

**REPUBLICA DEL ECUADOR**

**UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE**

**FACULTAD DE INGENIERIA EN CIENCIAS  
AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES**

**ESCUELA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL**

**“PRODUCCIÓN Y DESTILACIÓN DE MOSTO DE  
MANZANA (VARIEDAD SANTA LUCIA) PARA LA  
OBTENCIÓN DE CALVADOS “**

**TESIS DE GRADO**

**PREVIA A LA OBTENCION DEL TITULO DE  
INGENIERA AGROINDUSTRIAL**

**AUTOR:**

**ROSARIO DEL CARMEN ESPÍN VALLADARES**

**DIRECTOR DE TESIS:**

**DRA. LUCÍA YÉPEZ**

**IBARRA – ECUADOR**

**2008**

Las ideas, conceptos, cuadros, gráficos  
y más informes del presente trabajo  
son de responsabilidad de su autora.

## **CESIÓN DE DERECHOS**

La autora: siempre que se cite la fuente, cede con fines académicos y de investigación los derechos de reproducción y duplicación de la investigación desarrollada en este trabajo a la Universidad ecuatoriana y a la sociedad en general.

Para fines distintos al investigativo y académico (producción de textos con fines comerciales, uso del método para procesamiento industrial, etc.); por favor póngase en contacto con la autora y la Universidad Técnica del Norte; copropietarios – solidarios de los derechos de autor.

Rosario Espín Valladares

CC. 100273495-0

ross\_vall@latinmail.com

## **DEDICATORIA**

A Dios Todopoderoso por fortalecerme y ser la luz en el camino de mi diario vivir.

A mi querido padre Johnson Torres, que, con su apoyo incondicional, comprensión cariño y digno ejemplo de responsabilidad ha sido mi guía e inspiración para seguir adelante.

A mi madre Nelly Valladares, que, con su inmenso amor y sabios consejos ha sabido conducirme y darme valor para lograr mis propósitos.

A ti Antonio, que por tu amistad, respeto, amor y confianza me has permitido rescatar las cosas buenas que la vida nos brinda.

**Rosario.**

## **AGRADECIMIENTO**

- A la UNIVERSIDAD TECNICA DEL NORTE, y a los señores catedráticos que forman y preparan jóvenes profesionales para integrarles a la sociedad.
- Al Sr. José Madera Salvador, propietario de la Granja Agrícola Santa Lucía por proveerme de la materia prima para la realización de éste trabajo.
- A la Dra. Lucía Yépez, Directora de Tesis, por su acertada orientación en la ejecución de esta tesis.
- A los señores asesores Ing. Marcelo Miranda, Ing. Hernán Cadena, Dr. Alfredo Noboa, quienes con su apoyo y conocimiento guiaron este proyecto.
- Al Dr. José Luis Moreno, por su colaboración durante el tiempo de estudio y en la ejecución de este trabajo.
- Al Dr. Rodrigo Obando Jefe de Planta y Control de Calidad de ILENSA, por permitirme realizar los análisis físico-químicos en dicha empresa.
- Al Lic. Marco Ávila, laboratorista de ILENSA por su colaboración en la realización de los análisis del licor.
- Y a todos mis amigos que de una u otra manera han contribuido a la ejecución de este trabajo.

## INDICE GENERAL

### CAPITULO I

|                                  |   |
|----------------------------------|---|
| 1.1 Introducción.....            | 2 |
| 1.2 Objetivos.....               | 4 |
| 1.2.1 Objetivo General.....      | 4 |
| 1.2.2 Objetivos Específicos..... | 4 |
| 1.3 Hipótesis.....               | 5 |

### CAPÍTULO II: REVISIÓN DE LITERATURA

|  |    |
|--|----|
| 2.1 Calvados.....  | 7  |
| 2.1.1 Historia de la denominación.....                         | 7  |
| 2.1.2 Definición.....  | 7  |
| 2.2 Tipos de manzana usados en la elaboración de calvados..... | 9  |
| 2.2.1 Calidad dulce.....                                       | 9  |
| 2.2.2 Calidad amarga.....                                      | 9  |
| 2.2.3 Calidad dulce-amarga.....                                | 9  |
| 2.2.4 Calidad ácida.....                                       | 9  |
| 2.3 Manzana.....   | 10 |
| 2.3.1 Taxonomía y morfología.....                              | 11 |
| 2.3.2 Importancia económica.....                               | 12 |
| 2.3.3 Requerimientos edafoclimáticos.....                      | 12 |
| 2.3.4 Propagación.....   | 13 |
| 2.3.5 Variedades.....  | 14 |
| 2.3.5.1 Golden Delicious.....                                  | 14 |
| 2.3.5.2 Red Delicious.....                                     | 14 |
| 2.3.5.3 Starking.....  | 15 |
| 2.3.5.4 Richared.....  | 15 |
| 2.3.5.5 Starkrimson.....                                       | 15 |
| 2.3.5.6 Reineta blanca del Canadá.....                         | 15 |
| 2.3.5.7 Verde doncella.....                                    | 15 |

|   |    |
|---|----|
| 2.3.5.8 Galiaxis.....   | 15 |
| 2.3.5.9 Belleza de Roma.....  | 15 |
| 2.3.5.10 Esperiega de Ademuz.....                                   | 16 |
| 2.3.5.11 Gala.....  | 16 |
| 2.3.5.12 Granny Smith.....  | 16 |
| 2.3.5.13 Variedad Santa Lucía.....                                  | 16 |
| 2.3.6 Valor nutricional.....  | 17 |
| 2.4 Fermentación.....   | 19 |
| 2.4.1 Definición bioquímica.....                                    | 19 |
| 2.4.2 Compuestos producidos durante la fermentación alcohólica..... | 19 |
| 2.4.2.1 Principales.....  | 19 |
| 2.4.2.2 Secundarios.....  | 19 |
| a) Alcoholes superiores.....  | 19 |
| b) Otros alcoholes.....   | 20 |
| c) Aldehídos.....   | 20 |
| d) Esteres.....   | 21 |
| e) Ácidos.....  | 22 |
| 2.4.3 Levaduras, en la fermentación alcohólica.....                 | 22 |
| 2.4.3.1 En condiciones aeróbicas.....                               | 23 |
| 2.4.3.2 En condiciones anaeróbicas.....                             | 23 |
| 2.4.4 Ciclo de crecimiento de las levaduras.....                    | 25 |
| 2.4.4.1 Fase de latencia.....                                       | 26 |
| 2.4.4.2 Fase de crecimiento exponencial.....                        | 26 |
| 2.4.4.3 Fase estacionaria.....                                      | 26 |
| 2.4.4.4 Fase de muerte o declive.....                               | 26 |
| 2.4.5 Sustancias presentes en el mosto.....                         | 27 |
| 2.4.5.1 Ácidos.....   | 27 |
| 2.4.5.2 Sustancias fenólicas.....                                   | 27 |
| 2.4.5.3 Sustancias pépticas.....                                    | 27 |
| 2.4.5.4 Azúcar.....   | 27 |
| 2.4.6 Otras sustancias.....   | 27 |

|   |    |
|---|----|
| 2.4.6.1 Sustancias nitrogenadas.....      | 27 |
| 2.4.6.2 Microorganismos en el mosto.....  | 27 |
| 2.5 Sulfitación.....                      | 28 |
| 2.6 Destilado .....                       | 30 |
| 2.6.1 Principio de destilación.....       | 30 |
| 2.6.2 Normas básicas de destilación.....  | 31 |
| 2.6.3 Relaciones de equilibrio. ....      | 31 |
| 2.6.4 Métodos de destilación. ....        | 32 |
| a) Destilación fraccionada.....           | 32 |
| b) Destilación directa.....               | 33 |
| c) Destilación al vacío.....              | 33 |
| d) Destilación por arrastre de vapor..... | 34 |
| e) Destilación molecular centrífuga.....  | 34 |
| f) Sublimación.....                       | 35 |
| g) Destilación destructiva.....           | 35 |
| 2.6.5 Destilación de calvados.....        | 35 |
| 2.6.6 Descripción del alambique.....      | 36 |
| 2.6.7 Cata de licores.....                | 37 |
| 2.6.7.1 Introducción a la catación.....   | 37 |
| a) Análisis visual.....                   | 37 |
| b) Análisis olfativo .....                | 38 |
| c) Análisis gustativo.....                | 38 |

### **CAPITULO III: MATERIALES Y MÉTODOS**

|   |    |
|---|----|
| 3.1 Materia prima e insumos.....              | 40 |
| a) Materia prima.....                         | 40 |
| b) Insumos.....                               | 40 |
| 3.1.1 Materiales y equipo de laboratorio..... | 40 |
| 3.2 Métodos.....                              | 41 |
| 3.2.1 Localización del experimento.....       | 41 |
| 3.2.1.1 Trabajo experimental.....             | 41 |



|          |  |    |
|----------|--|----|
| 3.2.1.2  | Análisis de laboratorio.....   | 41 |
| 3.3      | Factores en estudio.....   | 41 |
| 3.4      | Análisis Estadístico.....  | 42 |
| 3.4.1    | Tipo de Diseño.....  | 42 |
| 3.4.2    | Tratamientos.....  | 42 |
| 3.4.3    | Características del experimento.....                                       | 43 |
| 3.4.4    | Esquema del Análisis de Varianza.....                                      | 43 |
| 3.4.5    | Análisis funcional.....  | 43 |
| 3.4.6    | Unidad Experimental.....   | 43 |
| 3.4.7    | Variables evaluadas.....   | 44 |
| 3.4.7.1  | Variables Cuantitativas.....   | 44 |
| 3.4.7.2  | Variables Cualitativas.....  | 44 |
| 3.5      | Manejo Específico del Experimento.....                                     | 44 |
| 3.5.1    | Descripción del proceso para obtención de calvados.....                    | 44 |
| 3.5.1.1  | Recepción de materia prima.....  | 44 |
| 3.5.1.2  | Lavado y pesado.....   | 44 |
| 3.5.1.3  | Dilución.....  | 45 |
| 3.5.1.4  | Liculado.....  | 45 |
| 3.5.1.5  | Ajuste de grados brix.....   | 45 |
| 3.5.1.6  | Acondicionamiento.....   | 45 |
| 3.5.1.7  | Inoculación.....   | 45 |
| 3.5.1.8  | Fermentación.....  | 46 |
| 3.5.1.9  | Destilación.....   | 46 |
| 3.5.1.10 | Envasado y etiquetado.....   | 46 |
| 3.5.2    | Diagrama de Proceso para la obtención de Calvados.....                     | 48 |
| 3.6      | Métodos de evaluación y toma de datos durante el manejo del experimento... | 49 |
| 3.6.1    | Determinación de curvas de crecimiento de levaduras.....                   | 49 |
| 3.6.2    | Variación de grados Brix.....  | 50 |
| 3.6.3    | Grado alcohólico del mosto.....  | 51 |
| 3.6.4    | Grado alcohólico del calvados.....   | 51 |
| 3.6.5    | Evaluación físico - químico.....   | 51 |

|                                   |    |
|-----------------------------------|----|
| 3.6.6 Análisis organoléptico..... | 51 |
|-----------------------------------|----|

#### **CAPITULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

|  |    |
|--|----|
| 4.1 Determinación de curvas de crecimiento de levaduras y variación de °Brix.... | 54 |
| 4.1.1 Resultados del Tratamiento 1.....  | 54 |
| 4.1.2 Resultados del Tratamiento 2.....  | 56 |
| 4.1.3 Resultados del Tratamiento 3.....  | 58 |
| 4.1.4 Resultados del Tratamiento 4.....  | 60 |
| 4.1.5 Resultados del Tratamiento 5.....  | 63 |
| 4.1.6 Resultados del Tratamiento 6.....  | 65 |
| 4.1.7 Resultados del Tratamiento 7.....  | 67 |
| 4.2 Grado alcohólico del mosto.....  | 69 |
| 4.3 Grado alcohólico de Calvados.....  | 72 |
| 4.4 Evaluación físico- química.....  | 74 |
| 4.4.1 Acetaldehídos.....   | 75 |
| 4.4.2 Acetato de Etilo.....  | 78 |
| 4.4.3 Alcoholes Superiores.....  | 81 |
| 4.4.4 Furfural.....  | 83 |
| 4.4.5 Metanol.....   | 87 |
| 4.5 Análisis Organoléptico.....  | 89 |
| 4.6 Análisis de costos.....  | 98 |

#### **CAPITULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

|                          |     |
|--------------------------|-----|
| 5.1 Conclusiones.....    | 101 |
| 5.2 Recomendaciones..... | 103 |

#### **CAPITULO VI: RESUMEN.....**

|                  |     |
|------------------|-----|
| 6.1 SUMMARY..... | 108 |
|------------------|-----|

#### **CAPITULO VII: BIBLIOGRAFIA.....**

## **CAPITULO VIII: ANEXOS**

1. Resultados del análisis fisico-químico de los tratamientos
- 2: Normas INEN N° (340, 366, 350)
- 3: Hoja para la evaluación organoléptica
- 4: Fotografías

## INDICE DE CUADROS

### CUADROS

|   |    |
|---|----|
| 1. Composición nutricional de la manzana.....   | 18 |
| 2. Tratamientos.....  | 42 |
| 3. Esquema ADEVA.....   | 43 |
| 4. Recuento de Microorganismos.....   | 50 |
| 5. Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 1(0.5 gramos por litro de levadura, y 0.15 gramos por litro de metabisulfito).....  | 54 |
| 6. Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 2 (1.0 gramos por litro de levadura, y 0.15 gramos por litro de metabisulfito)..... | 56 |
| 7. Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 3 (1.5 gramos por litro de levadura, y 0.15 gramos por litro de metabisulfito)..... | 58 |
| 8. Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 4 (0.5 gramos por litro de levadura, y 0.25 gramos por litro de metabisulfito)..... | 60 |
| 9. Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 5 (1.0 gramos por litro de levadura, y 0.25 gramos por litro de metabisulfito)..... | 63 |
| 10. Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 6 (1.5 gramos por litro de levadura, y 0.25 gramos por litro de metabisulfito)     | 65 |
| 11. Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 7 (sin la adición de levadura ni metabisulfito).....                               | 67 |
| 12. Grado alcohólico del mosto.....   | 70 |
| 13. Análisis de varianza para: Grado alcohólico del mosto.....  | 70 |
| 14. Grado alcohólico del calvados.....  | 72 |
| 15. Análisis de varianza para: Grado alcohólico del calvados.....   | 73 |
| 16. Resultado de Acetaldehídos.....   | 75 |
| 17. Análisis de varianza para: Acetaldehídos.....   | 75 |
| 18. Prueba de Tuckey al 5% para Tratamientos.....   | 76 |
| 19. Prueba DMS para Cantidad de Metabisulfito.....  | 77 |
| 20. Resultado de Acetato de Etilo.....  | 78 |
| 21. Análisis de varianza para: Acetato de Etilo.....  | 78 |

|  |    |
|--|----|
| 22. Prueba de Tuckey al 5% para Tratamientos.....        | 79 |
| 23. Prueba DMS para Cantidad de Metabisulfito.....       | 80 |
| 24. Prueba DMS para la interacción C x D.....            | 80 |
| 25. Resultado de Alcoholes Superiores.....               | 81 |
| 26. Análisis de varianza para: Alcoholes Superiores..... | 82 |
| 27. Resultado de Furfural.....                           | 83 |
| 28. Análisis de varianza para: Furfural.....             | 84 |
| 29. Prueba de Tuckey al 5% para Tratamientos.....        | 85 |
| 30. Prueba DMS para Cantidad de Metabisulfito.....       | 85 |
| 31. Resultado de Metanol.....                            | 87 |
| 32. Análisis de varianza para: Metanol.....              | 87 |
| 33. Valoración de la característica aroma.....           | 89 |
| 34. Datos ranqueados de aroma.....                       | 90 |
| 35. Valoración de la característica color.....           | 92 |
| 36. Datos ranqueados de color.....                       | 93 |
| 37. Valoración de la característica sabor.....           | 95 |
| 38. Datos ranqueados de sabor.....                       | 96 |
| 39. Costos del mejor tratamiento: T5.....                | 98 |
| 40. Costos para tratamientos.....                        | 99 |

## INDICE DE FIGURAS

### FIGURAS

|  |    |
|--|----|
| 1. Manzana variedad Santa Lucía .....  | 16 |
| 2. Ciclo de crecimiento de las levaduras.....                                    | 20 |
| 3. Alambique tipo pera.....  | 36 |
| 4. Cámara de recuento de Petroff-Hausser.....                                    | 49 |
| 5. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) del tratamiento 1..... | 55 |
| 6. Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) tratamiento 1.....         | 55 |
| 7. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 1.....    | 56 |
| 8. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) tratamiento 2.....     | 57 |
| 9. Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) tratamiento 2.....         | 57 |
| 10. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 2.....   | 58 |
| 11. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) tratamiento 3.....    | 59 |
| 12. Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) del tratamiento 3.....    | 59 |
| 13. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 3.....   | 60 |
| 14. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) tratamiento 4.....    | 61 |
| 15. Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) del tratamiento 4.....    | 61 |
| 16. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 4.....   | 62 |
| 17. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) tratamiento 5.....    | 63 |
| 18. Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) del tratamiento 5.....    | 64 |
| 19. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 5.....   | 64 |
| 20. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) tratamiento 6.....    | 65 |
| 21. Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) del tratamiento 6.....    | 66 |
| 22. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 6.....   | 66 |
| 23. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) tratamiento 7.....    | 68 |
| 24. Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) tratamiento 7.....        | 68 |
| 25. Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 7.....   | 69 |
| 26. Grado alcohólico del mosto.....  | 71 |
| 27. Grado alcohólico del calvados.....   | 74 |
| 28. Comparación de cantidad de Acetaldehído entre tratamientos.....              | 77 |

|   |    |
|---|----|
| 29. Comparación de cantidad de acetato de etilo entre tratamientos.....     | 81 |
| 30. Comparación de cantidad de Alcoholes Superiores entre tratamientos..... | 83 |
| 31. Interacción de los factores C X D.....                                  | 86 |
| 32. Comparación de cantidad de Furfural entre tratamientos.....             | 86 |
| 33. Comparación de cantidad de Metanol entre tratamientos.....              | 88 |
| 34. Aroma.....  | 91 |
| 35. Color.....  | 94 |
| 36. Sabor.....  | 97 |

# CAPÍTULO I



# 1 GENERALIDADES

## 1.1 INTRODUCCIÓN

Se tiene constancia desde tiempos remotos la existencia de "bebidas embriagadoras" como los egipcios las denominaban. Otros pueblos, celtas, hebreos, romanos, griegos dejaron muestras del uso y costumbres de la época en cuanto al consumo de la sidra y destilación de ésta.

El testimonio más antiguo del que constan diversas pruebas escritas, citan la palabra sidra, en el año 60 AC cuando Estrabón se refiere a la palabra "zytho" como una bebida fermentada de manzanas y que más tarde se usó dicha bebida para hacer otro proceso: el destilado, fruto del cual resulta una de las bebidas consideradas más finas del mundo el "calvados" producto apreciado principalmente por su exquisito aroma.

Existe una amplia variedad de licores, éstos se diferencian principalmente de la materia prima de la que proceden; aún cuando el proceso para la obtención siga iguales pasos: tales como fermentación y destilación; entre los más destacados se puede citar: whisky usa como materia prima cereales, vodka proveniente de papa, kirch de cereza, calvados de manzana, etc.

En Ecuador, el único proceso de destilado que se conoce, es a partir de la caña de azúcar, proceso que se realiza de una manera inadecuada y antitécnica. Es de suma importancia el destilado, ya que si no se lo hace de manera correcta, el producto obtenido puede ser una mezcla de varios tipos de alcoholes no aptos para

el consumo humano por la presencia de metanol, alcoholes superiores que produce entre otros casos irritación de las neuronas, destrucción de las paredes del estómago, ceguera, y hasta muerte. No se ha considerado la posibilidad de usar otras frutas como materia prima para dicho propósito.

En la industria ecuatoriana, en los procesos de elaboración de licores no se realiza la destilación a partir de mosto fermentado siendo la práctica más común el uso de alcohol potable para la fabricación de bebidas adicionando esencias, saborizantes y colorantes obteniendo licores artificiales.

La provincia de Imbabura cuenta con las condiciones óptimas para la producción de manzana, fruta muy comercial y apetecible, pero como es lógico, en el mercado es aceptada la fruta de primera, es decir, la de buen tamaño, sana, sin defectos físicos; sin embargo, existe producto de buenas características pero que por sus condiciones físicas (raspones, picados, tamaño, etc.) representa pérdidas para el productor, puesto que la misma no se puede comercializar.

Ante esta circunstancia, se ha visto la posibilidad de usar este tipo de fruta en la elaboración de un producto procesado; obteniendo de esta manera un alcohol para consumo humano de características exquisitas fruto de la fermentación de la manzana y su posterior destilación.

Esta preocupación es la que se quiere resolver, siendo la propuesta el obtener calvados a nivel de investigación; teniendo como objetivo encontrar los parámetros ideales para conseguir un buen producto.

Con este trabajo se genera una tecnología alternativa para la industrialización de la manzana no comercial en la elaboración de calvados; para así aprovechar la fruta existente en la zona, dando valor agregado a la misma y a su vez, el presente estudio propone nuevas alternativas para la producción de alcohol en pequeñas destilerías.

## **1.2 OBJETIVOS**

### **1.2.1 Objetivo General**

Producir y destilar mosto de manzana (variedad Santa Lucía) para la obtención de calvados.

