inóculo, es la que influye en mayor grado a las variables respuesta de la sidra elaborada con esta variedad.

El modelo polinomial de la variedad Flor de Mayo presenta resultados similares, ya que de igual manera, muestra a la variable concentración de inóculo como el factor preponderante o de mayor influencia, en la concentración de las variables respuesta porcentaje de alcohol y concentración de azúcares reductores, del producto resultante, incidiendo también, su analogía con la variable temperatura, de manera

directa con el grado alcohólico y de manera inversa con la respuesta concentración de azúcares reductores, afectando de esta forma, a la calidad de estos atributos en la bebida final obtenida. En general, la variable concentración de inóculo resulta ser la de mayor relevancia en el proceso de elaboración de sidra de manzana para todas las variedades incluidas en este estudio. La variable tiempo no influye mayoritariamente en el proceso, para las tres variedades de manzana en estudio.

#### **4.4 Características organolépticas del producto terminado y aceptabilidad.**

Para evaluar la aceptación del producto ante los consumidores, se desarrollaron encuestas para medir las preferencias del consumidor, la cual resulta como consecuencia indirecta de la medida de la reacción humana, para determinar la posible aceptación del producto terminado. Se pide al juez que luego de su primera impresión responda cuanto le agrada o desagrada el producto, esto informa de acuerdo a una escala verbal-numérica que va en la ficha.

Los resultados del panel se transformaron en ranking y se analizaron por cómputos, para evaluar si un tratamiento es estadísticamente superior al otro. Por medio de este análisis se puede determinar cuál de los experimentos presenta las mejores características organolépticas y establecer, mediante comparación, cuál de ellos tiene el mayor grado de aceptabilidad.

En base a lo expuesto anteriormente, se obtuvieron resultados satisfactorios ya que cada uno de los experimentos sometidos a análisis sensorial, presentaron un alto grado de aceptabilidad y los atributos buscados se encontraron presentes en la cantidad deseada para el producto y dentro de los parámetros establecidos para este tipo de bebida.

## CONCLUSIONES

1. La formulación de sidras con variedades locales de manzana es un proceso factible en nuestro medio, convirtiéndose en una alternativa para los productores locales, con el fin de otorgar un valor agregado a este producto agrícola
2. El diseño de experimentos, es una estrategia válida para optimizar los parámetros de elaboración de bebidas alcohólicas y permite establecer los parámetros que tienen mayor influencia en el desarrollo de un producto.
3. Mediante la presente investigación se pudo determinar, que cada una de las variedades analizadas, presentan características idóneas para la obtención de un producto, de excelentes atributos y dentro de los parámetros establecidos.
4. El análisis sensorial desarrollado permite establecer que el producto tiene buena aceptación entre catadores no entrenados, lo cual avizora una interesante posibilidad de desarrollo y de posicionamiento en el mercado de una nueva bebida espirituosa.
5. Se recomienda dar continuidad a esta investigación, orientando los trabajos futuros al desarrollo de mezclas con materias primas disponibles en nuestra zona y probar el potencial de otros frutos ecuatorianos como material de partida para bebidas alcohólicas fermentadas.

## BIBLIOGRAFÍA

- BUENO SANCHEZ, Gustavo, [Et Al.], El Libro de la sidra. Ediciones Pentalfa. (2005)
- CRUZ JARAMILLO, P., (2010). Cultivo de manzana, Cuenca. Apuntes de Fruticultura. Escuela De Ingeniería Agronómica, Universidad De Cuenca.
- CALDERÓN, Esteban. Manual del Fruticultor Moderno. Editorial Limusa, S.A. México, D.F. Volumen I, 2003
- DÍAZ, L. (2012). Variedades locales de manzana. Comunicación Personal.
- DRILLEAU, J. La Sidra. Edit. Acribia S.A. España. Volumen II. 2005.
- FABILA CARRERA Gilberto. Diseño y análisis de experimentos industriales. Edit. Universidad Iberoamericana. 2008.
- Inter American Statistical Institute. Estadística. Edit. Inter-American Statistical Institute.
- LUNDSTED, T., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nyström, A., Pettersen, J., Bergman, R. (2008). Experimental Design and Optimization. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 42, 3 – 40.
- MILLER, J. (2002). Estadística y Quimiometría para Química Analítica. 4ta Edición. Prentice Hall. España., pp. 190
- OWEN, P. Ward. Biotecnología de la Fermentación. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza. 2006.