### **1.2.2 Objetivos específicos**

- Evaluar el tiempo de fermentación del mosto mediante las curvas de crecimiento de levaduras, y la determinación de °Brix.
- Evaluar el grado alcohólico del mosto al final de la fermentación.
- Evaluar el calvados mediante pruebas organolépticas (aroma, sabor y color).
- Evaluar el calvados mediante análisis físico-químicos (metanol, alcoholes superiores, furfúrales, aldehídos, etc.).
- Análisis de costos.

### 1.3 HIPOTESIS

Se ha planteado la hipótesis dentro de la fase de fermentación, puesto que es donde se evaluó los factores en estudio.

- La cantidad de Metabisulfito de potasio y el porcentaje de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* inciden en el tiempo de fermentación.
  
- La cantidad de Metabisulfito de potasio y el porcentaje de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* no inciden en el tiempo de fermentación.

# **CAPÍTULO II**

## **2 REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 CALVADOS**

#### **2.1.1 Historia de la denominación**

Parece ser que el nombre del “calvados” se remonta a la época en que al rey de España, Felipe II, cansado de que sus navíos procedentes de las colonias americanas fueran asaltados por corsarios a sueldo de la Reina de Inglaterra, decide invadir este país, mandando a la contienda la famosa “Armada Invencible”. Cuenta la leyenda que uno de esos magníficos barcos, llamado “El Salvador”, naufragó frente a las costas normandas. El barco en cuestión debería ser tan importante por los pasajeros que transportaba o por el tesoro, que los lugareños empezaron a llamar al lugar del naufragio por su nombre: “Salvador” y que, de la degeneración de la palabra original “salvador”... “salvados”... derivó hasta “calvados”; con los años, esta palabra arraigó en el lugar, y en 1790, un año después de la Revolución Francesa, cuando Francia se divide en departamentos o provincias, Normandía se secciona en cinco comarcas, donde una, quizá la más bonita y la que producía más aguardiente por sus extensos sembríos de manzana de donde se obtenía aguardiente, mismo que recibió el nombre de: “calvados”.

Web en línea <http://apicius.es/articulo.php?titulo=el%20calvados&orden=8>

#### **2.1.2 Definición**

A grandes rasgos, el Calvados es un licor obtenido a partir de la fermentación de manzanas usando una mezcla de variedades, pues esto le da al producto su

característica. Posteriormente se efectúa la destilación que puede ser simple (35-40 °GL) o doble (70 °GL) separando de esta forma el alcohol y el agua; pero también hay un segundo objetivo que es eliminar indeseables agentes de sabor en forma de ésteres, aldehídos, congéneres (impurezas en el alcohol luego de la destilación) y ácidos, al tiempo que se retienen los deseables.

Luego de la destilación, el proceso de producción del Calvados aún no ha terminado, ya que el producto obtenido es de sabor áspero y fuerte.

Es necesario dejarlo envejecer en barricas de roble prestando atención particular a la elección del barril, porque su naturaleza, su dimensión, su edad, influirán considerablemente la calidad del añejado.

La maduración realizada de forma lenta da al Calvados su coloración ambarina a la vez que resalta sus cualidades. Hay que hacer notar que en este proceso los aguardientes pierden parte de su volumen y de su graduación alcohólica. Esta evaporación se cifra entre 4 y 5 % anualmente.

Algunos elaboradores optan por poner primero el calvados en barricas pequeñas para que el intercambio madera-alcohol y la oxidación del aire sean más importantes. Luego, al cabo de unos meses, se trasvasa a otras barricas más grandes, y permanece aquí durante mínimo tres años. En este proceso, las materias tánicas de la madera aportan su color natural al aguardiente, su aroma se acentuará y su coloración irá cambiando de un tono dorado a un ámbar cada vez más intenso.

El trabajo del bodeguero consiste en acoplar destilados de varias edades y proveniencias o terruños distintos con el fin de asociar las características propias y complementarias de cada una de ellas.

En la producción de este licor, hay tres cosas importantes para obtener un producto de calidad con las mejores características: la fruta, una buena destilación y el envejecimiento.

El Calvados, es producido en las mejores comarcas de Normandía (Francia), pero que sin embargo, la producción de éste licor se ha extendido a otros países como es el caso de Estados Unidos y otros; atendiendo a normativas precisas y reglamentadas.

## **2.2 TIPOS DE MANZANA USADOS EN LA ELABORACION DE CALVADOS**

Las manzanas usadas para calvados no son apropiadas para comer “al cuchillo”, suelen ser pequeñas pero ricas en taninos.

### **2.2.1 Calidad dulce:**

Se encuentran las manzanas de éstas variedades: Bedan, Clos Renaud, Doux Verret de Carrouges, Noël des Champs y Rouge Duret. Estas aportan el azúcar y permiten el equilibrio con el gusto amargo.

### **2.2.2 Calidad amarga:**

De las variedades: Antoinette, Fréquin roja y Marie Mesnard. Las manzanas amargas, pero ricas en taninos, dan a la sidra color, cuerpo, duración en boca y permiten su conservación.

### **2.2.3 Calidad dulce-amarga:**

De las variedades: Bisquet, Domaine, Egyptia, Germaine, Mettais, Moulin à Vent, Petite Sorte y Saint Martin agrupan las características de las variedades indicadas anteriormente.

### **2.2.4 Calidad ácida:**

De las variedades: Rambault, René Martín y Avrolles. Las ácidas proporcionan el frescor en boca.

Para la elaboración de calvados, se recomienda hacer una mezcla entre variedades de manzana. ¡Calvados de una sola variedad no existe!

<http://frutas.consumer.es/documentos/frescas/manzana/intro.php>



## 2.3 MANZANA

El manzano está ligado a la historia de Normandía hace más de 2000 años, puesto que existen escritos celtas y luego romanos que dan testimonio de la numerosa presencia de este árbol, en aquellos tiempos sagrado y en estado salvaje, en toda la región. Posteriormente, y con el paso del tiempo dicha fruta se fue introduciendo a los demás países requiriendo varios años para su adaptación

La historia de la manzana se confunde en el tiempo con la bebida romana “sicera”, luego denominada “sydra” y más tarde “sidra”; sin embargo, la primera historia documentada de la sidra, y luego del calvados, se relaciona muy directamente con España. En el siglo XIII, con el desarrollo de la navegación comercial a vela, los barcos transportaron desde Vizcaya los primeros injertos de manzanos de sidra, donde algunas variedades como la “Bisquet” o la “Marin Onfroy” nos recuerdan este hecho; más tarde, en los siglos XV y XVI, los navegantes normandos introdujeron, procedente de España, el alambique precisamente, es en este siglo, en marzo de 1553, cuando se tiene la primera mención oficial de este aguardiente el dato se recoge en el diario del señor de Gouberville gentil hombre de Cotentin, que describe la destilación de la sidra medio siglo más tarde, en 1600, se crea la primera corporación de destiladores de sidra, la cual se considera la verdadera partida de nacimiento del calvados.

La manzana es una de las frutas más cultivadas del mundo. La mayoría de manzanas proceden de la especie de manzanos *M. domestica* o híbridos de ella.

**Forma:** son pomos por lo general de forma ovoide, a veces alargados o redondos, que esconden numerosas semillas de color pardo en su interior. Su piel es casi siempre brillante y lisa.

**Tamaño y peso:** las manzanas más comercializadas son aquellas cuyo calibre va desde los 75 milímetros hasta los 85 o más. Y su peso oscila desde 170 gramos hasta 250 gramos.

**Color:** los diferentes colores de la piel hacen que se diferencien las frutas en cuatro grupos: verdes, rojas, amarillas y bicolors. Todas ellas con sabores, aromas y calidad de su carne diferentes.

**Sabor:** la pulpa puede ser dura o blanda, pero siempre refrescante y jugosa, y su sabor va desde el muy dulce al muy ácido pasando por toda una mezcla de gustos acidulados y azucarados. La carne es más o menos aromática según la variedad.

### 2.3.1 Taxonomía y morfología

Familia: *Rosaceae*.

Especie: *Pyrus malus* L.

Porte: El árbol de manzana alcanza como máximo 10 metros de altura y tiene una copa globosa, tronco derecho que normalmente alcanza de 2 a 2,5 metros de altura, con corteza cubierta de lenticelas, lisas, adheridas, de color ceniciento verdoso sobre los ramos escamosos y gris pardo 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 colores 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.

[http://bedri.webcindario.com/Libreta\\_de\\_apuntes/M/MA/Manzano.htm](http://bedri.webcindario.com/Libreta_de_apuntes/M/MA/Manzano.htm)

### **2.3.2 Importancia económica**

El manzano es una de las especies de fruta dulce de mayor difusión a escala mundial, debido fundamentalmente a:

- Su facilidad de adaptación a diferentes climas y suelos.
- Su valor alimenticio y terapéutico.
- La calidad y diversidad de productos que se obtienen en la industria transformadora.

Por proceder de climas muy fríos resiste las más bajas temperaturas, lo que ha permitido cultivarlo a gran escala en todos los países de clima relativamente fríos.

### **2.3.3 Requerimientos edafoclimáticos**

Es más resistente al frío que el peral y no necesita tanta cantidad de calor y luz para la maduración. Sufre menos con el exceso de frío que con el de calor y prefiere los climas húmedos a los secos. Las flores son sensibles a las heladas tardías de primavera, la utilización de riego anti-heladas u otros sistemas de protección son habituales en aquellas zonas con elevado riesgo.

El manzano soporta temperaturas inferiores a los -10 °C, sin que por ello se afecte su corteza, aunque al descender por debajo de los -15 °C pueden perderse algunas yemas florales.

La principal limitación para el cultivo del manzano en comarcas meridionales es el requerimiento de horas frío, por encima de las 1.000 horas frío (en función de las variedades).

Es menos exigente en suelo que el peral, ya que se adapta a la mayoría de los terrenos, aunque prefiere los de aluvión, silíceo-arcillosos, pero de regadío o muy frescos. Por tener el sistema radicular superficial puede vivir en terrenos poco profundos. El agua estancada le resulta perjudicial y tolera el césped mejor que ningún frutal.

#### **2.3.4 Propagación**

Según Biblioteca Agropecuaria. (1984), afirma que el manzano se puede multiplicar por semilla, por injerto y también por estaca, aunque este último método no es recomendable. A la siembra se recurre para obtener patrones francos y nuevas variedades. Se puede hacer el injerto a yema velando o de corona, sobre los siguientes patrones:

Franco: tierras de secano profundas, pero con elevado nivel pluviométrico.

East Malling II (EM-II): es vigoroso (sistema radicular expansivo y penetrante), se recomienda para la mayoría de las variedades comerciales y para su uso en cualquier tipo de suelo, aunque es susceptible del exceso de humedad, por ello le conviene los suelos bien drenados. Su entrada en producción se inicia al segundo o tercer año de plantación según la variedad sobre la que esté injertado. Presenta resistencia marcada a la pudrición del cuello y ligeramente a la agalla de corona, pero no al pulgón lanífero.

East Malling VII (EM-VII): de vigor medio (de inferior desarrollo que el anterior). Sistema radicular de relativa expansión y penetración en el suelo, llega a determinar un buen anclaje en los suelos limosos. Fácil adaptación a suelos húmedos o con elevadas temperaturas. Entra en producción al segundo o tercer año de plantación. Es susceptible a la agalla de la corona y a la pudrición del suelo.

East Malling IX (EM-IX): muy poco vigorosos, conveniente para formar espalderas. Su sistema radicular es de muy limitada penetración y expansión en el suelo, entrando en producción el segundo año de plantación. Es susceptible tanto a la agalla de la corona como al pulgón lanígero, pero relativamente tolerante a la pudrición del cuello y prospera mejor en suelos de elevada temperatura. Además de la serie East Malling formada por más de 15 patrones diferentes, existe la serie Malling Merton. p.p

### **2.3.5 Variedades**

Según Enciclopedia Encarta (2007), indica que, las razas y variedades de manzano son innumerables (pasan del millar), ya que ha acompañado al hombre desde tiempos remotos.

**2.3.5.1 Golden Delicious:** el fruto es grande y de color amarillo dorado, más largo que ancho, con la carne blanca amarillenta, fija, jugosa, perfumada y muy sabrosa. Es una excelente polinizadora para la mayoría de las variedades comerciales.

**2.3.5.2 Red Delicious:** fruto de buen tamaño, de color rojo más o menos intenso, con un punteado amarillo, carne azucarada, jugosa, ligeramente acidulada y muy aromática. Variedad de crecimiento vertical y con tendencia a dar ángulos agudos en la inserción de las ramas

**2.3.5.3 Starking:** es una mutación de Red Delicious. Fruto grande, cónico, con cinco lóbulos alrededor del ojo muy marcado. Carne amarilla crujiente, de sabor muy agradable. Epidermis de color rojo vinoso y con estrías más oscuras. Árbol de buen vigor y fertilidad.

**2.3.5.4 Richared:** es una mutación de Red Delicious. Fruto grande y más coloreado que los anteriores. Carne crocante, fundente, jugosa y perfumada. Es una variedad productiva. Resistente a manipulaciones y transporte

**2.3.5.5 Starkrimson:** es una mutación de la Starking. Fruto grande, de forma tronco-cónica, con las cinco protuberancias características muy pronunciadas. De color rojo brillante.

**2.3.5.6 Reineta blanca del Canadá:** árbol vigoroso y productivo. Fruto de tamaño grande, tronco cónico, globoso ventrudo y aplastado en la base, de contorno irregular con tendencia a la forma pentagonal. Color amarillo limón o verdoso mate; a veces, chapa rojo cobrizo en la insolación. Carne blanco-amarillenta, jugosa, dulce y al mismo tiempo acidulada. Variedad triploide, mala polinizadora; sin embargo, no parecen presentarse casos de marcada esterilidad.

**2.3.5.7 Verde doncella:** árbol de vigor más o menos escaso, muy productivo. Fruto de tamaño mediano, más ancho que alto, de contorno irregular, elíptico, casi siempre rebajado de un lado. Piel acharolada, blanco amarillento, cerosa con chapa sonrosada más o menos viva en la insolación. Carne blanco-verdosa, jugosa, dulce y perfumada.

**2.3.5.8 Galiaxis:** árbol vigoroso con fruto grande, globoso y aplastado en la base.

**2.3.5.9 Belleza de Roma:** fruto grande, estriado, color rojo y amarillo, calidad buena, muy atractiva.

**2.3.5.10 Esperiega de Ademuz:** fruto grande, color amarillo y rojo en la parte que le da el sol; carne firme, jugosa, ligeramente acidulada y de muy buena calidad. Esta variedad casi - ha desaparecido.

**2.3.5.11 Gala:** es una variedad de origen neozelandés resultante del cruce de Kidd 's Orange con Golden Delicious, siendo su cultivo recomendable en zonas de regadío españolas. Los árboles son de producción notable y regular, precisando aclareo químico. Los frutos tienen unos calibres medios de 60-80. La manzana es de coloración amarilla y conviene cosecharla a tiempo para evitar la aparición de grietas en la zona del pedúnculo.

**2.3.5.12 Granny Smith:** es una variedad de origen australiano introducida en España. Los árboles son vigorosos, precoces en la fructificación y muy productivos; tienen tendencia a dar frutos en la extremidad de las ramas, por tanto es importante saber podarlas; prefiere la formación en palmeta.

**2.3.5.13 Variedad Santa Lucía.**

**Figura1: Manzana variedad Santa Lucía**



Fueron principalmente las comunidades religiosas las que trajeron y establecieron estos frutales en Ecuador en el tiempo de la Colonia. Se probaron y cultivaron con éxito algunas variedades cuyo manejo fue variable; razón por la cual, algunos cultivos decayeron y se perdieron. Fue la provincia de Tungurahua la que tuvo el

mérito de mantener e incrementar estos cultivos en especial de la manzana “Emilia” esta variedad fue traída por el Coronel Emilio Terán (a eso se debe el nombre de la manzana).

La Granja Agrícola Santa Lucía ubicada en el sector de San Francisco del Tejar de la ciudad de Ibarra, emprendió un programa experimental de producción de manzana, ciruelo y durazno basado en resultados de la investigación nacional e internacional realizadas por el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), actividades que fueron apoyadas a través del convenio que esta institución realizó con la Cooperación Técnica Suiza (COTETSU).

La Granja Santa Lucía realizó por años un sinnúmero de estudios, requerimientos, contactos, y acopio de experiencias personales para de esta manera hacer posible la gran innovación de la fruticultura en el norte del país. Cabe recalcar, que la manzana Santa Lucía es una mezcla de variedades como: winter banana, jony, princesa, 911, entre otras. Una de las mejores cualidades de esta manzana es su exquisito aroma.

En la actualidad, se domina la modalidad del cultivo, cumpliendo puntualmente la realización de las cuatro estaciones dos veces en cada año, con sus respectivas cosechas.

Existen factores importantes para cada uno de los caracteres físicos, como por ejemplo: para la textura se suministra dosis de calcio; para el sabor potasio, y así sucesivamente para obtener una fruta de excepcionales características.

### **2.3.6 Valor nutricional**

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 (azúcar de la fruta) y en menor proporción, glucosa y sacarosa, de rápida asimilación en el



organismo; son los nutrientes más abundantes después del agua. Es fuente discreta de vitamina E o tocoferol y aporta una escasa cantidad de vitamina C. Es rica en fibra, que mejora el tránsito intestinal y entre su contenido mineral sobresale el potasio. La vitamina E posee acción antioxidante, previene la hemólisis (ruptura de las células sanguíneas como los glóbulos rojos) e interviene en la fertilidad. El potasio, es un mineral necesario para 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.

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.

A continuación se indica la tabla nutricional para la manzana en general, sin tomar en cuenta las variedades; como es lógico existe algo de diferencia entre variedades pero es mínima.

**Cuadro1: Composición nutricional (por 100gr de porción comestible de manzana)**

| <b>Energía (Kcal.)</b> | <b>Agua (ml)</b> | <b>Hidratos de carbono (g)</b> | <b>Fibra (g)</b> | <b>Potasio (mg)</b> | <b>Magnesio (mg)</b> | <b>Pro vitamina A (mcg)</b> | <b>Vit. C (mg)</b> | <b>Vit. E (mg)</b> |
|------------------------|------------------|--------------------------------|------------------|---------------------|----------------------|-----------------------------|--------------------|--------------------|
| 40,6                   | 73,5             | 10,5                           | 2,3              | 100                 | 5,6                  | 4                           | 12,4               | 0,4                |

<http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/guia-alimentos/frutas-y-derivados/2004/09/02/108242.php>

## 2.4 FERMENTACIÓN

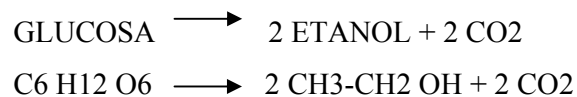
### 2.4.1 Definición bioquímica

Según, Blouin J (1992), es el proceso metabólico mediante el cual ciertos microorganismos, por medio de sus enzimas, oxidan los hidratos de carbono y sustancias relacionadas, liberando energía en ausencia de oxígeno.

La palabra fermentación proviene del latín "fervere" que significa "hervir"

### 2.4.2 Compuestos producidos durante la fermentación alcohólica.

**Glucosa** → Glucólisis → **Ácido pirúvico** → F. alcohólica → **Etanol y CO<sub>2</sub>**



**2.4.2.1 Principales:** etanol y anhídrido carbónico.

**2.4.2.2 Secundarios:** - Glicerol

- Ácidos orgánicos, aldehídos, cetonas, etc.
- Alcoholes superiores
- Esteres entre alcoholes y ácidos orgánicos
- Otros

Según González y Jover (2002), afirman que entre los productos minoritarios de la fermentación alcohólica están los siguientes:

- a) **Alcoholes superiores:** se denominan alcoholes superiores a aquellos que tienen más de dos átomos de carbono y que cuantitativamente forman la fracción más importante de los componentes minoritarios. Son integrantes del llamado aceite de fúsel, líquido amarillo, volátil, aceitoso, con olor desagradable y sofocante.

El 75% de los alcoholes superiores (isobutílico, isoamílico, amílico) son formados de azúcares y el 25% por desaminación oxidativa de los aminoácidos.

Las células de levaduras remanentes sintetizan alcoholes superiores por rutas comunes en ciertas reacciones con la síntesis de aminoácidos homólogos. Los aminoácidos pueden provenir de las mieles y, en menor proporción, de las proteínas de las células de la levadura. Se plantea que la calidad de alcohol isoamílico es más de 50% del total de los cuatro alcoholes que componen el aceite de fúsel.

Los alcoholes superiores están formados principalmente por alcoholes amílico e isoamílico y en menor proporción por alcoholes isobutílico, n-butílico, isopropílico y n-propanol. El 50% de estos lo compone el alcohol isoamílico. Las proporciones en que aparecen dependerán de la composición del sustrato y las condiciones del proceso, pero cuando se emplea miel final se obtienen concentraciones de 0.2 a 1.1 %.

En la destilación del aguardiente están presentes en la cola del destilado, ya que estos presentan puntos de ebullición elevados: n-propanol 97.4 °C, n-butanol 117.4 °C, isobutanol 108 °C, n-pentanol 138 °C, amílico 128 °C, e isoamílico 130 °C.

- b) Otros alcoholes:** el metanol es formado en jugo de frutas en pequeñas cantidades por el desarrollo de pectinas por el metil pectina esterasa. Por lo que si ocurre en vino pero también es un producto de la fermentación alcohólica. Alcoholes alifáticos con más de dos carbonos son a menudo nombrados aceites de fusel. Estos contribuyen en importancia al sabor de vinos, aguardientes y rones.
- c) Aldehídos:** el acetaldehído es el aldehído mas ampliamente encontrado durante la fermentación alcohólica. El acetaldehído se forma por oxidación enzimática del etanol.

La cantidad de acetaldehído remanente en el vino es pequeña en comparación con la cantidad total formada durante la fermentación y convertida enzimáticamente en etanol. Finalmente hay una pequeña pero medible oxidación de etanol a acetaldehído si el vino es almacenado por períodos de tiempo prolongados en presencia de aire.

La producción de acetaldehído durante la fermentación ocurre principalmente durante la primera etapa y paralela, en la mayoría de los casos, a la formación de etanol.

Las condiciones anaerobias que prevalecen durante la fermentación muestran las características de acumulación de acetaldehído durante la primera etapa de la fermentación y su desaparición durante la última etapa. Bajo las condiciones anaerobias la concentración de acetaldehído se incrementa grandemente hacia el final de la fermentación. En la presencia de aire la oxidación de etanol a acetaldehído por las células de levaduras “remanentes” tiene lugar.

- d) Esteres:** los ésteres se forman mediante la reacción de esterificación entre los alcoholes y los ácidos orgánicos presentes en la batición. Por otra parte, se plantea que el origen de los esterres se debe a un proceso biosintético, realizado por la levadura, con la activación de la fracción ácida de los compuestos acetil. La fragmentación del grupo ácido puede ocurrir mediante una alcoholisis principalmente con el etanol, para formar un éster, o por una hidrólisis para formar un ácido libre. Con la adición de 2-metil propanol y 2-metil butanol, por ejemplo, a una solución azucarada fermentada por *S. cerevisiae* provoca la formación de acetato de isobutilo y acetato de isoamilo respectivamente. Por otra parte, siempre que la concentración de alcohol propílico es apreciable, se encontró que es capaz de interrumpir la síntesis de ácidos carboxílicos de cadena larga, evitando la aparición de los esterres de los mismos durante la fermentación, mientras que el acetato de propilo se produce en abundancia.

e) **Ácidos:** los ácidos se clasifican en ácidos volátiles y fijos. Los volátiles son determinados después de una destilación e incluye ácido fórmico, acético, propiónico, butírico, láctico y trazas de otros ácidos grasos.

La distinción entre las dos clases de ácidos esta basada en la técnica analítica empleada para la determinación. Altas concentraciones de ácidos volátiles (la mayoría es ácido acético) no es deseada para los vinos de frutas e indica que la acetificación ha tenido lugar. La acidez titulable, la cual incluye acidez volátil y fija, es usualmente expresada como ácido tartárico. Los ácidos principales del vino son ácido tartárico y málico (en vino de uva). El ácido pirúvico es también producido como un derivado de la fermentación alcohólica; el ácido acético es el principal ácido orgánico formado, la vía fundamental de formación de estos ácidos orgánicos es por el propio mecanismo biosintético de la levadura, donde el acetil da inicio al proceso. Se produce la descarboxilación oxidativa del ácido pirúvico en el catabolismo aerobio de los carbohidratos fermentables para dar la acetil mediante la acción del complejo de la piruvato deshidrogenasa, la acetil luego, se transforma en malonil y por ultimo interviene el complejo multienzimático de la sintetasa de ácidos grasos.

### **2.4.3 Levaduras, en la fermentación alcohólica**

Vervina (1988) manifiesta que las levaduras son los microorganismos mas utilizados para la producción de etanol por la vía fermentativa, debido a que producen un mejor proceso de separación después de la fermentación, además, producen un contenido de toxinas muy inferior a otro microorganismos. Entre los géneros mas utilizados están: *Saccharomyces cerevisiae*, *S. ellipsoideus*, *S. anamensis*, *Candida seudotropicalis*, *S. carlsbergensis*, *Kluyveromyces marxianus*, *Candida bytyrii*, *Pichia stipatis*, entre otros.

Las levaduras son hongos unicelulares de tamaño microscópico. En una pequeña gota de mosto fermentando se calcula que hay alrededor de 5 millones de unidades actuando. Son las que transforman el azúcar en alcohol.

En esta fermentación hay dos procesos diferentes, según se va consumiendo el oxígeno que transporta el mosto:

**2.4.3.1 En condiciones aeróbicas** (Presencia de oxígeno) existe una abundancia de éste elemento que reacciona con el azúcar, en este momento son las levaduras oxidativas las que realizan el siguiente proceso:



Azúcar + oxígeno → agua + gas carbónico + calor

Como se observa, se transforma el azúcar junto con el oxígeno en agua y gas carbónico.

**2.4.3.2 En condiciones anaeróbicas** (Sin oxígeno o en pequeñas cantidades): El oxígeno transportado por el mosto ya se ha consumido, por lo que no puede reaccionar con el azúcar, son las levaduras fermentativas las que producen el siguiente proceso:



Azúcar → etanol (alcohol) + gas carbónico + calor

En este caso, baja el calor generado, así como la producción de gas carbónico, sin embargo aparece el alcohol.

La actividad de estas levaduras fermentativas finaliza cuando la concentración alcohólica alcanza el 4,5% al no poder soportar tal concentración, las levaduras ceden ante las bacterias ya que estas soportan mucho mejor las condiciones creadas, estas acabarán con el azúcar residual dejado por las levaduras.

Web en línea <http://www.argia.com/sagazte/htdocs/proceso4.html>

Según Betancourt (2001), el microorganismo preferido para la producción de alcohol etílico es la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Presenta las siguientes características:

- Es una célula heterotrófica, por lo tanto incapaz de usar la energía solar o de compuestos orgánicos simples para obtener energía para sintetizar sus componentes más complejos.
- Forma redonda o ligeramente ovalada.
- Reproducción por gemación multilateral (a través de su membrana celular se forma una célula hija)
- Fermenta la glucosa, sacarosa, maltosa y en cierta proporción la galactosa.
- No fermenta la lactosa

Según, Beech, (1972) menciona que, durante la fermentación alcohólica, las levaduras dominantes del proceso pertenecen al género *Saccharomyces*. Sin embargo, las levaduras de este género no son predominantes en la superficie de la fruta. La contaminación superficial de las manzanas es de alrededor de  $10^6$  microorganismos por fruto, siendo *Aureobasidium pullulans*, *Rhodotorula* spp, *Candida* spp, *Metschnikowia* spp. y *Kloeckera apiculata* las levaduras predominantes.

Por lo tanto, al comienzo de las fermentaciones espontáneas predominan estas especies. Existen argumentos a favor y en contra de las fermentaciones espontáneas

Según, Suárez-Valles (2004) dice, que el principal argumento a favor indica que en estas fermentaciones se consiguen características organolépticas típicas de la zona que no estarían presentes si se utilizara un inóculo de cepas foráneas. Sin embargo la calidad del producto es variable y se corre el riesgo de que ocurran fermentaciones no deseadas causadas por otros microorganismos predominantes.

El uso de cultivos iniciadores, constituye una herramienta importante para estandarizar el producto.

Las levaduras seleccionadas con este fin deben presentar una serie de características que las hagan adecuadas para la producción industrial de sidra.

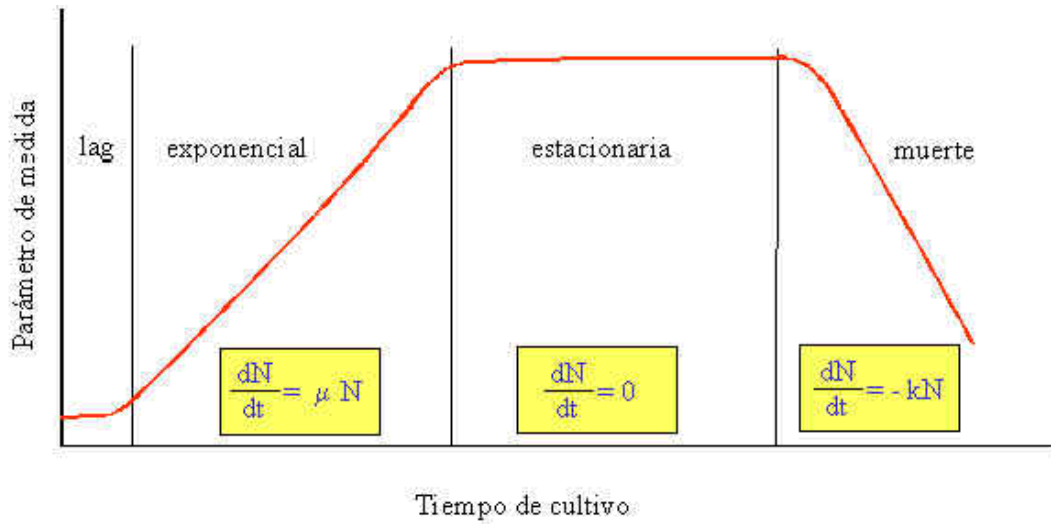
- Deben ser tolerantes a concentraciones de etanol igual o superior al 5%, pero deben morir a concentraciones de etanol de 9%. Estas concentraciones son los límites mínimo y máximo permitidos en la legislación para sidra respecto al contenido alcohólico.
- Deben tener buena velocidad de producción de etanol a la temperatura de uso, siendo capaces de fermentar la mayor cantidad de azúcares disponibles.
- Es necesario que produzcan baja concentración de ácido sulfídrico y baja cantidad de espuma en las condiciones de fermentación.
- Es importante también que presenten un fenotipo killer o no sensible para poder imponerse en fermentaciones competitivas.
- Se debe considerar además que la adición de metabisulfito es una práctica común, en la fabricación de sidra, como forma de evitar el crecimiento de organismos no deseados que puedan consumir los nutrientes necesarios para la producción de etanol. Por lo tanto las cepas seleccionadas deben ser capaces de crecer en presencia de metabisulfito.

#### **2.4.4 Ciclo de crecimiento de las levaduras**

En el ciclo de crecimiento de levaduras, se distinguen cuatro fases



**Figura 2: Ciclo de crecimiento de las levaduras**



<http://www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%2002.%20Cultivo%20de%20microorganismos.pdf>

**2.4.4.1 Fase de latencia:** El número de levaduras no aumenta, pues las levaduras no se dividen se están adaptando al medio fermentativo.

**2.4.4.2 Fase de crecimiento exponencial:** Luego de transcurrido el tiempo de adaptación, el número de levaduras aumenta rápidamente.

**2.4.4.3 Fase estacionaria:** En el momento en que el sustrato se agota, cesa la fase de crecimiento, y el número de levaduras permanece más o menos estable por un determinado tiempo.

**2.4.4.4 Fase de muerte o declive:** Cuando el sustrato se acaba, la cantidad de células vivas, experimenta una disminución progresiva; las pocas levaduras que quedan, deben terminar de transformar los últimos azúcares del mosto cada vez en condiciones más adversas; puesto que el mismo alcohol producido es un factor para la muerte de las levaduras.

## **2.4.5 Sustancias presentes en el mosto**

### **2.4.5.1 Ácidos**

La acidez del mosto está formada en su mayor parte por ácidos carboxílicos: ácido málico y muy pequeñas proporciones de ácido cítrico.

### **2.4.5.2 Sustancias fenólicas**

La cantidad de sustancias fenólicas de la manzana varía mucho de unas variedades a otras, y sobre todo de la producción de un año a otro.

### **2.4.5.3 Sustancias pépticas**

En las manzanas maduras, estas sustancias se encuentran en un estado soluble, mientras que en las manzanas verdes se encuentran en un estado insoluble.

### **2.4.5.4 Azúcar**

La transformación del azúcar es lo que le va dar a la sidra su carácter alcohólico.

## **2.4.6 Otras sustancias**

### **2.4.6.1 Sustancias nitrogenadas.**

Su presencia moderada es necesaria tanto en cuanto las levaduras y las bacterias lo necesitan para su correcto desarrollo y nutrición. Su presencia en sidras ya fermentadas se considera negativa ya que fomenta la actividad de bacterias y gérmenes que no tienen nada que ver con la fermentación. Su presencia en la manzana es directamente proporcional al uso que se le ha dado al abonado del manzanal.

### **2.4.6.2 Microorganismos en el mosto**

En los mostos abundan gérmenes diversos, principalmente hongos unicelulares (mohos), bacterias acidófilas y levaduras. El comportamiento de cada una de ellos es muy variable en función de diferentes circunstancias:

- Composición del mosto.
- Cantidad de oxígeno disponible.
- Temperatura.
- Presión.
- Iluminación.
- pH del mosto.

Las concentraciones entre 0,2 y 1,5% de azúcar son ideales para las bacterias lácticas, sin embargo para las levaduras les resulta indiferente. En concentraciones de 15 y 20% las levaduras lo soportan bien, siendo letal si se llega a concentraciones del 35%. Las sustancias de deshecho de metabolismo de los microorganismos, es decir, el alcohol (que en realidad son sus heces), son perjudiciales para sí mismos, hay levaduras oxidativas y levaduras salvajes (las que vienen con la piel de la manzana) que ralentizan su actividad cuando la concentración alcohólica alcanza el 4%, situación que viene agravada con la insuficiencia de oxígeno, que ha sido sustituido por anhídrido carbónico.

## **2.5 SULFITACION**

Según, Navarre y Navarre (1998) indica que el metabisulfito de Potasio en la producción de vinos y sidra es muy utilizado. Se usó de manera extensiva en la industria sidrera inglesa para controlar la microflora de las manzanas, minimizar la oxidación de los componentes del jugo, y para prevenir cambios oxidativos durante el almacenamiento e infecciones secundarias, después de la fermentación.

Las levaduras son de dos tipos: unas negativas, o salvajes, que se bloquean por el sulfuroso y otras, las fermentantes, que no se alteran.

Con 2 gramos de metabisulfito de potasio se suministra 1 gramo de anhídrido sulfuroso y tan solo la forma libre del SO<sub>2</sub> presenta actividad antimicrobiana; en mosto se recomienda usar de 10 a 30 g /Hectolitro.

Según Ribereau-Gayon (2003), indica que una gran parte del ión bisulfito (HSO<sub>3</sub>) se combina con otros compuestos:

Acetaldehído: la parte mas importante del SO<sub>2</sub> combinado.

Ácidos cetónicos: ácido pirúvico, y ácido alfa cetoglutárico.

Azúcares y derivados de azúcares (ácido galacturónico, etc.)

Algunos de los efectos que el sulfitado tiene sobre las características y la calidad son los siguientes:

- Inhibe las fermentaciones desacidificadoras
- Mayor grado alcohólico
- Buena conservación de ácidos orgánicos.
- Acidez volátil menor.
- Combinación con acetaldehído y otros compuestos: protección del aroma.

Por otro lado, también el SO<sub>2</sub> remanente en el mosto, produce un mal gusto, y puede ser tóxico para el hombre. En grandes cantidades, puede formarse por reducción, ácido sulfuroso el cual presenta un olor a huevos podridos, que en combinación con etanol forma mercaptanos (C H HS), con olor a bota de agua sucia, o sudor. El sulfatado afecta la velocidad de la fermentación reduciendo aproximadamente 48 horas el tiempo de la misma.

La Norma Mexicana para bebidas alcohólicas, sidra natural y gasificada (NMX-V-011-NORMEX-2002), establece como límite máximo de sulfito total presente en el producto terminado, 150 mg/l.

Por tanto, es posible hacer vino sin aplicar sulfuroso, pero es imposible hacer vino que no contenga sulfuroso.

## **2.6 DESTILADO**

La destilación es un proceso que consiste en calentar una sustancia, normalmente un líquido, para que sus componentes más volátiles pasen a estado gaseoso o de vapor y a continuación volver esos componentes al estado líquido mediante condensación por enfriamiento.

De acuerdo con Hamptel y Mawley (1986), la destilación es la operación mediante la cual se separan uno o varios componentes de una mezcla líquida, generalmente el líquido se calienta en un balón y los vapores se hacen pasar a un refrigerante donde se condensan; el líquido obtenido, es recogido después.

### **2.6.1 Principio de destilación**

Earle (1979), manifiesta que la destilación se basa en las diferencias que existen entre los puntos de fusión del agua (100 °C) y el alcohol (78.3 °C). Si un recipiente que contiene alcohol es calentado a una temperatura que supera los 78.3 °C, pero sin alcanzar los 100°C, el alcohol se vaporizará y separará del líquido original, para luego juntarlo y recondensarlo en un líquido de mayor fuerza alcohólica.

El requerimiento básico para la separación de los componentes por destilación consiste en que la composición del vapor sea diferente de la composición del líquido con el cual está en equilibrio el punto de ebullición de este último. La destilación se basa en soluciones en las que todos los componentes son bastante volátiles, como soluciones amoníaco-agua o etanol-agua donde ambos componentes estarán también, en la fase vapor. Sin embargo, al evaporar una solución de sal-agua, el agua se vaporiza pero la sal, no.

## **2.6.2 Normas básicas de destilación**

El principio de la destilación es simple; básicamente es la separación de un líquido que contiene alcohol, el alcohol se evapora a partir de 78 °C y el agua a los 100 °C. El resultado de cualquier destilación se divide en tres fases: Cabeza – cuerpo o corazón – colas.

Las sustancias más volátiles son las primeras en salir por cuanto tienen puntos de ebullición más bajos, estos son la cabeza del destilado; contiene sustancias como: metanol, acetona y varios tipos de ésteres tales productos pueden producir ceguera y hasta la muerte si son ingeridos. Para evitar que las cabezas contaminen al producto, hay que tener un adecuado control en la temperatura; pues estas tienen su punto de ebullición a los 55 °C; normalmente tienen sabor amargo.

La parte más importante de la destilación es el cuerpo, mismo que tiene su ebullición a partir de 78 hasta 82 °C a una concentración de 45 a 65% de alcohol. El cuerpo es reconocido por su color que es totalmente transparente.

Las colas contienen alcoholes con puntos de ebullición más altos como alcoholes superiores y furfurales que producen mal sabor al destilado.

## **2.6.3 Relaciones de equilibrio.**

Earle (1979), manifiesta que en la destilación, las relaciones de equilibrio, están gobernadas por las presiones de vapor relativas de los componentes de la mezcla. Las dos corrientes entre las que se distribuyen los componentes, son el líquido y el vapor producido. Las sucesivas condensaciones revaporizaciones se consiguen con una columna de rectificación que suministra los dos estados de contacto en los que se alcanza la distribución de equilibrio o al menos se aproxima a ella.

#### 2.6.4 Métodos de destilación.

- a) **Destilación fraccionada:** La destilación fraccionada es un proceso de destilación de mezclas muy complejas y con componentes de similar volatilidad. Consiste en que una parte del destilado vuelve del condensador y gotea por una larga columna a una serie de placas, y que al mismo tiempo el vapor que se dirige al condensador hace burbujear al líquido de esas placas. De esta forma, el vapor y el líquido interactúan de forma que parte del agua del vapor se condensa y parte del alcohol presente en el líquido se evapora.

La Enciclopedia Salvat (1980), indica, que si los puntos de ebullición de dos líquidos de una mezcla son próximos, el alambique sencillo, solo permite una separación incompleta; pero si se alarga ese alambique, alejando la cabeza de descarga de la zona calefactora mediante una columna, la separación es más precisa. Esto se debe al hecho de que se establece un gradiente de temperatura (es decir una reducción de éstas con la distancia) entre la parte baja, más caliente, y la superior, más fría. A medida que el vapor asciende por la columna, de modo que este líquido desciende de nuevo a la zona de caldera; es el denominado reflujo. En cada punto de la columna, el líquido que desciende se halla en contacto con el vapor que se eleva gradualmente; el vapor se hace más rico con los componentes más volátiles (sustancias con el punto de ebullición bajo) mientras que, las fracciones menos volátiles se condensan. El líquido que se queda se va concentrando en los componentes menos volátiles.

La eficacia de este procedimiento depende de que el vapor y el líquido de la columna estén siempre en íntimo contacto entre sí. En el laboratorio, las columnas suelen rellenarse con pequeños objetos de vidrio, cerámica o metal de cualquier forma posible.

Las columnas son de distintos tamaños y formas; todas las variantes, pretenden aumentar al máximo el contacto entre vapor y líquido, ya que con ello crece la eficacia del fraccionamiento.

La destilación fraccionada es tan eficaz que incluso el aire licuado, puede separarse por este procedimiento; no solo para producir oxígeno y nitrógeno sino que se llega a separar los gases inertes, mismos que son recuperados en cantidades comerciales.

Este tipo de destilación como la mayoría, tiene varios problemas; uno de ellos es que se producen mezclas de punto de ebullición constante, denominadas azeotrópicas; las cuales destilan totalmente sin experimentar cambios de composición (su punto de ebullición es superior o inferior a cualquiera de los componentes) Ejemplo: alcohol rectificado, que contiene 95% de alcohol etílico y 5% de agua. Para conseguir alcohol puro, debe añadirse un tercer componente: el benceno que destila por completo y arrastra consigo toda el agua, dejándole alcohol anhidro

- b) Destilación directa:** Según Enciclopedia Salvat (1980), manifiesta que este tipo de destilación se efectúa en un tipo de aparato destilador o alambique, donde se calienta el líquido, y un condensador, que licua el vapor y traslada el líquido obtenido hasta un recipiente de recogida. Aparatos de tanta simplicidad, solo se emplean para separar un líquido de un sólido o dos líquidos que tengan puntos de ebullición diferentes.
  