## ANEXOS.

## Anexo 1. Modelo de ficha de evaluación sensorial.



## FICHA DE EVALUACIÓN SENSORIAL

LA SIGUIENTE EVALUACIÓN SENSORIAL BUSCA, MEDIANTE SU VALIOSA COLABORACION, OBTENER INFORMACIÓN PARA ASÍ PODER SATISFACER SUS NECESIDADES Y ELABORAR UNA “SIDRA” CON LAS MEJORES CARACTERÍSTICAS, PARA ELLO ESPERAMOS QUE SUS RESPUESTAS SEAN SINCERAS

Fecha: \_\_\_\_\_

Experimento \_\_\_\_\_

## 1. Relacionado al aspecto

	Muy mala	Mala	Regular	Buena	Muy buena
(a) Apariencia					
(b) Homogeneidad					

## 2. Respecto al color:

	Muy poco	Poco	Regular	Intenso	Muy intenso
(a) Intensidad de amarillo					

## 3. En cuanto al olor

	Muy poco	Poco	Regular	Intenso	Muy intenso
(a) Dulce					
(b) Acido					
(c) Fruta					
(d) Alcohol					

## 4. Qué opina del sabor:

	Muy poco	Poco	Regular	Intenso	Muy intenso
(a) Dulce					
(b) Acido					
(c) Amargo					
(d) Insípido					

(e) Agradable					
---------------	--	--	--	--	--

GRACIAS POR SU COLABORACIÓN VALIOSA.

**Anexo 2. Resultados del panel de la ficha de evaluación sensorial, por variedad.**

Variedad Anna:

APARIENCIA

	Transparencia	Brillo	Turbidez	Homogeneidad
Muy mala	1	1	10	1
Mala	12	12	20	1
Regular	28	30	28	15
Buena	45	28	33	48
Muy buena	16	16	9	35

Intensidad de Amarillo	
Muy poco	11
Poco	11
Regular	30
Intenso	26
Muy intenso	22

## OLOR

	Frutal	Ácido	Dulce	Irritante	Químico	Intenso
Muy poco	10	15	4	45	48	12
Poco	19	30	47	33	35	13
Regular	26	23	23	15	12	23
Intenso	35	28	13	7	3	37
Muy intenso	10	4	23	0	2	15

## SABOR

	Frutal	Dulce	Ácido	Amargo	Químico	Regusto
Muy poco	2	10	22	33	50	17
Poco	4	20	20	20	35	17
Regular	43	50	33	20	11	21
Intenso	44	20	25	17	4	45
Muy intenso	7	0	10	10	0	0

## Variedad Flor de Mayo

## Apariencia

	Transparencia	Brillo	Turbidez	Homogeneidad	
Muy mala		9	4	3	2
Mala		16	17	11	4
Regular		42	35	34	18
Buena		25	36	41	39
Muy buena		8	8	11	37

## Intensidad de Amarillo

Muy poco	13
Poco	43
Regular	40
Intenso	4
Muy intenso	0

## OLOR

	Frutal	Ácido	Dulce	Irritante	Químico	Intenso
Muy poco	25	12	34	32	21	8
Poco	32	22	27	21	31	13
Regular	21	27	23	35	28	26
Intenso	21	32	13	8	14	39
Muy intenso	1	7	3	4	6	14

## SABOR

	Frutal	Dulce	Ácido	Amargo	Químico	Regusto
Muy poco	35	34	17	21	25	8
Poco	30	36	21	23	28	12
Regular	24	17	28	33	30	29
Intenso	8	10	27	17	13	35
Muy intenso	3	3	7	6	4	16

Variedad Golden Delicious

## APARIENCIA

	Transparencia	Brillo	Turbidez	Homogeneidad
Muy mala	1	0	14	1
Mala	7	10	0	1
Regular	30	16	43	14
Buena	43	43	26	43
Muy buena	17	31	17	41