- c) Destilación al vacío:** Muchas sustancias no pueden purificarse por destilación a la presión ordinaria, por que se descomponen a temperaturas cercanas a su punto de ebullición normal, en otros casos la destilación requiere de inmensas inversiones o utilización de energía en gran cantidad, o finalmente poseen problemas de equilibrio líquido-vapor, en consecuencia se emplea el método de destilación al vacío o a presión reducida. Sabemos que un líquido empieza a hervir cuando su presión de vapor iguala a la presión atmosférica o de operación, por lo tanto si reducimos la presión de operación tendremos la ebullición a temperaturas bajas, esta no incluye a la destilación fraccionada.



**d) Destilación por arrastre de vapor:** Es una técnica que sirve fundamentalmente para separar sustancias insolubles en agua y literalmente volátiles, de otros productos no volátiles mezclados con ellas. Este método es un buen sustituto de la destilación al vacío, y tiene algunas ventajas, ya que la destilación se realiza a temperaturas bajas. El comportamiento de la destilación de un sistema de dos fases inmiscibles, donde cada líquido ejerce su propia presión de vapor y la suma de ambas es de la presión de operación, y son independientes de las cantidades relativas de la mezcla. Estos hechos constituyen la base para la purificación de sustancias por el arrastre de una corriente de vapor. Existen varios compuestos orgánicos de punto de ebullición relativamente alto que con agua se destilan en una cantidad en peso lo suficientemente grande para ser destilados con cierta rapidez por debajo del punto de ebullición del agua. Esto se debe a sus pesos moleculares relativamente elevados comparados con las del agua.

Este procedimiento se utiliza para destilar compuestos orgánicos inmiscibles con el agua y que tienen una presión de vapor importante a 100°C (punto de ebullición del agua) pero son propensos a descomponerse u oxidarse cuando se calientan a sus propios puntos de ebullición. La anilina es un ejemplo conocido.

**e) Destilación molecular centrífuga:** Si una columna larga que contiene una mezcla de gases se cierra herméticamente y se coloca en posición vertical, se produce una separación parcial de los gases como resultado de la gravedad. En una centrifugadora de alta velocidad, o en un instrumento llamado vórtice, las fuerzas que separan los componentes más ligeros de los más pesados son miles de veces mayores que las de la gravedad, haciendo la separación más eficaz. Por ejemplo, la separación del hexafluoruro de uranio gaseoso, UF<sub>6</sub>, en moléculas que contienen dos isótopos diferentes del uranio, uranio 235 y uranio 238, puede ser llevada a cabo por medio de la destilación molecular centrífuga.

- f) **Sublimación:** Si se destila una sustancia sólida, pasándola directamente a la fase de vapor y otra vez a la fase sólida sin que se forme un líquido en ningún momento, el proceso se llama sublimación. La sublimación no difiere de la destilación en ningún aspecto importante, excepto en el cuidado especial que se requiere para impedir que el sólido obstruya el aparato utilizado. La rectificación de dichos materiales es imposible. El yodo se purifica por sublimación.
- g) **Destilación destructiva:** Según Geankoplis (1986), afirma que cuando se calienta una sustancia a una temperatura elevada, descomponiéndose en varios productos valiosos, y esos productos se separan por fraccionamiento en la misma operación, el proceso se llama destilación destructiva. Las aplicaciones más importantes de este proceso son la destilación destructiva del carbón para el coque, el alquitrán, el gas y el amoníaco, y la destilación destructiva de la madera para el carbón de leña, el ácido etanoico, la propanona y el metanol. Este último proceso ha sido ampliamente desplazado por procedimientos sintéticos para fabricar distintos subproductos. El craqueo del petróleo es similar a la destilación destructiva.

### 2.6.5 Destilación de calvados

Para elaborar calvados, se lleva a cabo un proceso de destilación simple de tipo discontinuo (de carga y descarga) Es una destilación simple, puesto que los componentes de la disolución (mosto fermentado = agua + alcohol) mismos que tienen puntos de ebullición diferentes entre si.

Los procesos de destilación están íntimamente relacionados a la volatilidad relativa que es la relación entre la presión parcial de vapor y su concentración en la fase líquida.

Según Geankoplis (1986), afirma que se denomina destilación discontinua o simple, ya que, se lleva a fuego una mezcla líquida, (jugo fermentado) durante un lapso de tiempo de 7 a 9 horas, dependiendo de la cantidad de alcohol producido y se condensan los vapores resultando el producto del destilado, en la olla de carga, queda los residuos que contienen agua principalmente.

### **2.6.6 Descripción del alambique**

El equipo usado para la destilación de esta investigación, es un alambique tipo pera, construido de cobre en su totalidad, consta de una caldera de 50 litros de capacidad, un condensador prolongado en un cuello de cisne, un condensador refrigerante cilíndrico (que tiene tanto entrada como salida de agua) provisto en su interior de un serpentín conectable al cuello de cisne, y con salida para el destilado ubicado en la parte inferior.

El funcionamiento de este como de todos los destiladores, se basa en el mismo principio; en la caldera se calienta el fermento a destilar llevándolo a ebullición; el vapor asciende por el cuello de cisne y se condensa en la cuba refrigerante fruto de esto se obtiene el destilado.

En la antigüedad, el destilado se hacía en la ribera de los ríos por la facilidad del recurso hídrico, puesto que se usa dicho elemento en cantidades significativas.

**Figura 3: Alambique tipo pera**



### **2.6.7 Cata de licores**

Cata es considerada un arte y a su vez una técnica; es someter al licor a los sentidos para analizarlo, estudiarlo, describirlo, calificarlo y clasificarlo.

Las personas que realizan esta actividad deben tener un continuo ejercicio para desarrollar la memoria sensorial y poder distinguir los diversos tipos de licores de esta manera adquirir la educación apropiada para poder expresar de forma correcta las sensaciones percibidas.

Para que los sentidos se encuentren en buen estado, hace falta entrenarlos, para tener en la mente recuerdos sensoriales; no hace falta observar la etiqueta, botella u otros aspectos, solo concentrarse en las sensaciones recibidas y poder catalogar el tipo de licor.

La cata busca estudiar los aspectos positivos (calidades) y negativos (defectos) de un producto. Es valorar con los sentidos la calidad del licor; si bien es cierto que no todas las personas pueden ser catadores, ya que debe tener desarrollados los sentidos sobre todo tener estrictos hábitos alimenticios para de esta manera no afectarlos.

#### **2.6.7.1 Introducción a la catación**

Las personas que vayan a realizar una catación deben seguir las siguientes recomendaciones para proceder durante su degustación.

##### **a) Análisis visual**

En este proceso se determinará la calidad organoléptica en tres aspectos principales: color, limpieza, brillantez.

En cuanto al color, debe estar absolutamente incoloro, si existiera alguna coloración denotan contaminación con elementos ajenos a la elaboración del licor.

La limpieza y brillantez se determinan según la presencia de turbidez en el producto.

### **b) Análisis olfativo**

Este aspecto se refiere a los aromas; para este análisis se lo hace de tres formas:

- Olores obtenidos con la copa en reposo: así se puede apreciar los olores más sutiles y los posibles olores extraños
- Olores obtenidos al mover la copa: de esta manera incrementa la evaporación permitiendo apreciar una mayor variedad de sensaciones aromáticas
- Olores obtenidos de la copa vacía: es mínima la presencia de alcohol y los aromas fluyen en menor cantidad del licor que aún se esta evaporando.

En el licor se puede dividir tres tipos de aromas: Primarios, los cuales provienen directamente de la materia prima que se uso en la fermentación. Secundarios, provenientes del proceso fermentativo. Terciarios, los cuales son adquiridos durante la destilación.

### **c) Análisis gustativo**

Los sabores sólo se perciben en la lengua a través de las papilas gustativas; hay cuatro impresiones que se destacan:

Dulces: en la punta de la lengua (azúcares, glicerina, alcohol)

Salados: en la parte lateral y superior de la lengua (sales minerales, ácidos orgánicos, etc.)

Ácidos: partes laterales y bajo la lengua (tartárico, málico, cítrico, acético, láctico)

Amargo: en la parte trasera de la lengua (compuestos fenólicos, taninos)

De estos cuatro sabores sólo el dulce es agradable; los demás son aceptados siempre que se encuentren mezclados equilibrándose entre sí.

# **CAPÍTULO III**

## 3 MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.1 MATERIA PRIMA E INSUMOS

#### a) Materia prima:

- Manzana (variedad Santa Lucía)

#### b) Insumos:

- Agua potable
- Levadura *Saccharomyces cerevisiae*
- Metabisulfito de potasio
- Azúcar

#### 3.1.1 Materiales y equipo de laboratorio

- Agitador
- Alambique tipo pera
- Alcoholímetro
- Balanza electrónica
- Botellas de vidrio 750 ml
- Cámara de recuento (Petroff-hausser)
- Cocina
- Cromatógrafo de gases
- Frascos plásticos para toma de muestra.
- Licuadora
- Microscopio óptico binocular
- Pipeta volumétrica de 1ml



- Probeta graduada de 100 ml
- Refractómetro
- Recipientes plásticos para fermentación
- Tapas rosca

## **3.2 MÉTODOS**

### **3.2.1 Localización del experimento**

#### **3.2.1.1 Trabajo experimental**

Provincia: Imbabura  
 Cantón: Ibarra  
 Parroquia: Caranqui  
 Lugar: Residencia particular.  
 Temperatura promedio: 17 °C  
 Precipitación anual: 625 mm  
 Altitud: 2225m.s.n.m.  
 Humedad Relativa: 60%

#### **3.2.1.2 Análisis de laboratorio**

Provincia: Imbabura  
 Cantón: Ibarra  
 Parroquia: El Sagrario  
 Lugar: ILENSA  
 Temperatura promedio: 17 °C  
 Precipitación anual: 625 mm  
 Altitud: 2225 m.s.n.m.  
 Humedad Relativa: 60%  
 Fuente: Instituto Geográfico Militar.

## **3.3 FACTORES EN ESTUDIO**

**Factor A:** Cantidad de Metabisulfito de potasio

- M1: 0.15 g/l
- M2: 0.25 g/l

- **Factor B:** dosis de levadura *Saccharomyces cerevisiae*
- L1: 0.5 g/l levadura
- L2: 1 g/l levadura
- L3: 1.5 g/l levadura

### 3.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

#### 3.4.1 Tipo de Diseño

Para este estudio, se realizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con arreglo factorial AXB+1, obteniendo de ésta manera 7 tratamientos en total.

#### 3.4.2 Tratamientos

Los tratamientos aplicados al proceso de fermentación fueron seis; los mismos que resultaron de la respectiva combinación entre los factores de estudio y un tratamiento al cual no se le aplicó ninguno de los factores.

Los siete tratamientos en total, se les detalla a continuación:

**Cuadro 2: Tratamientos**

| TRATAMIENTOS | NOMENCLATURA |
|--------------|--------------|
| T1           | M1L1         |
| T2           | M1L2         |
| T3           | M1L3         |
| T4           | M2L1         |
| T5           | M2L2         |
| T6           | M2L3         |
| T7           | Testigo      |

### 3.4.3 Características del experimento

- Número de tratamientos 7
- Número de repeticiones 3
- Unidades Experimentales 21

### 3.4.4 Esquema del Análisis de Varianza

**Cuadro 3: Esquema ADEVA**

| <b>FUENTES DE VARIACION</b> | <b>GRADOS DE LIBERTAD</b> |
|-----------------------------|---------------------------|
| TOTAL                       | 20                        |
| TRATAMIENTOS                | 6                         |
| FACTOR A                    | 1                         |
| FACTOR B                    | 2                         |
| FACTOR AXB                  | 2                         |
| TESTIGO VS OTROS            | 1                         |
| ERROR EXPERIMENTAL          | 14                        |

### 3.4.5 Análisis funcional

Se efectuaron las siguientes pruebas de significación

Para tratamientos: prueba de Tuckey al 5%

Para factores: diferencia mínima significativa (DMS)

### 3.4.6 Unidad Experimental

Se consideró como unidad experimental, al volumen de 25 litros de mosto de manzana; las manzanas fueron de pequeño tamaño pero con buenas características.

### **3.4.7 Variables evaluadas**

#### **3.4.7.1 Variables Cuantitativas**

##### En el mosto

- Determinación de curvas de crecimiento de levaduras.
- Variación de grados brix.
- Grado alcohólico del mosto.

##### En el calvados

- Grado alcohólico
- Evaluación físico-química

#### **3.4.7.2 Variables Cualitativas**

- Aroma
- Color
- Sabor

### **3.5 MANEJO ESPECÍFICO DEL EXPERIMENTO**

#### **3.5.1 Descripción del proceso para obtención de calvados**

##### **3.5.1.1 Recepción de materia prima**

Las manzanas se recopilaban en el lugar de producción (San Francisco de Tejar) y se las transportó al lugar donde se realizó la fase experimental. Las manzanas utilizadas fueron aquellas de buen aspecto, pero que no contaban con el tamaño adecuado para su comercialización.

##### **3.5.1.2 Lavado y pesado**

Una vez observada detenidamente la materia prima, y cortando, si hubiese alguna parte afectada, se procedió a lavar la fruta usando un recipiente y agua potable seguidamente se retiró el pedúnculo así como también las semillas que tiene en

su interior, puesto que si estas entraran a la fermentación, se producirá compuestos no deseados en la misma.

### **3.5.1.3 Dilución**

Para seguir con el proceso, es necesario realizar una dilución para lo cual se utilizó 70% fruta y 30% agua potable.

### **3.5.1.4 Licuado**

Se licuó la manzana con el propósito de facilitar la fermentación y también para separar la corteza de la pulpa de la fruta, ya que es en ésta donde se encuentra la mayoría de aromas y no en la fruta misma.

### **3.5.1.5 Ajuste de grados brix**

Para iniciar la fermentación, se ajustó los grados Brix del jugo, hasta un valor constante de 13 °Brix, esto se consiguió con la utilización de un refractómetro y el uso de una fórmula para dicho ajuste, la misma que se detalla a continuación:

$$^{\circ}\text{Brix} = \frac{\text{Cantidad jugo } (^{\circ}\text{Brix obtenido} - ^{\circ}\text{Brix deseado})}{100 - ^{\circ}\text{Brix deseado}}$$

### **3.5.1.6 Acondicionamiento**

El acondicionamiento del jugo de manzana, consistió en añadir la cantidad de metabisulfito de potasio indicada según el factor en estudio; previamente disuelta en un volumen de 10 ml de agua potable.

### **3.5.1.7 Inoculación**

Al jugo de manzana acondicionado, se inoculó una cepa de levadura *Saccharomyces cerevisiae* tipo granulada seca. La cantidad de levadura usada para la inoculación fue según lo establecido en el factor de estudio; con previa hidratación de la levadura, usando el mismo jugo, es activada a una temperatura

de 30-35 °C durante un lapso de tiempo de 10 minutos, transcurrido dicho tiempo se agregó el inóculo al respectivo tanque para su posterior fermentación.

#### **3.5.1.8 Fermentación**

Se propició una fermentación de tipo anaerobia en recipientes plásticos de 40 litros de capacidad, previamente acoplados una llave para la toma diaria de muestras. A medida que se va produciendo la fermentación alcohólica, hay desprendimiento de gas carbónico. El líquido aparece a simple vista como efervescente, ya que la presencia de anhídrido carbónico provoca esa sensación.

El mosto permaneció en los recipientes el tiempo necesario hasta que las levaduras cumplan su función y la fermentación llegue a su fin.

#### **3.5.1.9 Destilación**

Esta operación se llevó a cabo una vez concluida la fermentación, para lo cual se tomó como referencia los grados brix y también el inicio de la fase de muerte de las levaduras.

La cantidad de mosto que se usó para alimentar el recipiente del destilador fue de 25 litros, cantidad mínima para que el aparato funcione adecuadamente, ya que por recomendación del fabricante, hay que colocar mínimo la mitad de volumen de su capacidad.

Luego de armar el quipo, se coloca la fuente de calor procurando que la llama sea lo más baja posible y la temperatura de calentamiento sea lenta y controlada para de esta manera separar mejor las partes del destilado; para obtener la cabeza se separó los primeros 150 ml, el cuerpo hasta que el alcoholímetro marcaba 33 °GL y colas hasta 20 °GL

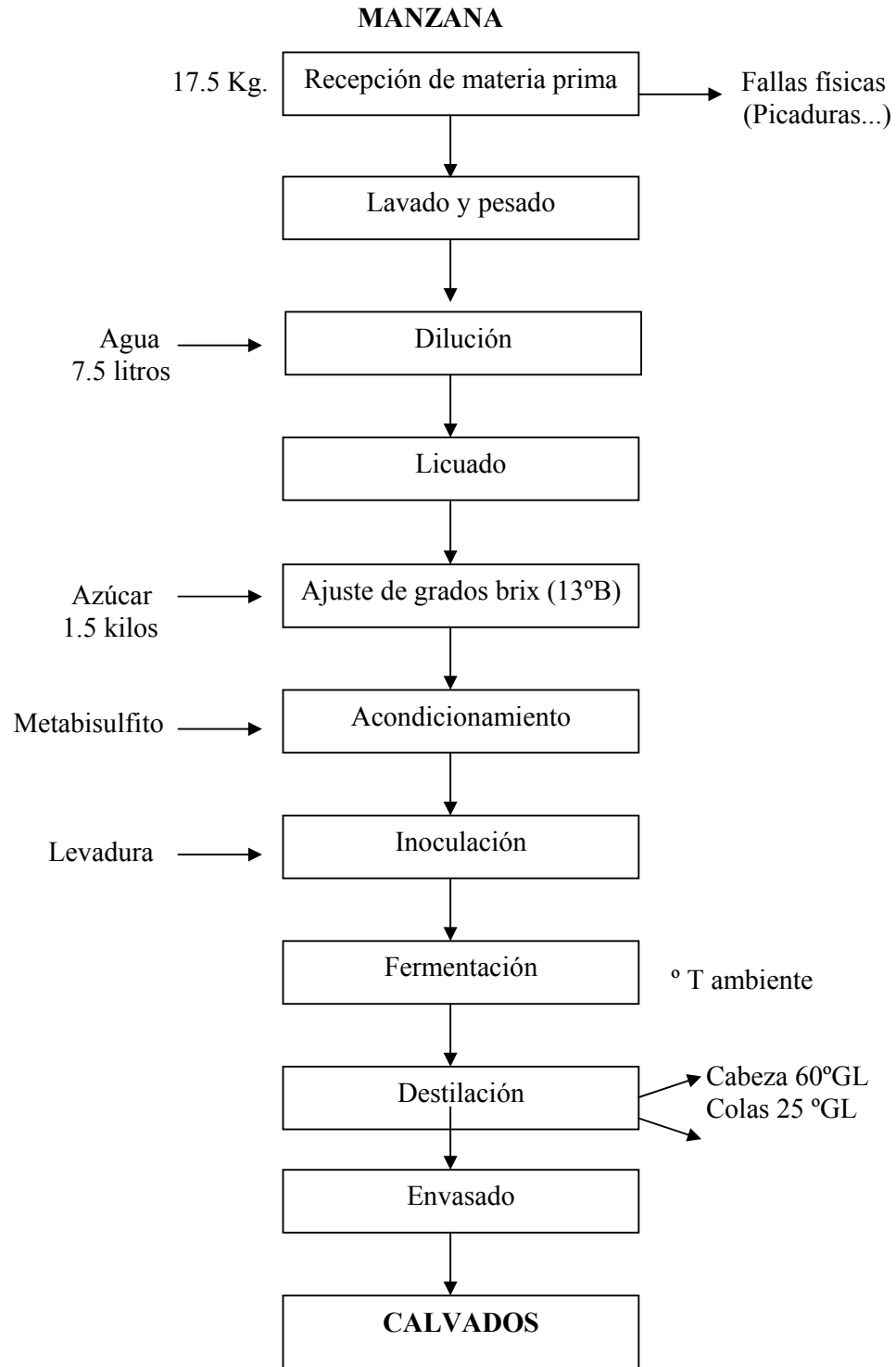
#### **3.5.1.10 Envasado y etiquetado**

El producto obtenido de la operación de destilación, y luego de realizar los análisis respectivos, se envasó en botellas de cristal de 750 ml esterilizadas;

dejando un espacio entre el producto y la tapa para de esta manera favorecer la oxidación y que el licor con el paso del tiempo adquiriera bouquet.

En la etiqueta se hizo constar la denominación del producto, en este caso “calvados”, el nombre otorgado, el volumen expresado en mililitros, y el grado alcohólico (40 °GL).

### 3.5.2 Diagrama de Proceso para la Obtención de Calvados



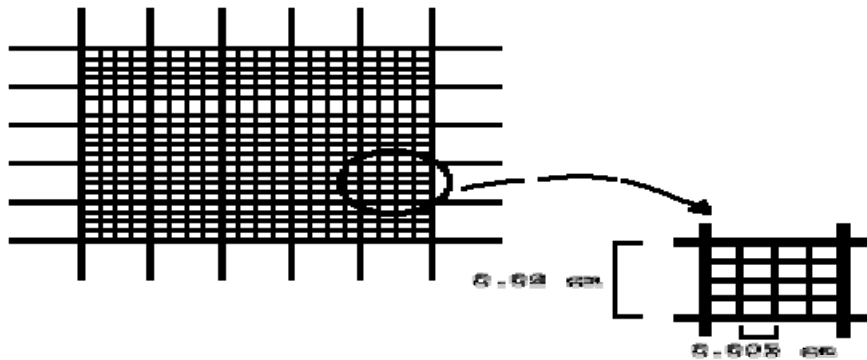


### 3.6 Métodos de evaluación y toma de datos durante el manejo del experimento

#### 3.6.1 Determinación de curvas de crecimiento de levaduras

Para la determinación de esta variable, se tomo muestras diarias y con la ayuda de un microscopio binocular, y la cámara de recuento Petroff- Hauser; que es un portaobjetos con una graduación en superficie y medidas concretas, se procedió de la siguiente manera: La muestra que se la tomó de los recipientes de fermentación a través de la llave del fermentador y se llevó al laboratorio en el menor tiempo posible para evitar errores en el conteo; con la ayuda de una pipeta se colocó la muestra en la cámara de recuento; una vez dispersada entre el porta y cubre objetos, se deja reposar sobre la plataforma del microscopio durante unos minutos y se cuenta el número de células en varias celdillas (normalmente en 16; equivalentes a un cuadro grande).Se anota el número n de células observadas; para luego establecer la concentración celular:

**Figura 4: Cámara de recuento de Petroff-Hausser**



**Cuadro 4: Recuento de Microorganismos**

| Tipo de cuadro   | Área [cm <sup>2</sup> ]  | Volumen [ml]               | Factor [1/Volumen]       |
|------------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|
| Cuadrado total   | 1.00<br>10 <sup>-2</sup> | x 2.00<br>10 <sup>-5</sup> | x 5.00 x 10 <sup>4</sup> |
| Cuadrado grande  | 4.00<br>10 <sup>-4</sup> | x 8.00<br>10 <sup>-7</sup> | x 1.25 x 10 <sup>6</sup> |
| Cuadrado pequeño | 2.50<br>10 <sup>-5</sup> | x 5.00<br>10 <sup>-8</sup> | x 2.00 x 10 <sup>7</sup> |

$$\frac{\text{Número total de microorganismos}}{\text{ml}} = \frac{\text{Bacterias contadas} \cdot \frac{1}{\text{dilución}}}{\text{Número de cuadrados contados} \cdot \text{Volumen del cuadrado}}$$

[http://www.madrimasd.org/madridporlaciencia/Feria\\_VIII/gestion/files/doc/actividades/11\\_3.doc](http://www.madrimasd.org/madridporlaciencia/Feria_VIII/gestion/files/doc/actividades/11_3.doc)

Posteriormente se transformó los datos obtenidos a forma logarítmica, ya que el crecimiento celular se da en este sentido.

### 3.6.2 Variación de grados Brix

Para observar la variación de grados Brix, se tomó muestras diarias a una misma hora, para de esta manera tener un mejor control. Se usó un refractómetro manual, y se colocó en el mismo una muestra del mosto, para realizar la lectura correspondiente.

### **3.6.3 Grado alcohólico del mosto**

Una vez terminada la fermentación (5 °Brix) se colocó el mosto en una probeta graduada de 100 ml, se sumergió el alcoholímetro y se determinó; la lectura del valor indicado por la altura del menisco en la escala del alcoholímetro.

### **3.6.4 Grado alcohólico del calvados**

Se vertió el calvados en una probeta graduada de 100ml una muestra del destilado sumergiendo un alcoholímetro hasta la total desaparición de las burbujas, se realizó la lectura correspondiente por la altura del menisco en la escala del alcoholímetro, finalmente se estimó la desviación de lectura en una tabla de corrección del grado alcohólico referido a 15 °C; conforme a la norma INEN 340

### **3.6.5 Evaluación físico - química**

Esta evaluación se la realizó a toda la unidad experimental, ya que es muy delicado la ingestión de un licor sin el previo conocimiento de los elementos que se puedan encontrar en él, algunos de estos tóxicos para el ser humano como es el caso del metanol. Para dicha finalidad, se llevó las 21 muestras a la empresa ILENSA donde con la ayuda del cromatógrafo de gases, se cuantificó cinco elementos principales: acetaldehídos, metanol, acetato de etilo, alcoholes superiores y furfural. Los mismos que estuvieron dentro de los parámetros exigidos en la norma INEN 366

### **3.6.6 Análisis organoléptico**

Para realizar este análisis, y una vez detectados los mejores tratamientos de la evaluación físico-química; se procedió a la catación del producto final para lo cual se solicitó la colaboración de diez catadores.

La catación se realizó tomando en cuenta las recomendaciones de la norma INEN 350. A cada característica organoléptica se le asignó una escala de apreciación y se valoró de la siguiente manera:

|           |          |
|-----------|----------|
| Excelente | 5 puntos |
| Muy bueno | 4 puntos |
| Bueno     | 3 puntos |
| Regular   | 2 puntos |
| Malo      | 1 punto  |

Los resultados obtenidos de la catación, se analizaron bajo la prueba no paramétrica de Freedman.

# **CAPÍTULO IV**

## 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 DETERMINACIÓN DE CURVAS DE CRECIMIENTO DE LEVADURAS Y VARIACIÓN DE °BRIX.

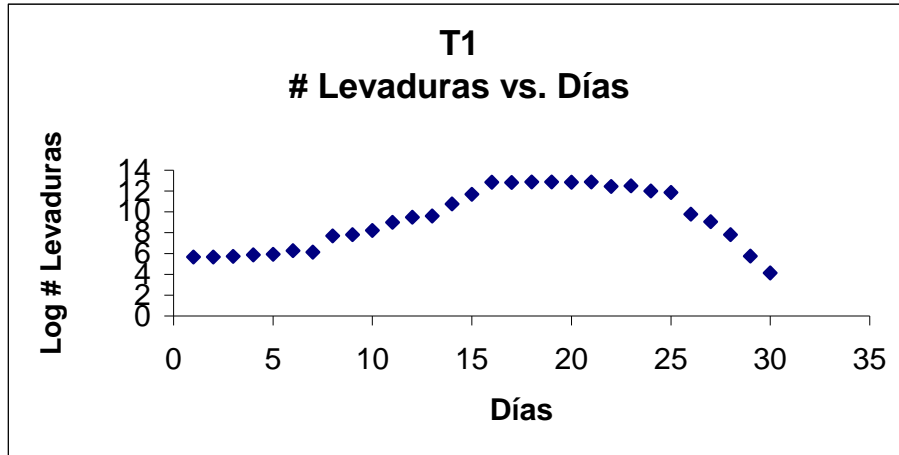
Para la determinación de estas variables, se registró diariamente y durante toda la fermentación: número de levaduras (transformadas a logaritmo), grados Brix y días que se tardó la fermentación, para cada tratamiento.

#### 4.1.1 Resultados del Tratamiento 1

**Cuadro 5: Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 1(0.5 gramos por litro de levadura, y 0.15 gramos por litro de metabisulfito)**

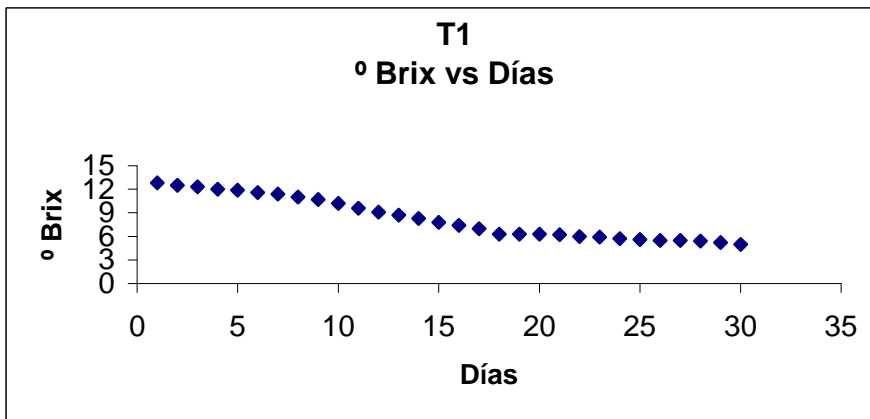
| Días | Levaduras (log) | ° Brix | Días | Levaduras (log) | ° Brix |
|------|-----------------|--------|------|-----------------|--------|
| 1    | 5.68            | 12.8   | 16   | 12.84           | 7.4    |
| 2    | 5.68            | 12.5   | 17   | 12.82           | 7      |
| 3    | 5.74            | 12.3   | 18   | 12.88           | 6.3    |
| 4    | 5.88            | 12     | 19   | 12.86           | 6.3    |
| 5    | 5.93            | 11.9   | 20   | 12.85           | 6.3    |
| 6    | 6.28            | 11.6   | 21   | 12.86           | 6.2    |
| 7    | 6.13            | 11.4   | 22   | 12.43           | 6      |
| 8    | 7.68            | 11     | 23   | 12.49           | 5.9    |
| 9    | 7.80            | 10.7   | 24   | 11.99           | 5.7    |
| 10   | 8.21            | 10.2   | 25   | 11.86           | 5.6    |
| 11   | 8.99            | 9.6    | 26   | 9.78            | 5.5    |
| 12   | 9.50            | 9.1    | 27   | 9.06            | 5.5    |
| 13   | 9.61            | 8.7    | 28   | 7.81            | 5.4    |
| 14   | 10.76           | 8.3    | 29   | 5.76            | 5.2    |
| 15   | 11.68           | 7.8    | 30   | 4.13            | 5      |

**Figura 5: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) del tratamiento 1**



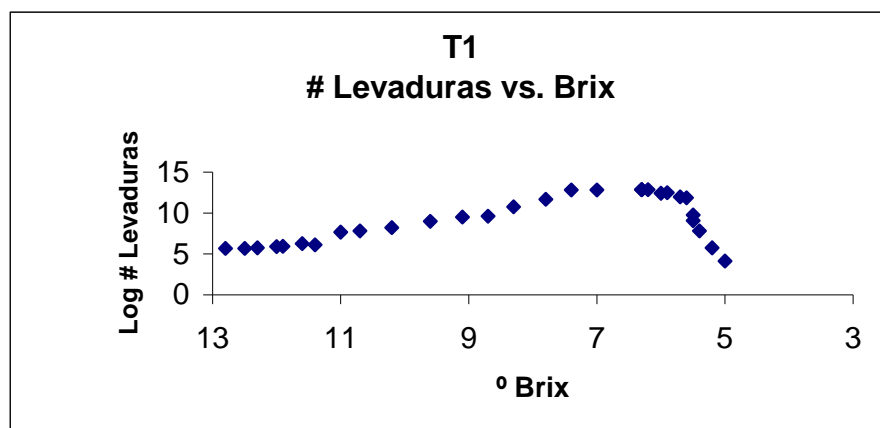
Este tratamiento tuvo un tiempo de fermentación de treinta días. La fase de latencia permaneció hasta el séptimo día, es decir que las levaduras no han presentado mayor reproducción lo que indica que la etapa de adaptación ha sido algo lenta; luego de ésta, el incremento de levaduras fue notable en la fase exponencial o de crecimiento, permaneciendo en la fase estacionaria un tiempo de ocho días manteniéndose un número estable de levaduras, y comenzando a morir a partir del día veinticuatro.

**Figura 6: Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) tratamiento 1**



Los grados Brix al iniciar la fermentación fue de 13, registrándose una disminución paulatina durante los días posteriores, sin registrar rebajas bruscas, sino mejor de manera gradual.

**Figura 7: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 1**



Según la gráfica, se puede deducir que mientras el número de levaduras incrementa, los grados Brix disminuyen, lo que significa que mientras mayor número de levaduras, se requiere mayor alimento (sustrato), registrándose más consumo durante la fase de crecimiento.

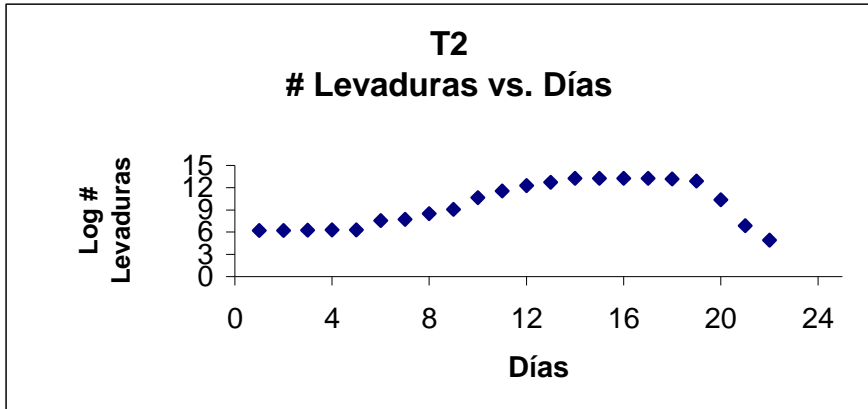
#### 4.1.2 Resultados del Tratamiento 2

**Cuadro 6: Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 2 (1.0 gramos por litro de levadura, y 0.15 gramos por litro de metabisulfito)**

| Días | Levaduras (log) | ° Brix | Días | Levaduras (log) | ° Brix |
|------|-----------------|--------|------|-----------------|--------|
| 1    | 6.21            | 13     | 12   | 12.28           | 7.6    |
| 2    | 6.22            | 12.7   | 13   | 12.74           | 7.3    |
| 3    | 6.27            | 12.5   | 14   | 13.27           | 6.2    |
| 4    | 6.29            | 12.1   | 15   | 13.27           | 6.2    |
| 5    | 6.3             | 11.6   | 16   | 13.26           | 6.2    |
| 6    | 7.56            | 11.2   | 17   | 13.27           | 6.1    |
| 7    | 7.71            | 10.8   | 18   | 13.19           | 5.9    |
| 8    | 8.51            | 9.7    | 19   | 12.87           | 5.7    |
| 9    | 9.08            | 9.3    | 20   | 10.38           | 5.4    |
| 10   | 10.64           | 8.6    | 21   | 6.87            | 5.2    |
| 11   | 11.55           | 8      | 22   | 4.9             | 5      |

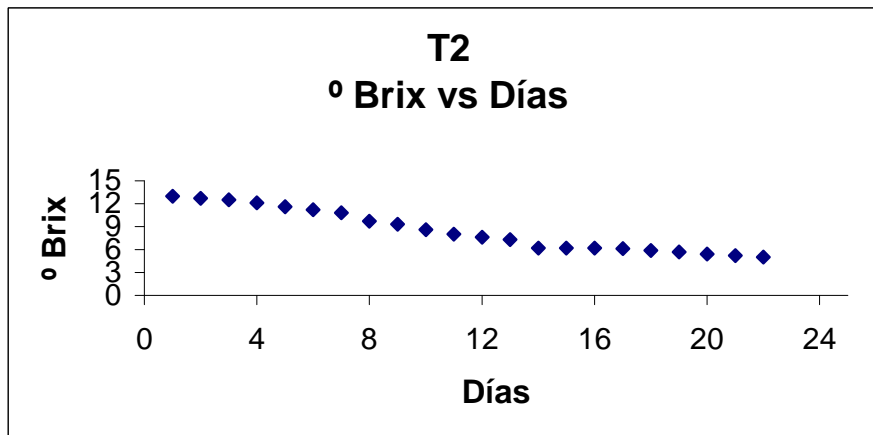


**Figura 8: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) tratamiento 2**



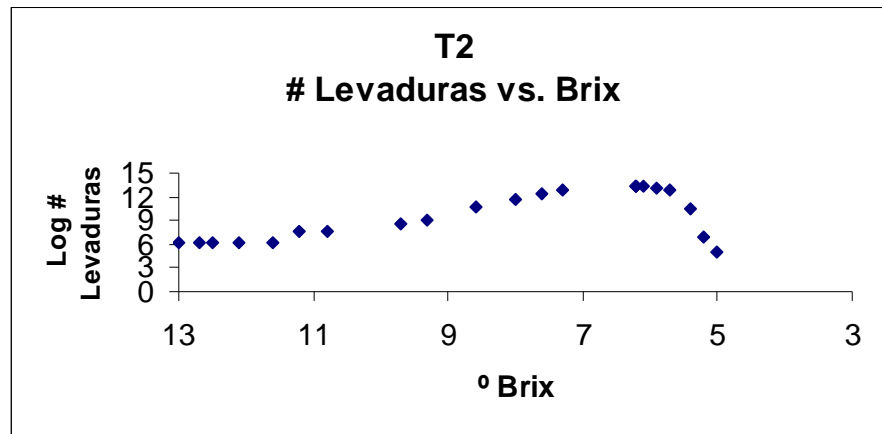
Este tratamiento ha tenido un tiempo de fermentación de veinte y dos días. La fase de latencia, permaneció hasta el quinto día, (dos días antes que el anterior tratamiento) es decir, que las levaduras se adaptaron al medio de manera más rápida; luego de ésta, el incremento de levaduras ha sido notable en la fase de crecimiento, permaneciendo en la fase estacionaria un tiempo de cinco días, lo que indica que en esta fase la cantidad de sustrato presente en el mosto, fue menor de tal manera que, comenzaron a morir a partir del día diecinueve.

**Figura 9: Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) tratamiento 2**



Los grados Brix al iniciar la fermentación fue de 13, registrándose una disminución paulatina durante los días posteriores, sin registrar rebajas bruscas, sino mejor de manera estándar.

**Figura 10: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 2**



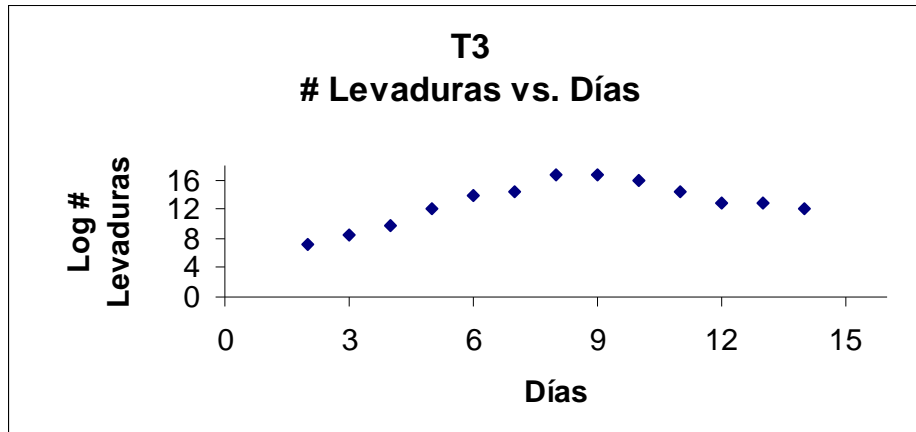
Según la gráfica, se puede deducir que mientras el número de levaduras incrementa, los grados Brix disminuyen, registrándose por dos ocasiones, una significativa disminución de grados Brix, al inicio de la fase de crecimiento y de igual manera en la fase estacionaria, lo que significa que, hubo mayor consumo de sustrato por parte de las levaduras.

#### 4.1.3 Resultados del Tratamiento 3

**Cuadro 7: Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 3 (1.5 gramos por litro de levadura, y 0.15 gramos por litro de metabisulfito)**

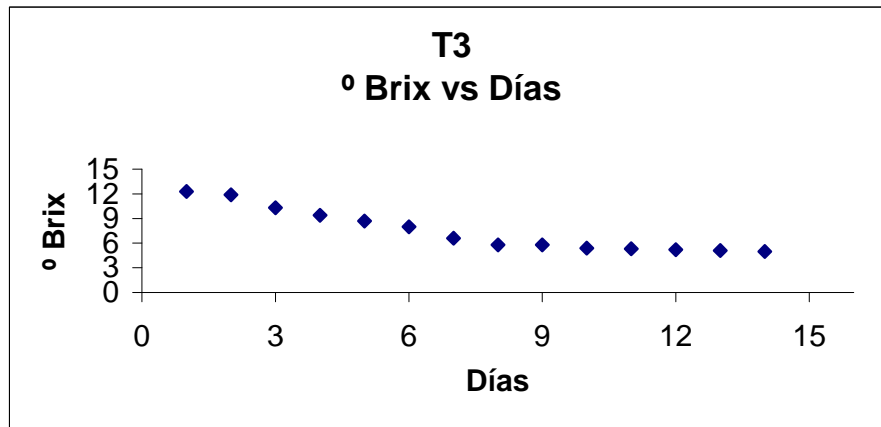
| Días | Levaduras (log) | ° Brix |
|------|-----------------|--------|
| 1    | 6.47            | 12.3   |
| 2    | 7.32            | 11.9   |
| 3    | 8.59            | 10.3   |
| 4    | 9.75            | 9.4    |
| 5    | 12.01           | 8.7    |
| 6    | 13.98           | 8      |
| 7    | 14.39           | 6.6    |
| 8    | 16.84           | 5.8    |
| 9    | 16.77           | 5.8    |
| 10   | 15.86           | 5.4    |
| 11   | 14.28           | 5.3    |
| 12   | 12.97           | 5.2    |
| 13   | 12.91           | 5.1    |
| 14   | 11.99           | 5      |

**Figura 11: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) tratamiento 3**



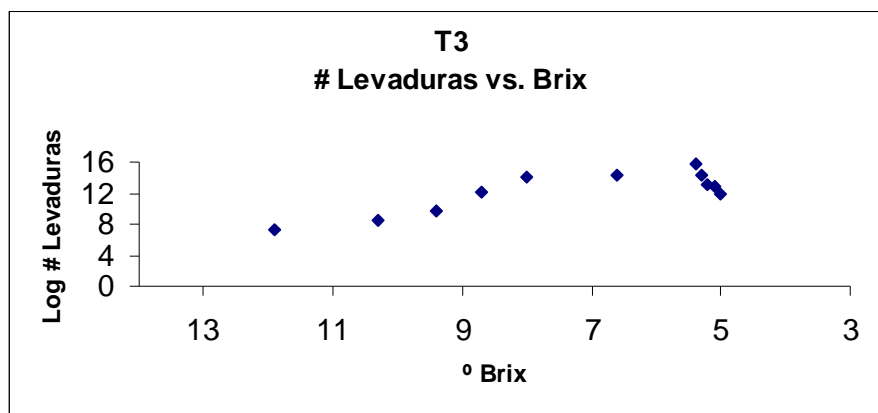
Este tratamiento tuvo un tiempo de fermentación de catorce días, siendo el menor tiempo. La fase de latencia se dió hasta el tercer día, es decir que las levaduras se han adaptado al medio de mejor manera; luego de ésta, el incremento de levaduras fue notable en la fase de crecimiento, y sin permanecer en la fase estacionaria durante mucho tiempo, lo que indica que en esta fase la cantidad de sustrato presente en el mosto, fue mínima en comparación a los anteriores tratamientos; comenzando a morir las levaduras a partir del décimo día.