## OLOR

	Frutal	Ácido	Dulce	Irritante	Químico	Intenso
Muy poco	35	11	33	38	45	7
Poco	21	23	9	25	25	23
Regular	19	26	43	19	21	21
Intenso	21	35	14	16	11	37
Muy intenso	4	5	6	2	0	12

## SABOR

	Frutal	Dulce	Ácido	Amargo	Químico	Regusto
Muy poco	19	9	13	55	60	19
Poco	18	34	42	40	32	7
Regular	43	36	28	3	4	20
Intenso	15	21	19	1	2	40
	5	0	0	1	2	14





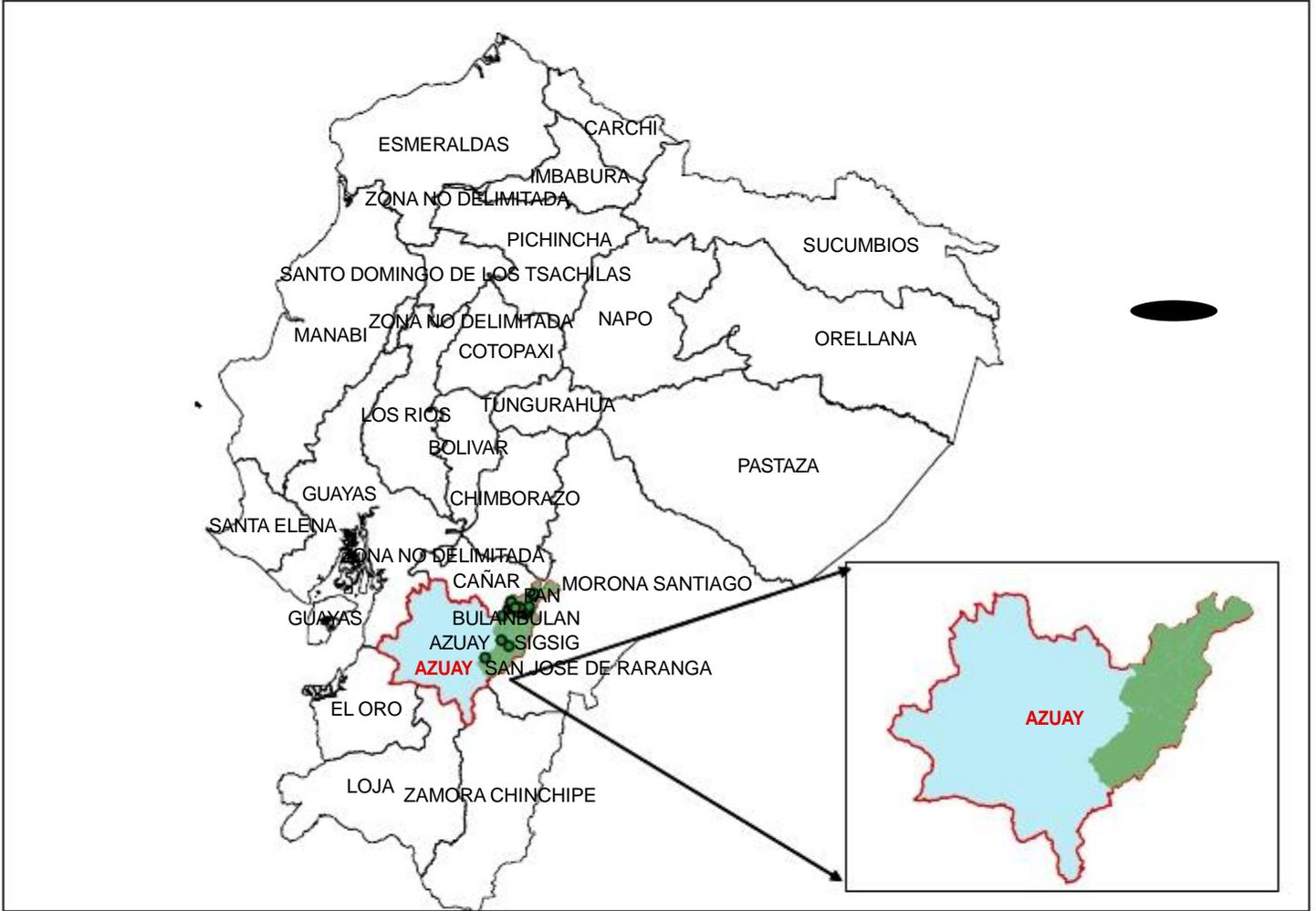
FLOR DE MAYO										
EXP	Bo	B1	B2	B3	B12	B13	B23	B123	Alcohol	Az. Reduc
1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	4,7	33,87
2	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	5,2	32,41
3	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	4,2	53,03
4	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	4,8	39,18
5	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	4,5	55
6	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	5	36,321
7	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	5	50
8	1	1	1	1	1	1	1	1	4	42,777
Bo=	4,675	42,8235	<b>% Alcohol=</b> 4,675 - 0,05C - 0,175T - 0,05T° - 0,8CT + 0,875CT° - 0,075TT° - 0,2CTT°							
B1=	-0,05	-6,50525								
B2=	-0,175	3,42325	<b>A.R. g/L=</b> 42,8235 - 6,50525C + 3,42325T + 3,201T° - 0,11675CT - 1,324CT° - 3,05925TT° + 2,252CTT°							
B3=	-0,05	3,201								
B12	-0,8	-0,11675								
B13	0,875	-1,324								
B23	-0,075	-3,05925								
B123	-0,2	2,252								