**Figura 12: Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) del tratamiento 3**



Los grados Brix al iniciar la fermentación fue de 13, registrándose una disminución paulatina durante los días posteriores, sin registrar rebajas bruscas, sino mejor de manera regular.

**Figura 13: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 3**



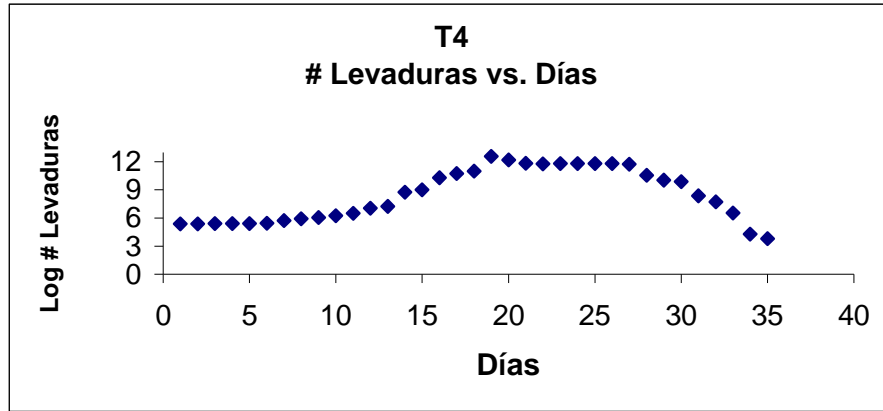
Según la gráfica, se puede deducir que mientras el número de levaduras se ha incrementado rápidamente, los grados Brix disminuyen de igual manera, registrándose un aumento de casi el triple de la población inicial de levaduras en la fase estacionaria.

#### 4.1.4 Resultados del Tratamiento 4

**Cuadro 8: Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 4 (0.5 gramos por litro de levadura, y 0.25 gramos por litro de metabisulfito)**

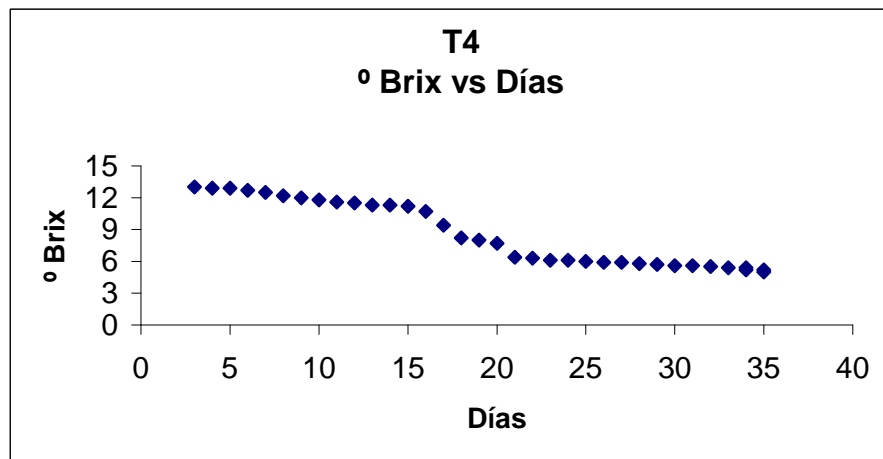
| Días | Levaduras (log) | ° Brix | Días | Levaduras (log) | ° Brix |
|------|-----------------|--------|------|-----------------|--------|
| 1    | 5.37            | 13     | 19   | 12.58           | 6.4    |
| 2    | 5.38            | 12.9   | 20   | 12.21           | 6.3    |
| 3    | 5.39            | 12.9   | 21   | 11.83           | 6.1    |
| 4    | 5.40            | 12.7   | 22   | 11.79           | 6.1    |
| 5    | 5.42            | 12.5   | 23   | 11.80           | 6      |
| 6    | 5.43            | 12.2   | 24   | 11.81           | 5.9    |
| 7    | 5.72            | 12     | 25   | 11.82           | 5.9    |
| 8    | 5.91            | 11.8   | 26   | 11.82           | 5.8    |
| 9    | 6.05            | 11.6   | 27   | 11.73           | 5.7    |
| 10   | 6.25            | 11.5   | 28   | 10.54           | 5.6    |
| 11   | 6.50            | 11.3   | 29   | 10.03           | 5.6    |
| 12   | 7.06            | 11.3   | 30   | 9.88            | 5.5    |
| 13   | 7.25            | 11.2   | 31   | 8.37            | 5.4    |
| 14   | 8.74            | 10.7   | 32   | 7.71            | 5.4    |
| 15   | 9.01            | 9.4    | 33   | 6.54            | 5.2    |
| 16   | 10.30           | 8.2    | 34   | 4.27            | 5.2    |
| 17   | 10.76           | 8      | 35   | 3.80            | 5      |
| 18   | 11.00           | 7.7    |      |                 |        |

**Figura 14: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) tratamiento 4**



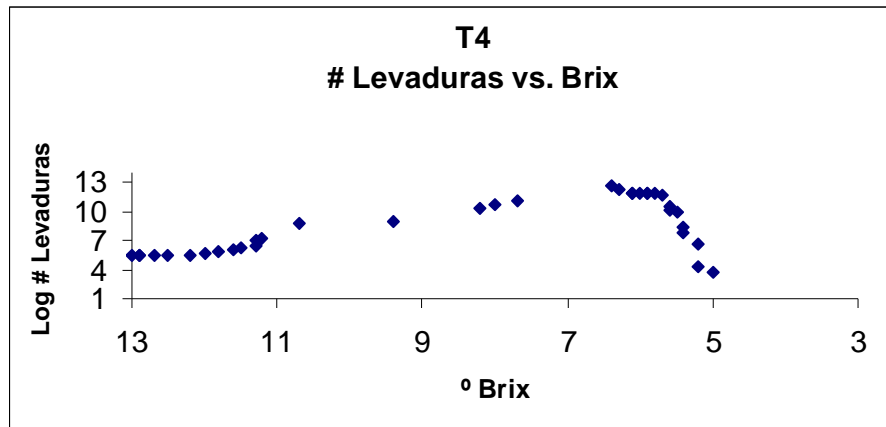
Este tratamiento ha tenido un tiempo de fermentación de treinta y cinco días, comparado a los anteriores, es el tiempo más prolongado de fermentación. La fase de latencia fue relativamente larga, con una duración de diez días, lo que indica que las levaduras se adaptaron al medio de a poco, presentando un mínimo incremento en cuanto a su número, una vez adaptadas, se produjo un notable aumento de levaduras durante la fase de crecimiento, permaneciendo en la fase estacionaria un tiempo de nueve días manteniéndose un número estable de colonias, y comenzando a morir a partir del día veintisiete.

**Figura 15: Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) del tratamiento 4**



Los grados Brix al iniciar la fermentación fue de 13, registrándose una disminución paulatina durante los días posteriores, notándose una rebaja considerable entre los días quince y veinte, luego de los cuales la disminución fue de forma regular.

**Figura 16: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 4**



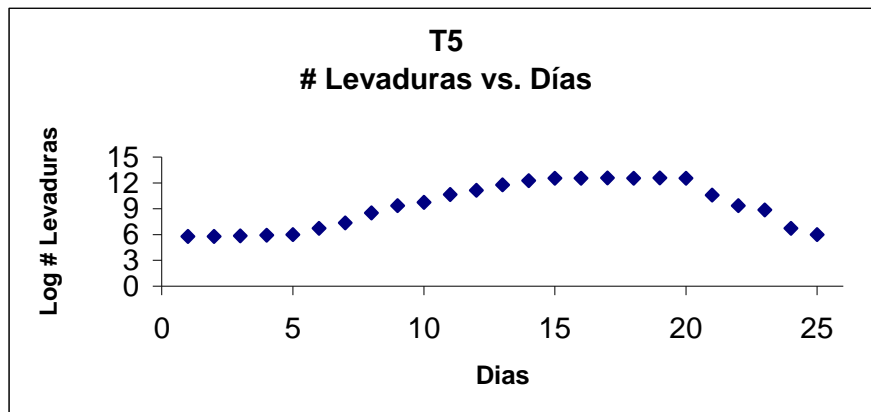
Según la gráfica, se puede deducir que mientras el número de levaduras incrementa, los grados Brix disminuyen, notándose, por tres ocasiones, un aumento significativo de levaduras principalmente durante la fase de crecimiento.

#### 4.1.5 Resultados del Tratamiento 5

**Cuadro 9: Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 5 (1.0 gramos por litro de levadura, y 0.25 gramos por litro de metabisulfito)**

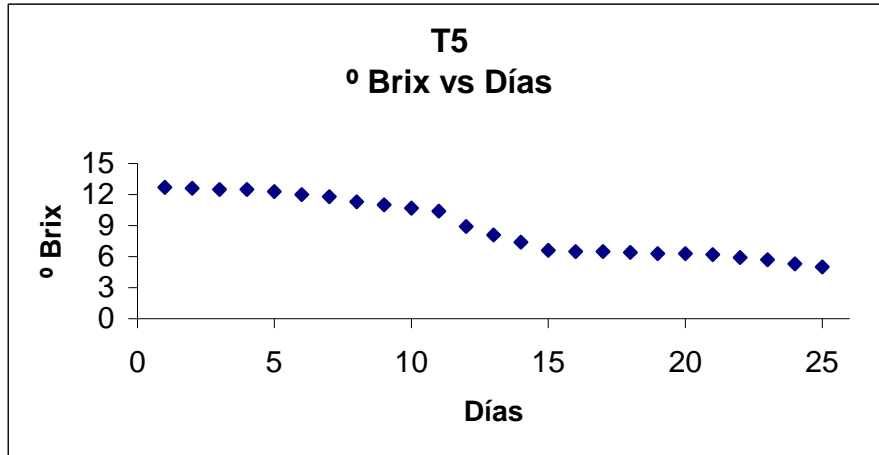
| Días | Levaduras (log) | ° Brix | Días | Levaduras (log) | ° Brix |
|------|-----------------|--------|------|-----------------|--------|
| 1    | 5.79            | 12.7   | 14   | 12.28           | 7.4    |
| 2    | 5.80            | 12.6   | 15   | 12.56           | 6.6    |
| 3    | 5.87            | 12.5   | 16   | 12.56           | 6.5    |
| 4    | 5.94            | 12.5   | 17   | 12.57           | 6.5    |
| 5    | 6.00            | 12.3   | 18   | 12.56           | 6.4    |
| 6    | 6.74            | 12     | 19   | 12.58           | 6.3    |
| 7    | 7.35            | 11.8   | 20   | 12.56           | 6.3    |
| 8    | 8.52            | 11.3   | 21   | 10.58           | 6.2    |
| 9    | 9.37            | 11     | 22   | 9.37            | 5.9    |
| 10   | 9.73            | 10.7   | 23   | 8.88            | 5.7    |
| 11   | 10.66           | 10.4   | 24   | 6.74            | 5.3    |
| 12   | 11.15           | 8.9    | 25   | 5.99            | 5      |
| 13   | 11.76           | 8.1    |      |                 |        |

**Figura 17: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) tratamiento 5**



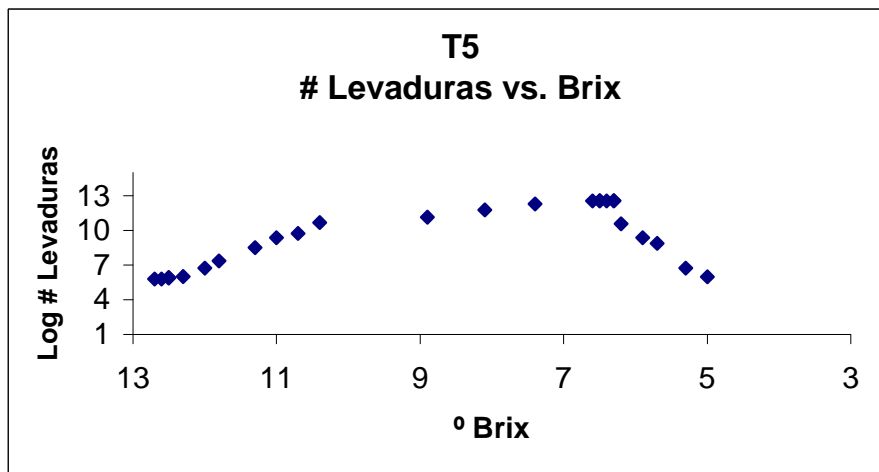
Este tratamiento tuvo un tiempo de fermentación de veinte y cinco días. La fase de latencia ha permanecido hasta el quinto día luego de esta, el incremento de levaduras en la fase de crecimiento, se dio de una forma bastante uniforme, permaneciendo en la fase estacionaria un tiempo de siete días, comenzando a morir en el vigésimo primer día, de una manera lenta.

**Figura 18: Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) del tratamiento 5**



Los grados Brix al iniciar la fermentación fue de 13, registrándose una disminución paulatina durante los días posteriores, notándose una rebaja considerable a partir del décimo día hasta el décimo quinto día, lo que significa que durante estos días existió un mayor consumo de sustrato; posteriormente la disminución de grados Brix fue de forma paulatina según el transcurso de los días.

**Figura 19: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 5**



Según la gráfica, se puede deducir que mientras el número de levaduras incrementa, los grados Brix disminuyen, registrándose una reducción notable en medio de la fase de crecimiento.

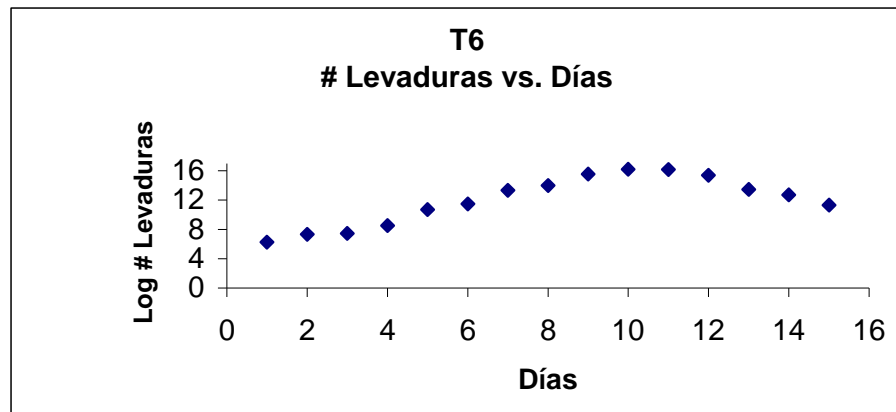


#### 4.1.6 Resultados del Tratamiento 6

**Cuadro 10: Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 6 (1.5 gramos por litro de levadura, y 0.25 gramos por litro de metabisulfito)**

| Días | Levaduras (log) | ° Brix |
|------|-----------------|--------|
| 1    | 6.26            | 12.2   |
| 2    | 7.31            | 11.7   |
| 3    | 7.43            | 11.3   |
| 4    | 8.54            | 10.4   |
| 5    | 10.69           | 9.5    |
| 6    | 11.47           | 8.8    |
| 7    | 13.35           | 8.2    |
| 8    | 13.98           | 7.6    |
| 9    | 15.55           | 7.2    |
| 10   | 16.23           | 6.4    |
| 11   | 16.18           | 6      |
| 12   | 15.39           | 5.9    |
| 13   | 13.48           | 5.7    |
| 14   | 12.73           | 5.3    |
| 15   | 11.3            | 5      |

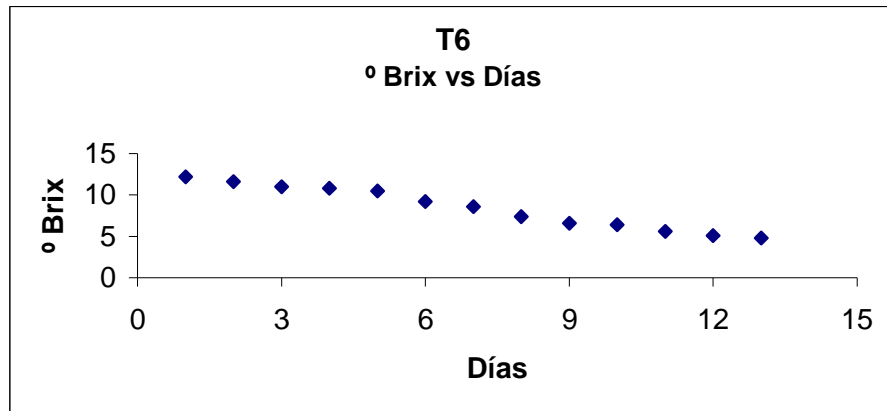
**Figura 20: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) tratamiento 6**



Este tratamiento ha tenido un tiempo de fermentación de quince días. La fase de latencia fue corta, hasta el tercer día, es decir que las levaduras se han adaptado al medio de mejor manera; el incremento de levaduras fue notable en la fase de crecimiento, registrándose un aumento de casi el triple de la población inicial; la fase estacionaria no permaneció durante mucho tiempo, lo que indica que en esta

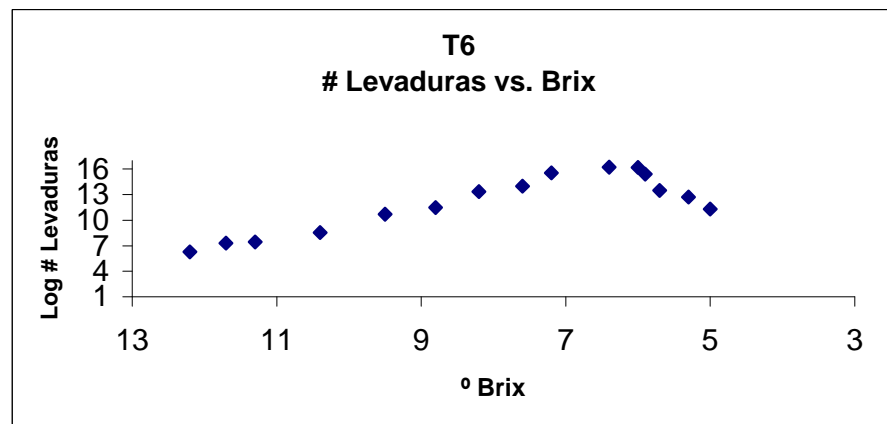
fase la cantidad de sustrato presente en el mosto, fue mínima en comparación a los anteriores tratamientos; comenzando a morir las levaduras a partir del décimo segundo día de una forma acelerada.

**Figura 21: Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) del tratamiento 6**



Los grados Brix al iniciar la fermentación fue de 13, registrándose una disminución paulatina durante los días posteriores, sin registrar rebajas bruscas, mejor de manera estándar.

**Figura 22: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 6**



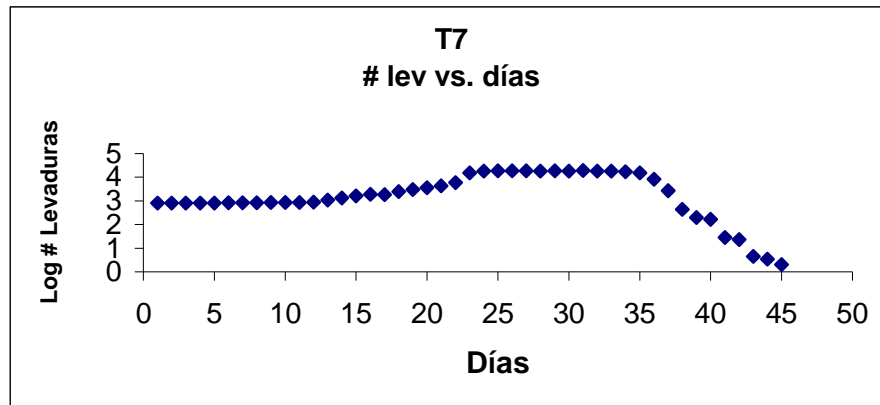
Según la gráfica, se puede deducir que mientras el número de levaduras se incrementó rápidamente, los grados Brix disminuyen de igual manera.

#### 4.1.7 Resultados del Tratamiento 7

**Cuadro 11: Resultado de días, levaduras (log) y grados Brix del tratamiento 7 (sin la adición de levadura ni metabisulfito)**

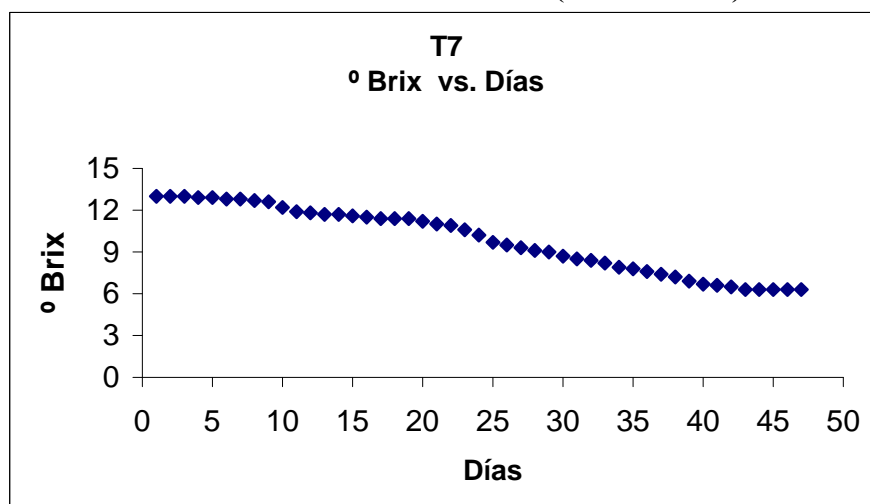
| Días | Levaduras (log) | ° Brix | Días | Levaduras (log) | ° Brix |
|------|-----------------|--------|------|-----------------|--------|
| 1    | 2.63            | 13     | 25   | 3.73            | 8.3    |
| 2    | 2.63            | 13     | 26   | 3.80            | 8.2    |
| 3    | 2.63            | 13     | 27   | 3.82            | 8.6    |
| 4    | 2.64            | 13     | 28   | 3.82            | 8.1    |
| 5    | 2.65            | 12.9   | 29   | 3.81            | 7.2    |
| 6    | 2.65            | 12.7   | 30   | 3.27            | 7.2    |
| 7    | 2.66            | 12.5   | 31   | 2.99            | 7.2    |
| 8    | 2.66            | 11.9   | 32   | 2.83            | 7.2    |
| 9    | 2.70            | 11.6   | 33   | 2.72            | 7.1    |
| 10   | 2.72            | 11.4   | 34   | 2.41            | 7.1    |
| 11   | 2.73            | 11.2   | 35   | 2.32            | 7.1    |
| 12   | 2.73            | 10.9   | 36   | 2.22            | 6.9    |
| 13   | 2.83            | 10.8   | 37   | 2.19            | 6.9    |
| 14   | 2.92            | 10.6   | 38   | 2.15            | 6.8    |
| 15   | 3.00            | 10.6   | 39   | 2.13            | 6.7    |
| 16   | 3.03            | 10.4   | 40   | 2.10            | 6.5    |
| 17   | 3.06            | 10.2   | 41   | 2.00            | 6.4    |
| 18   | 3.12            | 9.8    | 42   | 1.90            | 6.2    |
| 19   | 3.19            | 9.8    | 43   | 1.70            | 6      |
| 20   | 3.23            | 9.8    | 44   | 1.20            | 5.8    |
| 21   | 3.38            | 9.5    | 45   | 1.00            | 5.8    |
| 22   | 3.42            | 9.2    | 46   | 0.97            | 5.7    |
| 23   | 3.56            | 8.6    | 47   | 0.48            | 5.5    |
| 24   | 3.64            | 8.5    |      |                 |        |

**Figura 23: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. días) tratamiento 7**



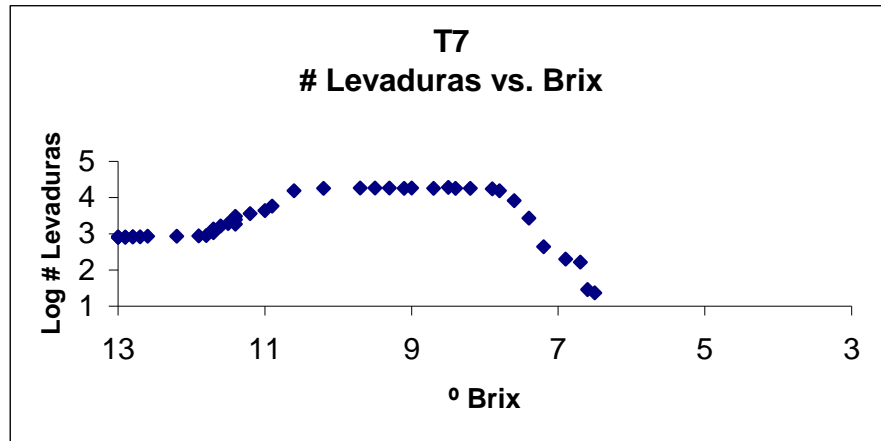
Este tratamiento registró un tiempo de fermentación de cuarenta y siete días, comparado a los anteriores tratamientos, es el tiempo más prolongado de fermentación, ya que no tuvo inoculación de levaduras; por tal motivo, la fermentación, se produjo por las levaduras propias de la fruta (levaduras salvajes). La fase de latencia fue relativamente larga, con una duración de catorce días, lo que indica que las levaduras salvajes, cumplen su función pero, de manera lenta, presentando un mínimo incremento en cuanto a su número durante todo el proceso; la fase estacionaria fue bien marcada con una duración de doce días, y luego empezaron a morir a partir del trigésimo cuarto día

**Figura 24: Curva de crecimiento de levaduras (°Brix vs. días) tratamiento 7**



Los grados Brix al iniciar la fermentación fue de 13, registrándose una disminución paulatina durante los días posteriores; el descenso se dio de forma estándar, sin registrar bajas bruscas.

**Figura 25: Curva de crecimiento de levaduras (levaduras vs. °Brix) tratamiento 7**



Según la gráfica, se puede deducir que mientras el número de levaduras incrementa, los grados brix disminuyen, notándose, por tres ocasiones, un aumento significativo de levaduras principalmente durante la fase de crecimiento.

#### **4.2 GRADO ALCOHÓLICO DEL MOSTO**

Los datos para esta variable, se los tomó al finalizar la fermentación; se partió con un volumen de 25 litros de mosto para la destilación.

Los resultados obtenidos, se presenta en el siguiente cuadro:

**Cuadro 12: Grado alcohólico del mosto**

| Tratamientos | Repeticiones |     |     | $\Sigma$     | Media       |
|--------------|--------------|-----|-----|--------------|-------------|
|              | I            | II  | III |              |             |
| T1           | 5.0          | 5.2 | 5.0 | 15.20        | 5.06        |
| T2           | 4.9          | 5.3 | 5.1 | 15.30        | 5.10        |
| T3           | 5.3          | 5.2 | 5.4 | 15.90        | 5.30        |
| T4           | 4.9          | 5.1 | 5.2 | 15.20        | 5.06        |
| T5           | 5.1          | 5.3 | 5.2 | 15.60        | 5.20        |
| T6           | 5.0          | 5.5 | 5.4 | 15.90        | 5.30        |
| T7           | 5.2          | 5.3 | 5.4 | 15.90        | 5.30        |
|              |              |     |     | <b>109.0</b> | <b>5.19</b> |

**Cuadro 13: Análisis de varianza para: Grado alcohólico del mosto**

| F. de V                   | gl | SC   | CM   | FC      | F. Tabular |      |
|---------------------------|----|------|------|---------|------------|------|
|                           |    |      |      |         | 5%         | 1%   |
| Total                     | 20 | 0.57 | -    | -       | -          | -    |
| Tratamientos              | 6  | 0.22 | 0.03 | 2.74 NS | 2.85       | 4.46 |
| Cantidad de Metabisulfito | 1  | 0.16 | 0.08 | 4.19 NS | 4.60       | 8.86 |
| Dosis de Levadura         | 2  | 0.00 | 0.00 | 0.25 NS | 3.74       | 6.51 |
| Factor C x D              | 2  | 0.01 | 0.00 | 0.25 NS | 3.74       | 6.51 |
| Testigo vs. otros         | 1  | 0.03 | 0.03 | 1.86 NS | 4.60       | 8.86 |
| Error experimental        | 14 | 0.35 | 0.02 | -       | -          | -    |

\*\* = Altamente significativo

\* = Significativo

NS = No significativo

**X = 5.19**

**CV = 2.72%**

El Análisis de varianza determina que no existió diferencia significativa entre tratamientos, lo que indica que todos son iguales.

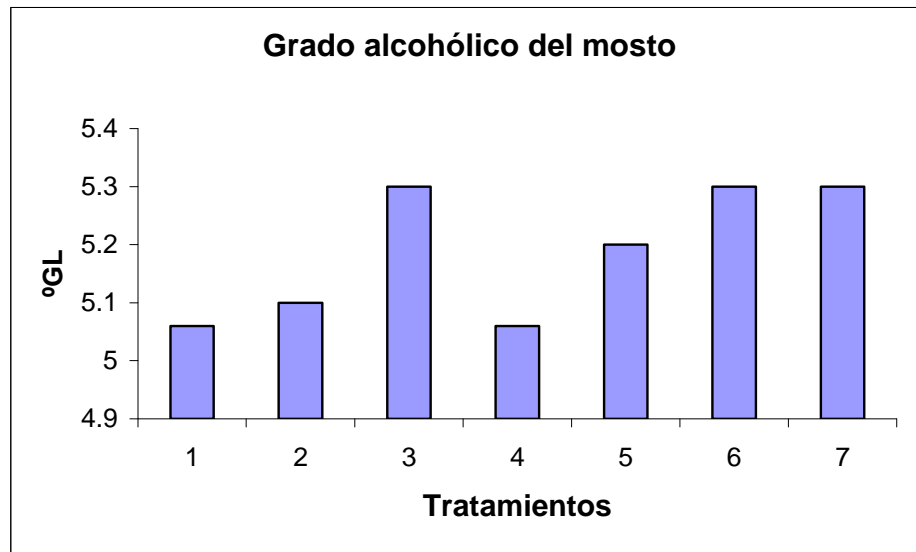
El análisis del factor cantidad de metabisulfito, es no significativo, lo que significa que el efecto de las cantidades aplicadas a los diferentes tratamientos resultaron ser iguales.

El análisis de varianza del factor dosis de levadura, reportó diferencia no significativa; este resultado indica que el efecto de las dosis aplicadas, fueron iguales.

El análisis de varianza para las interacciones C x D y Testigo vs. otros, no tuvo diferencia significativa, lo que indica que no existió influencia entre ellos.

Se obtuvo un coeficiente de variación de 2.72% y una media de tratamientos de 5.19.

**Figura 26: Grado alcohólico del mosto**



En la figura, se observa que los tratamientos T3 (1.5 g/l de levadura y 0.15 g/l de metabisulfito), T6 (1.5 g/l de levadura y 0.25 g/l de metabisulfito), T7 (sin adición

de levadura ni metabisulfito) son los que registran mayor grado alcohólico al finalizar la fermentación.

Los tratamientos T3 y T6 se les suministró igual cantidad de levadura, siendo importante, ya que estas son las causantes de la transformación del azúcar en alcohol.

Siendo que al tratamiento T7 no se le adicionó levadura, se puede claramente notar que las levaduras salvajes cumplieron una buena función en cuanto al proceso fermentativo.

#### 4.3 GRADO ALCOHÓLICO DEL CALVADOS

Los datos para esta variable, se los obtuvieron luego de la destilación, y los resultados adquiridos, se detalla a continuación

**Cuadro 14: Grado alcohólico del calvados**

| Tratamientos | Repeticiones |      |      | $\Sigma$     | Media        |
|--------------|--------------|------|------|--------------|--------------|
|              | I            | II   | III  |              |              |
| T1           | 39.0         | 42.0 | 38.0 | 119.0        | 39.6         |
| T2           | 39.0         | 39.5 | 41.5 | 120.0        | 40.0         |
| T3           | 43.0         | 41.0 | 44.0 | 128.0        | 42.6         |
| T4           | 40.0         | 39.0 | 40.0 | 119.0        | 39.6         |
| T5           | 45.0         | 42.0 | 41.0 | 128.0        | 42.6         |
| T6           | 40.5         | 42.0 | 42.5 | 125.0        | 41.6         |
| T7           | 43.0         | 42.0 | 42.0 | 127.0        | 42.3         |
|              |              |      |      | <b>866.0</b> | <b>41.23</b> |



**Cuadro 15: Análisis de varianza para: Grado alcohólico del calvados**

| F. de V                   | gl | SC    | CM   | FC         | F. Tabular |      |
|---------------------------|----|-------|------|------------|------------|------|
|                           |    |       |      |            | 5%         | 1%   |
| Total                     | 20 | 69.80 | -    | -          | -          | -    |
| Tratamientos              | 6  | 35.80 | 5.96 | 2.11 NS    | 2.85       | 4.46 |
| Cantidad de Metabisulfito | 1  | 19.44 | 9.72 | 4.01 NS    | 4.60       | 8.86 |
| Dosis de Levadura         | 2  | 1.38  | 1.38 | 0.57 NS    | 3.74       | 6.51 |
| Factor C x D              | 2  | 10.77 | 5.38 | 2.22<br>NS | 3.74       | 6.51 |
| Testigo vs. otros         | 1  | 4.18  | 4.18 | 1.73 NS    | 4.60       | 8.86 |
| Error experimental        | 14 | 34.0  | 2.42 | -          | -          | -    |

\*\* = Altamente significativo

\* = Significativo

NS = No significativo

**X = 41.23**

**CV = 3.77%**

El Análisis de varianza determina que no existió diferencia significativa entre tratamientos, lo que indica que todos son iguales.

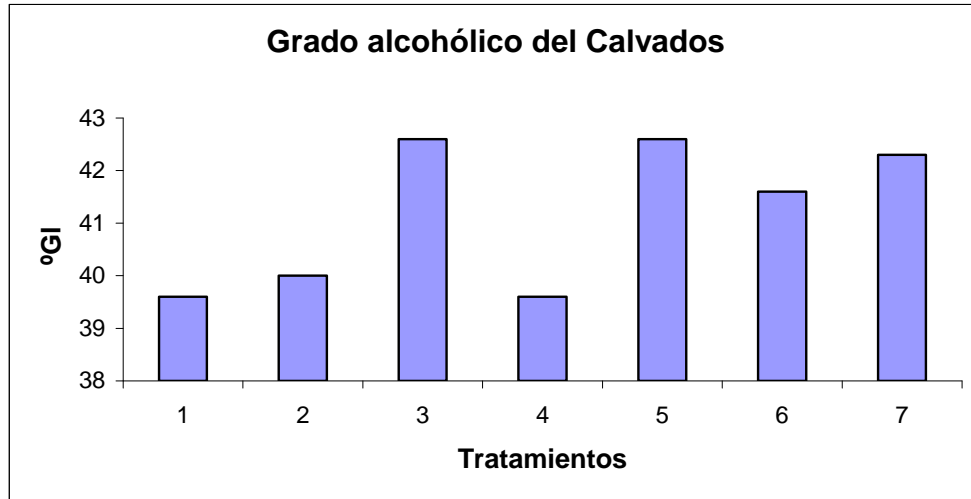
El análisis del factor cantidad de metabisulfito, es no significativo, lo que significa que el efecto de las cantidades aplicadas a los diferentes tratamientos resultaron ser iguales.

El análisis de varianza del factor dosis de levadura, reportó diferencia no significativa; este resultado indica que el efecto de las dosis aplicadas, fueron iguales.

El análisis de varianza para las interacciones C x D y Testigo vs. otros, no tuvo diferencia significativa, lo que indica que no existió influencia entre ellos.

Se obtuvo un coeficiente de variación de 3.77 y una media de tratamientos de 41.23

**Figura 27: Grado alcohólico del calvados**



Luego de analizar la figura, se observa que los tratamientos T3, (1.5 g/l levadura y 0.15 g/l de metabisulfito) T5 (1.0 g/l levadura y 0.25 g/l de metabisulfito), T7 (sin la adición de levadura ni metabisulfito) son los que tienen mayor grado alcohólico.

Cabe destacar, que para el grado alcohólico del producto, influye el grado del mosto, pero es más relevante el proceso de la destilación, ya que de esto dependerá la calidad del producto final, como también su grado alcohólico.

#### **4.4 EVALUACIÓN FÍSICO- QUÍMICA**

Para este análisis, se obtuvo los datos de todos los tratamientos con sus repeticiones, fundamentalmente los resultados se dividieron en cinco grupos importantes para ver la calidad del producto: acetaldehídos, acetato de etilo, alcoholes superiores, furfural, metanol.

#### 4.4.1 Acetaldehídos

**Cuadro 16: Resultado de Acetaldehídos**

| Tratamientos | Repeticiones |      |      | $\Sigma$     | Media       |
|--------------|--------------|------|------|--------------|-------------|
|              | I            | II   | III  |              |             |
| T1           | 5.5          | 6.3  | 21.0 | 32.8         | 10.9        |
| T2           | 4.5          | 4.0  | 6.3  | 14.8         | 4.93        |
| T3           | 8.3          | 8.8  | 4.9  | 22.0         | 7.33        |
| T4           | 13.0         | 14.5 | 8.7  | 37.2         | 12.40       |
| T5           | 4.5          | 5.6  | 2.7  | 12.8         | 4.26        |
| T6           | 5.0          | 5.6  | 6.7  | 17.3         | 5.76        |
| T7           | 0.6          | 1.7  | 1.4  | 3.7          | 1.23        |
|              |              |      |      | <b>140.6</b> | <b>6.69</b> |

**Cuadro 17: Análisis de varianza para: Acetaldehídos**

| F. de V                   | gl | SC     | CM     | FC      | F. Tabular |      |
|---------------------------|----|--------|--------|---------|------------|------|
|                           |    |        |        |         | 5%         | 1%   |
| Total                     | 20 | 466.16 | -      | -       | -          | -    |
| Tratamientos              | 6  | 271.82 | 45.30  | 2.91 *  | 2.85       | 4.46 |
| Cantidad de Metabisulfito | 1  | 159.84 | 79.92  | 5.75 *  | 4.60       | 8.86 |
| Dosis de Levadura         | 2  | 0.29   | 0.29   | 0.02 NS | 3.74       | 6.51 |
| Factor C x D              | 2  | 7.28   | 3.64   | 0.26 NS | 3.74       | 6.51 |
| Testigo vs. otros         | 1  | 104.40 | 104.40 | 7.52 *  | 4.60       | 8.86 |
| Error experimental        | 14 | 194.34 | 13.88  | -       | -          | -    |

\*\* = Altamente significativo

\* = Significativo

NS = No significativo

**X = 6.69**

**CV = 55.68%**

El Análisis de varianza determina que existió diferencia significativa entre tratamientos, lo que indica que los tratamientos son diferentes.

El análisis del factor cantidad de metabisulfito, es significativo, lo que significa que el efecto de las cantidades aplicadas a los diferentes tratamientos resultaron ser diferentes.

El análisis de varianza del factor dosis de levadura, reportó diferencia no significativa; este resultado indica que el efecto de las dosis aplicadas, fueron iguales.

El análisis de varianza para las interacciones C x D es no significativo.

Testigo vs. otros, tuvo diferencia significativa, lo que indica que existió interacción entre ellos.

Se obtuvo un coeficiente de variación de 55.68% (puesto que fue considerable la diferencia entre resultados) y una media de 6.69.

**Cuadro 18: Prueba de Tuckey al 5% para Tratamientos**

| <b>Tratamientos</b> | <b>Medias</b> | <b>Rangos</b> |
|---------------------|---------------|---------------|
| T7                  | 1.23          | A             |
| T5                  | 4.26          | B             |
| T2                  | 4.93          | B             |
| T6                  | 5.76          | B             |
| T3                  | 7.33          | B             |
| T1                  | 10.90         | B             |
| T4                  | 12.40         | B             |

Realizada la prueba Tuckey al 5% se detecta la presencia de dos rangos (A, B) donde, en la columna del rango A se encuentra el tratamiento T7 (sin adición de

levadura ni metabisulfito) que corresponde al que registró menor cantidad de acetaldehído con una media de: 1.23 mg / 100 ml

Si bien es cierto, el tratamiento 7 reporta la menor cantidad de acetaldehído; todos los demás tratamientos, se encuentran dentro del rango que exige como requisito la norma INEN 366.

**Cuadro 19: Prueba DMS para Cantidad de Metabisulfito**

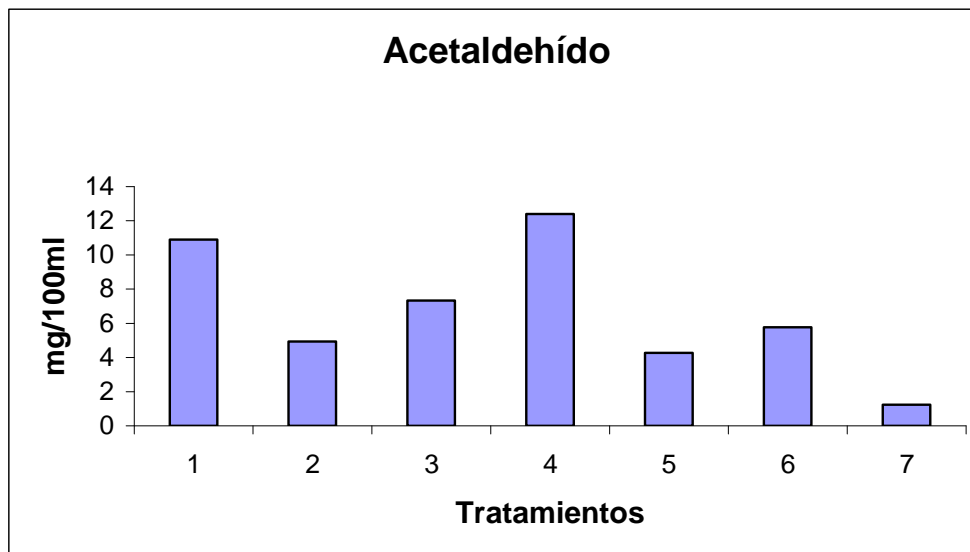
| Comparaciones | Diferencia | Valor DMS | Significación |
|---------------|------------|-----------|---------------|
| M1- M2        | 0.26       | 6.52      | *             |

\* = Significativo

NS = No significativo

Al aplicar la prueba DMS al 5% para cantidad de metabisulfito, se encontró diferencia significativa en la comparación del nivel M1 (0.15 g/l) y M2 (0.25 g/l), esto indica que la influencia ejercida por estas dosis de metabisulfito, en la reducción de acetaldehído fue marcada.