**Anexo 4. Ubicación de las zonas de producción de manzana en la provincia del Azuay.**

Punto	Coordenada	"Altitud (msnm)"	Numero Foto	Lugar
1	75432 9704310	2990	18	Osoyauco
2	763842 9704310	2211	19	Palmas
3	763089 9697040	2402	20	Palmas
4	762079 9694672	2458	21-22	Oso Rancho
5	76177 9693752	2463	23	Oso Rancho
6	760669 9690726	2337	24-28	Sevilla de Oro
7	758628 9689370	2634	29-32	San Vicente
8	759133 9689394	2606	33	San Vicente
9	759630 9689702	2566	34	El Pan
10	759458 9691650	2532	35-36	El Pan
11	753906 969446	2336		El Romeral
12	751835 9694480	2244	37	CREA
13	746163 9698682	2891	38-40	Tambillo
14	746992 9698532	2851	41-42	Tambillo
15	747517 9699076	2718	43-44	Bulán
16	74843 9695896	2337	45-47	Guayán
17	748193 9693720	2278	49-50	Cachayauco
18	745854 9662400	2569	51-53	Sig-Sig
19	745854	2278		

Tabla 4.5. Toma de coordenadas en las zonas de producción.

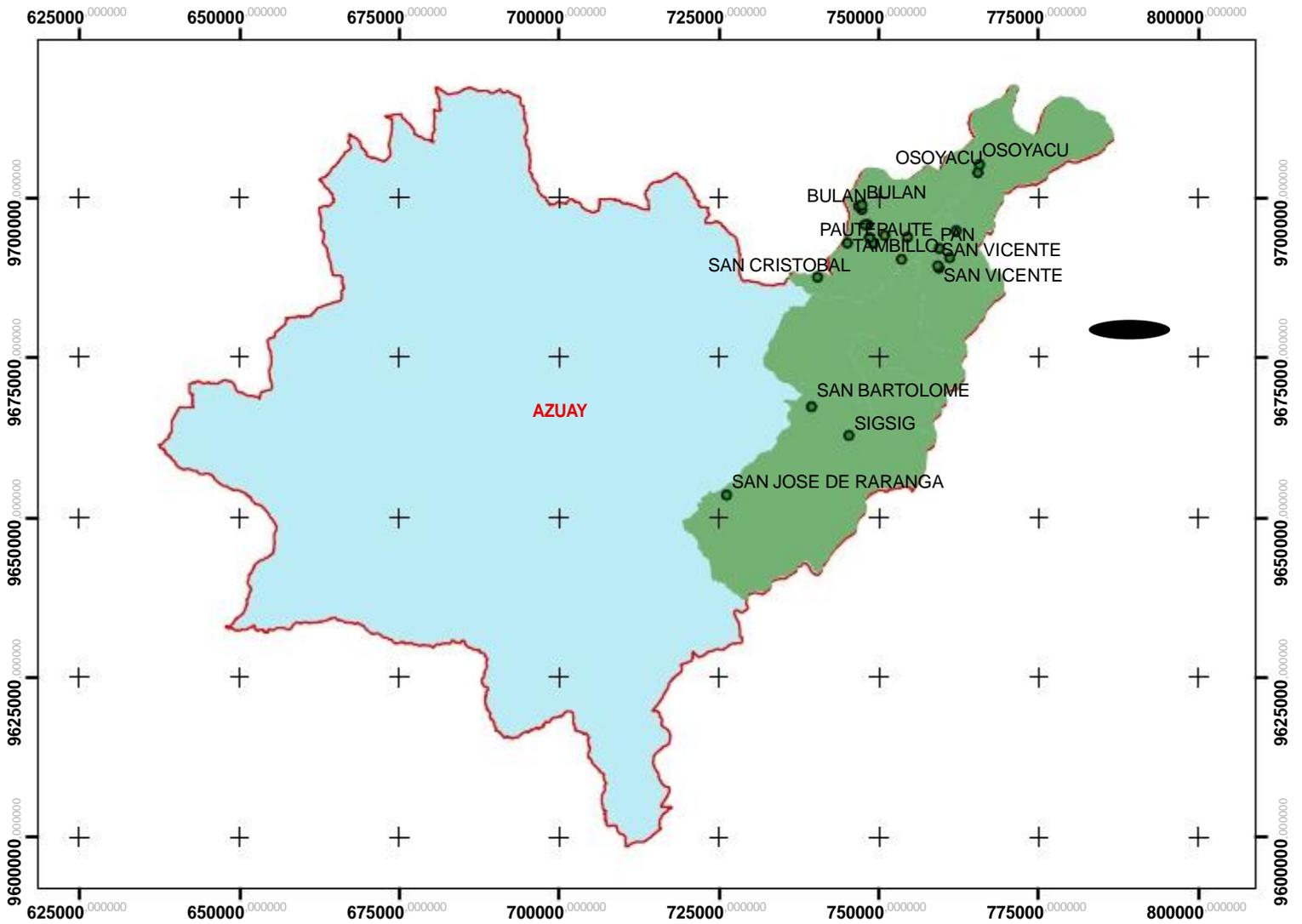
# Ubicación de la Zona de Estudio



UNIVERSIDAD DEL AZUAY  
FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA  
ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS  
REALIZADO POR: FABRIZIO MERA PATIÑO Fuente: CG Paute



# Zona de Producción de Manzana en la Provincia del Azuay



0 12,5 25 50 75 100 Kilometers

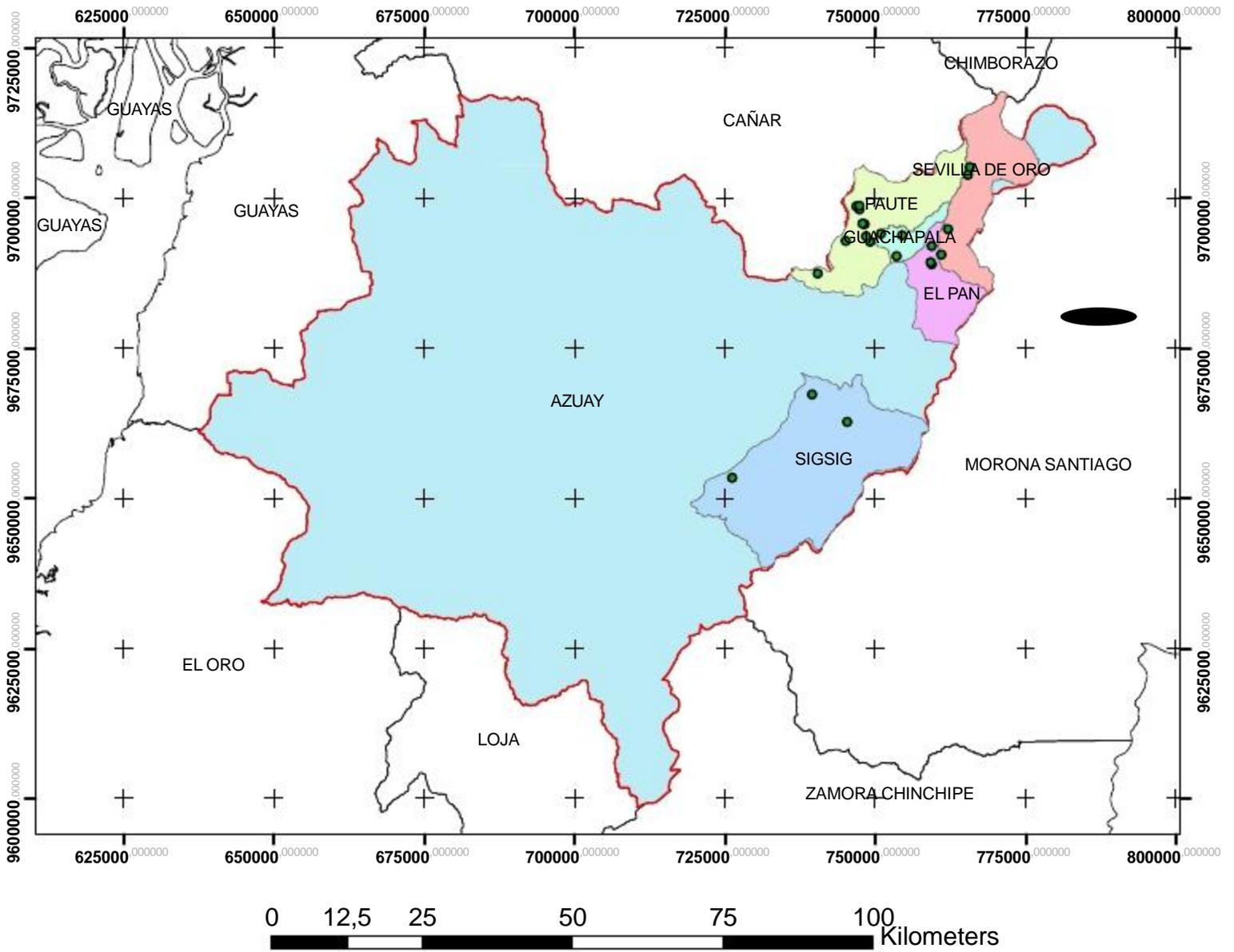
ESCALA: 1:1.000.000

UNIVERSIDAD DEL AZUAY  
 FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA  
 ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS  
 REALIZADO POR: FABRIZIO MERA PATIÑO Fuente: CG Paute

**LEYENDA**

-  Azuay
-  Zona producción manzana
-  LOCALIDADES

# Producción de manzana en los cantones de la provincia del Azuay



ESCALA: 1:1.000.000

UNIVERSIDAD DEL AZUAY	
FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA	
ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS	
REALIZADO POR: FABRIZIO MERA PATIÑO	Fuente: CG Paute

**LEYENDA**

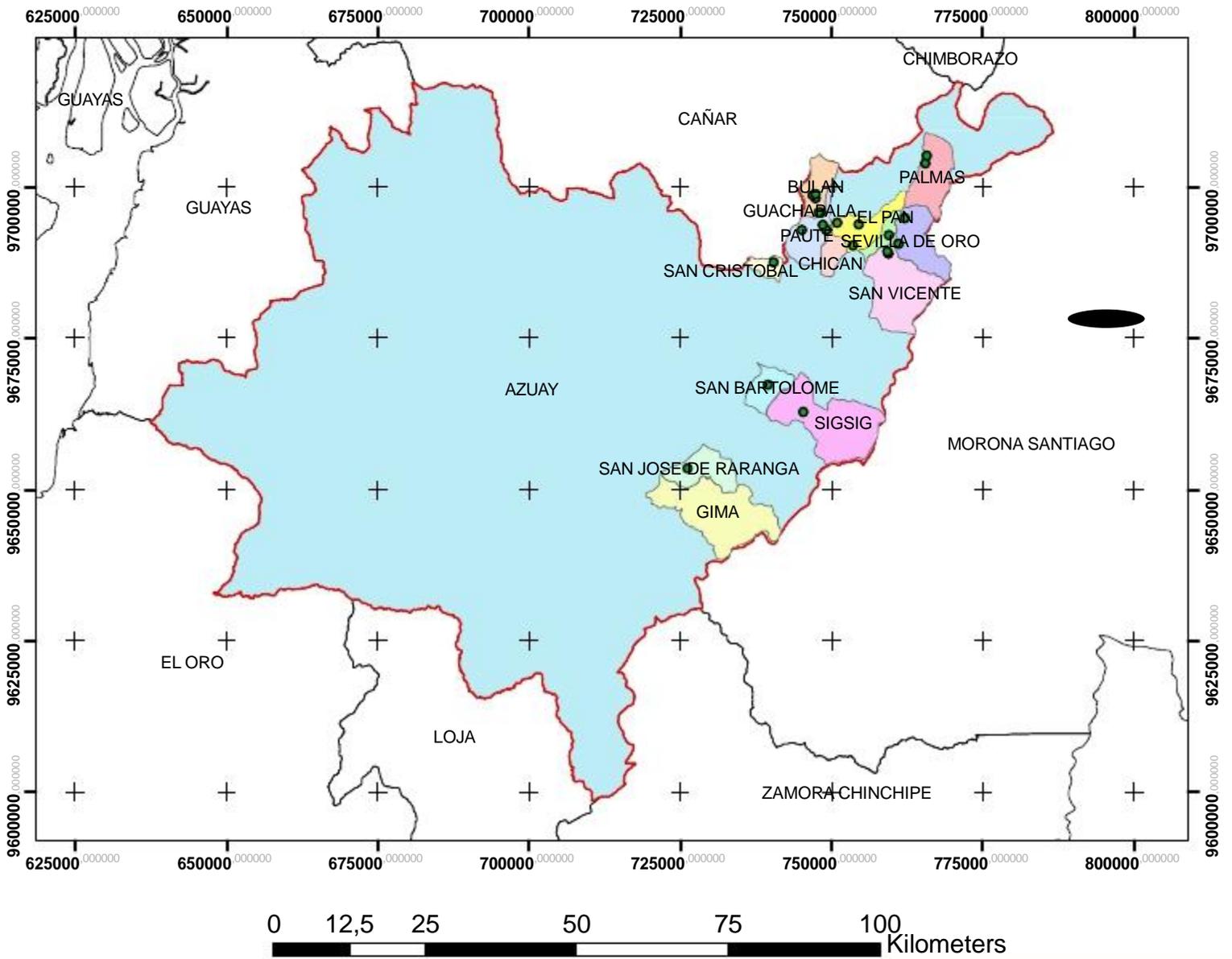
- Azuay
- LOCALIDADES

**CANTONES**

**NOMBRE**

- EL PAN
- GUACHAPALA
- PAUTE
- SEVILLA DE ORO
- SIGSIG

# Producción de manzana en las parroquias de la provincia del Azuay



ESCALA: 1:1.000.000

UNIVERSIDAD DEL AZUAY  
 FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA  
 ESCUELA DE INGENIERÍA EN ALIMENTOS  
 REALIZADO POR: FABRIZIO MERA PATIÑO | Fuente: CG Paute

## LEYENDA

-  Azuay
  -  LOCALIDADES
- parroquias**
- NOMBRE**
-  BULÁN
  -  CHICÁN
  -  EL PAN
  -  GIMA
  -  PALMAS
  -  PAUTE
  -  SAN BARTOLOMÉ
  -  SAN CRISTOBAL
  -  SAN JOSÉ DE RARANGA
  -  SAN VICENTE
  -  SEVILLA DE ORO
  -  SIGSIG
  -  GUACHAPALA