**Figura 28: Comparación de cantidad de Acetaldehído entre tratamientos**



En la figura, se observa claramente que el tratamiento 7 reporta los índices más bajos de acetaldehído presente en el calvados, con una media de: 1.23 mg/100 ml.

#### 4.4.2 Acetato de Etilo

**Cuadro 20: Resultado de Acetato de Etilo**

| Tratamientos | Repeticiones |       |       | $\Sigma$       | Media        |
|--------------|--------------|-------|-------|----------------|--------------|
|              | I            | II    | III   |                |              |
| T1           | 142.6        | 138.8 | 212.4 | 493.8          | 164.60       |
| T2           | 67.0         | 30.0  | 54.9  | 151.9          | 50.63        |
| T3           | 38.7         | 32.1  | 19.0  | 89.8           | 29.93        |
| T4           | 130.6        | 155.9 | 96.3  | 382.8          | 127.60       |
| T5           | 24.1         | 25.6  | 22.3  | 72.0           | 24.00        |
| T6           | 60.3         | 84.9  | 88.9  | 234.1          | 78.03        |
| T7           | 103.9        | 140.5 | 136.9 | 381.3          | 127.10       |
|              |              |       |       | <b>1805.70</b> | <b>85.98</b> |

**Cuadro 21: Análisis de varianza para: Acetato de Etilo**

| F. de V            | gl | SC       | CM       | FC       | F. Tabular |      |
|--------------------|----|----------|----------|----------|------------|------|
|                    |    |          |          |          | 5%         | 1%   |
| Total              | 20 | 61134.36 | -        | -        | -          | -    |
| Tratamientos       | 6  | 53698.40 | 8949.73  | 15.04 ** | 2.85       | 4.46 |
| Cantidad de Metab. | 1  | 41194.14 | 20597.07 | 38.77 ** | 4.60       | 8.86 |
| Dosis de Levadura  | 2  | 120.64   | 120.64   | 0.22 NS  | 3.74       | 6.51 |
| Factor C x D       | 2  | 6467.27  | 3233.63  | 6.08 *   | 3.74       | 6.51 |
| Testigo vs. otros  | 1  | 5916.34  | 5916.34  | 11.13 ** | 4.60       | 8.86 |
| Error experimental | 14 | 7435.96  | 531.14   | -        | -          | -    |

\*\* = Altamente significativo

\* = Significativo

NS = No significativo

**X = 85.98**

**CV = 26.80%**

El análisis de varianza determina que existió diferencia altamente significativa entre tratamientos, lo que indica que los tratamientos son diferentes.

El análisis del factor cantidad de metabisulfito, es altamente significativo, lo que significa que el efecto de las cantidades aplicadas a los diferentes tratamientos resultaron ser diferentes.

El análisis de varianza del factor dosis de levadura, reportó diferencia no significativa; este resultado indica que el efecto de las dosis aplicadas fueron iguales.

El análisis de varianza para las interacciones C x D es significativa.

Testigo vs. otros, tuvo diferencia altamente significativa, lo que indica que existió interacción entre ellos.

Se obtuvo un coeficiente de variación de 26.80% (puesto que fue considerable la diferencia entre resultados) y una media de 85.98.

**Cuadro 22: Prueba de Tuckey al 5% para Tratamientos**

| <b>Tratamientos</b> | <b>Medias</b> | <b>Rangos</b> |
|---------------------|---------------|---------------|
| T5                  | 24.00         | A             |
| T3                  | 29.93         | A B           |
| T2                  | 50.63         | A B           |
| T6                  | 78.03         | B             |
| T7                  | 127.10        | B             |
| T4                  | 127.60        | B             |
| T1                  | 164.60        | B             |

Realizada la prueba Tuckey al 5% se detecta la presencia de dos rangos (A, B) donde, en la columna del rango A se encuentran el tratamiento T5 (1.0 g/l de levadura y 0.25 g/l metabisulfito) que corresponde al que registró menor cantidad de acetato de etilo con una media de: 24.0 mg / 100 ml.

**Cuadro 23: Prueba DMS para Cantidad de Metabisulfito**

| <b>Comparaciones</b> | <b>Diferencia</b> | <b>Valor DMS</b> | <b>Significación</b> |
|----------------------|-------------------|------------------|----------------------|
| M1- M2               | 5.18              | 40.34            | NS                   |

\* = Significativo  
NS = No significativo

Al aplicar la prueba DMS al 5% para cantidad de metabisulfito, no se encontró diferencia significativa en la comparación del nivel M1 (0.15 g/l) y M2 (0.25 g/l), esto indica que la influencia ejercida por estas dosis de metabisulfito, en la reducción de acetaldehído fue marcada.

**Cuadro 24: Prueba DMS para la interacción C x D**

| <b>Comparaciones</b> | <b>Diferencia</b> | <b>Valor DMS</b> | <b>Significación</b> |
|----------------------|-------------------|------------------|----------------------|
| Test.- F. M X L      | 47.97             | 40.34            | *                    |

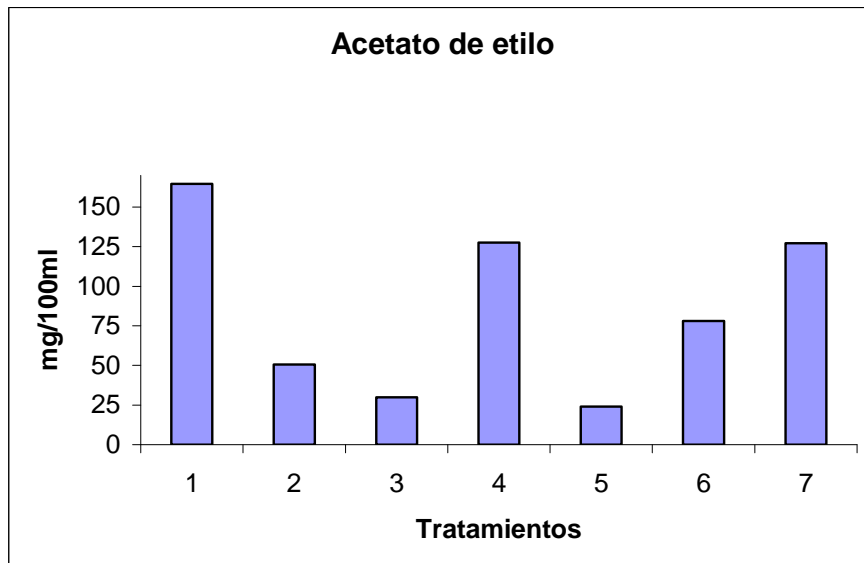
\* = Significativo  
NS = No significativo

Al aplicar la prueba DMS al 5% para el factor C x D, se encontró diferencia significativa.

Para visualizar de mejor manera, a continuación se presenta la gráfica de la comparación de cantidad de acetato de etilo presente en los diferentes tratamientos



**Figura 29: Comparación de cantidad de acetato de etilo entre tratamientos**



En la figura, se observa claramente que el tratamiento 5 reporta los índices más bajos de acetato de etilo, presente en el calvados, con una media de: 24.00 mg/100 ml.

#### 4.4.3 Alcoholes Superiores

**Cuadro 25: Resultado de Alcoholes Superiores**

| Tratamientos | Repeticiones |      |       | $\Sigma$ | Media |
|--------------|--------------|------|-------|----------|-------|
|              | I            | II   | III   |          |       |
| T1           | 41.8         | 74.7 | 119.1 | 235.6    | 78.53 |
| T2           | 74.1         | 71.3 | 87.5  | 232.9    | 77.63 |
| T3           | 106.3        | 88.7 | 50.7  | 245.7    | 81.90 |
| T4           | 72.5         | 71.7 | 44.8  | 189.0    | 63.00 |
| T5           | 47.1         | 86.0 | 40.2  | 173.3    | 57.76 |
| T6           | 55.6         | 62.8 | 77.0  | 195.4    | 65.13 |

|    |      |      |      |                |              |
|----|------|------|------|----------------|--------------|
| T7 | 30.8 | 67.8 | 72.3 | 170.9          | 56.96        |
|    |      |      |      | <b>1442.80</b> | <b>68.70</b> |

**Cuadro 26: Análisis de varianza para: Alcoholes Superiores**

| F. de V                   | gl | SC      | CM      | FC         | F. Tabular |      |
|---------------------------|----|---------|---------|------------|------------|------|
|                           |    |         |         |            | 5%         | 1%   |
| Total                     | 20 | 9725.12 | -       | -          | -          | -    |
| Tratamientos              | 6  | 1959.47 | 326.57  | 0.55<br>NS | 2.85       | 4.46 |
| Cantidad de Metabisulfito | 1  | 101.60  | 50.80   | 0.08<br>NS | 4.60       | 8.86 |
| Dosis de Levadura         | 2  | 1360.68 | 1360.68 | 2.29<br>NS | 3.74       | 6.51 |
| Factor C x D              | 2  | 14.95   | 7.47    | 0.01<br>NS | 3.74       | 6.51 |
| Testigo vs. otros         | 1  | 482.23  | 482.23  | 0.80<br>NS | 4.60       | 8.86 |
| Error experimental        | 14 | 7765.65 | 554.68  | -          | -          | -    |

\*\* = Altamente significativo

\* = Significativo

NS = No significativo

**X = 68.70**

**CV = 34.28%**

El análisis de varianza determina que no existió diferencia significativa entre tratamientos, lo que indica que los tratamientos son iguales.

El análisis del factor cantidad de metabisulfito, es no significativo, lo que significa que el efecto de las cantidades aplicadas a los diferentes tratamientos resultaron ser iguales.

El análisis de varianza del factor dosis de levadura, reportó diferencia no significativa; este resultado indica que el efecto de las dosis aplicadas, fueron iguales.

El análisis de varianza para las interacciones C x D es no significativa.

Testigo vs. otros, no tuvo diferencia significativa, lo que indica que no existió interacción entre ellos. Se obtuvo un coeficiente de variación de 34.28% (puesto que fue considerable la diferencia entre resultados) y una media de 68.70.

**Figura 30: Comparación de cantidad de Alcoholes Superiores entre tratamientos**



En la figura, se puede observar, que el tratamiento 7 (sin adición de metabisulfito ni levadura) tiene la menor cantidad de alcoholes superiores con una media de 56.96 mg/100ml lo que significa que es el mejor tratamiento.

#### 4.4.4 Furfural

**Cuadro 27: Resultado de Furfural**

|  |                     |  |  |
|--|---------------------|--|--|
|  | <b>Repeticiones</b> |  |  |
|--|---------------------|--|--|

| Tratamientos | I   | II  | III | $\Sigma$     | Media       |
|--------------|-----|-----|-----|--------------|-------------|
| T1           | 1.2 | 1.3 | 1.6 | 4.1          | 1.36        |
| T2           | 1.1 | 1.1 | 1.0 | 3.2          | 1.06        |
| T3           | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 3.0          | 1.00        |
| T4           | 1.2 | 1.2 | 1.1 | 3.5          | 1.16        |
| T5           | 1.0 | 1.0 | 1.0 | 3.0          | 1.00        |
| T6           | 1.1 | 1.4 | 1.0 | 3.5          | 1.16        |
| T7           | 1.1 | 1.2 | 1.1 | 3.4          | 1.13        |
|              |     |     |     | <b>23.70</b> | <b>1.12</b> |

**Cuadro 28: Análisis de varianza para: Furfural**

| F. de V                   | gl | SC   | CM   | FC      | F. Tabular |      |
|---------------------------|----|------|------|---------|------------|------|
|                           |    |      |      |         | 5%         | 1%   |
| Total                     | 20 | 0.48 | -    | -       | -          | -    |
| Tratamientos              | 6  | 0.28 | 0.04 | 3.34 *  | 2.85       | 4.46 |
| Cantidad de Metabisulfito | 1  | 0.18 | 0.09 | 9.05 ** | 4.60       | 8.86 |
| Dosis de Levadura         | 2  | 0.00 | 0.00 | 0.50 NS | 3.74       | 6.51 |
| Factor C x D              | 2  | 0.10 | 0.05 | 5.16 *  | 3.74       | 6.51 |
| Testigo vs. otros         | 1  | 0.00 | 0.00 | 0.94 NS | 4.60       | 8.86 |
| Error experimental        | 14 | 0.20 | 0.01 | -       | -          | -    |

\*\* = Altamente significativo

\* = Significativo

NS = No significativo

**X = 1.12**

**CV = 8.92%**

El análisis de varianza determina que existió diferencia significativa entre tratamientos, lo que indica que los tratamientos son diferentes.

El análisis del factor cantidad de metabisulfito, es altamente significativo, lo que significa que el efecto de las cantidades aplicadas a los diferentes tratamientos resultaron ser diferentes.

El análisis de varianza del factor dosis de levadura, reportó diferencia no significativa; este resultado indica que el efecto de las dosis aplicadas, fueron iguales.

El análisis de varianza para las interacciones C x D es significativa

Testigo vs. otros, no tuvo diferencia significativa, lo que indica que no existió interacción entre ellos.

Se obtuvo un coeficiente de variación de 8.92 puesto que fue considerable la diferencia entre resultados; y una media de 1.12.

**Cuadro 29: Prueba de Tuckey al 5% para Tratamientos**

| <b>Tratamientos</b> | <b>Medias</b> | <b>Rangos</b> |
|---------------------|---------------|---------------|
| T5                  | 1.0           | A             |
| T3                  | 1.0           | A             |
| T2                  | 1.06          | A             |
| T7                  | 1.13          | B             |
| T6                  | 1.16          | B             |
| T4                  | 1.16          | B             |
| T1                  | 1.36          | B             |

Realizada la prueba Tuckey al 5% se detecta la presencia de dos rangos (A, B) donde, en la columna del rango A se encuentra el tratamiento T5 (1.0 g/l de levadura y 0.25 g/l metabisulfito) con una media de 1.0 mg/100 ml al igual que el tratamiento T3 (1.5 g/l de levadura y 0.15 g/l metabisulfito)

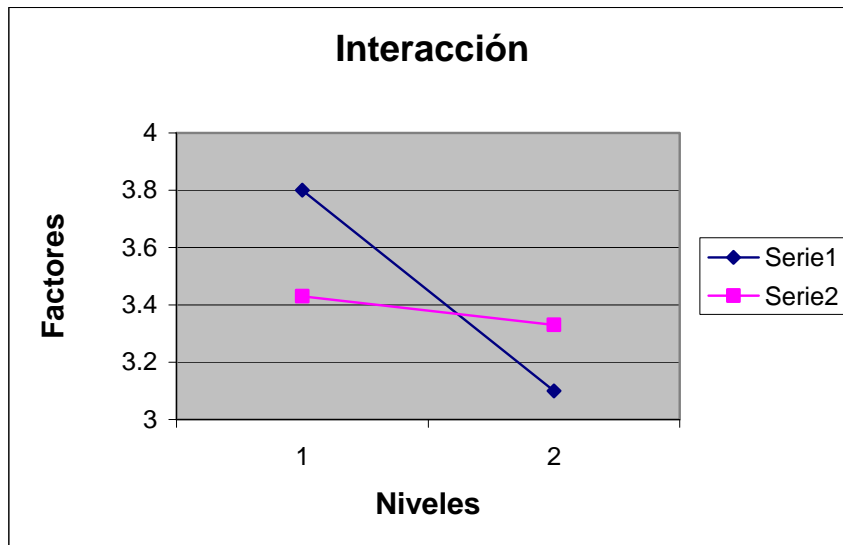
**Cuadro 30: Prueba DMS para Cantidad de Metabisulfito**

| Comparaciones | Diferencia | Valor DMS | Significación |
|---------------|------------|-----------|---------------|
| M1- M2        | 0.10       | 0.17      | NS            |

\* = Significativo  
NS = No significativo

Al aplicar la prueba DMS al 5% para cantidad de metabisulfito, no se encontró diferencia significativa en la comparación del nivel M1 (0.15 g/l) y M2 (0.25 g/l), esto indica que la influencia ejercida por estas dosis de metabisulfito, en la reducción de acetaldehído fue marcada.

**Figura 31: Interacción de los factores C X D**

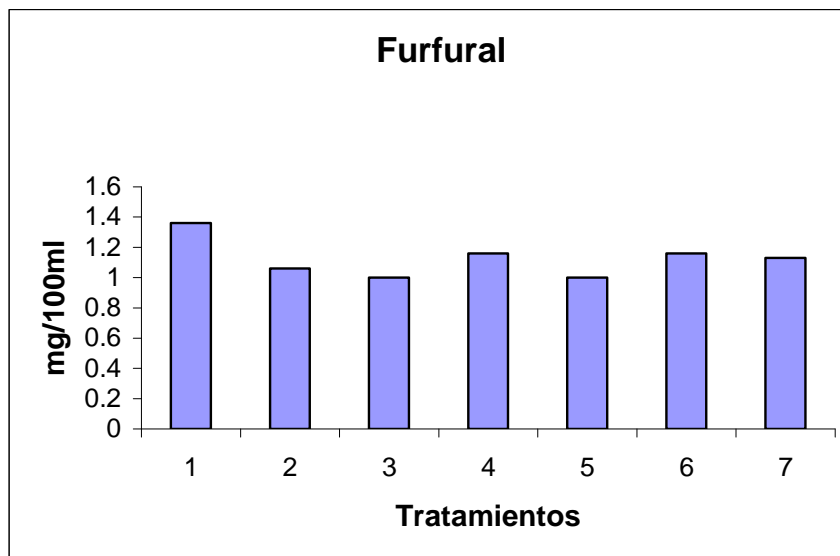


Serie 1: Levadura

Serie 2: Metabisulfito

Luego de analizar el gráfico, se concluye que los factores Levadura y Metabisulfito, interactúan en el valor de 3.37

**Figura 32: Comparación de cantidad de Furfural entre tratamientos**



Tras observar la gráfica, se puede indicar que existen dos tratamientos que reportan iguales cantidades en el contenido de furfural; T5 y T3 convirtiéndose en los mejores, por tener niveles más bajos de furfural.

#### 4.4.5 Metanol

**Cuadro 31: Resultado de Metanol**

| Tratamientos | Repeticiones |     |      | $\Sigma$     | Media       |
|--------------|--------------|-----|------|--------------|-------------|
|              | I            | II  | III  |              |             |
| T1           | 3.7          | 4.8 | 10.2 | 18.7         | 6.23        |
| T2           | 3.4          | 4.1 | 4.6  | 12.1         | 4.03        |
| T3           | 5.4          | 6.5 | 4.3  | 16.2         | 5.40        |
| T4           | 5.8          | 9.6 | 5.2  | 20.6         | 6.86        |
| T5           | 3.2          | 4.0 | 2.7  | 9.9          | 3.30        |
| T6           | 3.2          | 4.0 | 4.0  | 11.2         | 3.73        |
| T7           | 2.6          | 5.4 | 4.0  | 12.0         | 4.00        |
|              |              |     |      | <b>100.7</b> | <b>4.79</b> |

**Cuadro 32: Análisis de varianza para: Metanol**

| F. de V                   | gl | SC    | CM    | FC      | F. Tabular |      |
|---------------------------|----|-------|-------|---------|------------|------|
|                           |    |       |       |         | 5%         | 1%   |
| Total                     | 20 | 77.84 | -     | -       | -          | -    |
| Tratamientos              | 6  | 33.90 | 5.65  | 1.95 NS | 2.85       | 4.46 |
| Cantidad de Metabisulfito | 1  | 26.11 | 13.05 | 4.21 NS | 4.60       | 8.86 |
| Dosis de Levadura         | 2  | 1.56  | 1.56  | 0.50 NS | 3.74       | 6.51 |
| Factor C x D              | 2  | 4.01  | 2.0   | 0.64 NS | 3.74       | 6.51 |
| Testigo vs. otros         | 1  | 2.21  | 2.21  | 0.71 NS | 4.60       | 8.86 |
| Error experimental        | 14 | 43.94 | 3.10  | -       | -          | -    |

\*\* = Altamente significativo

\* = Significativo

NS = No significativo

**X = 4.79**

**CV = 36.75%**

El análisis de varianza determina que no existió diferencia significativa entre tratamientos, lo que indica que los tratamientos son iguales.

El análisis del factor cantidad de metabisulfito, es no significativo, lo que significa que el efecto de las cantidades aplicadas a los diferentes tratamientos resultaron ser iguales.

El análisis de varianza del factor dosis de levadura, reportó diferencia no significativa; este resultado indica que el efecto de las dosis aplicadas, fueron iguales.

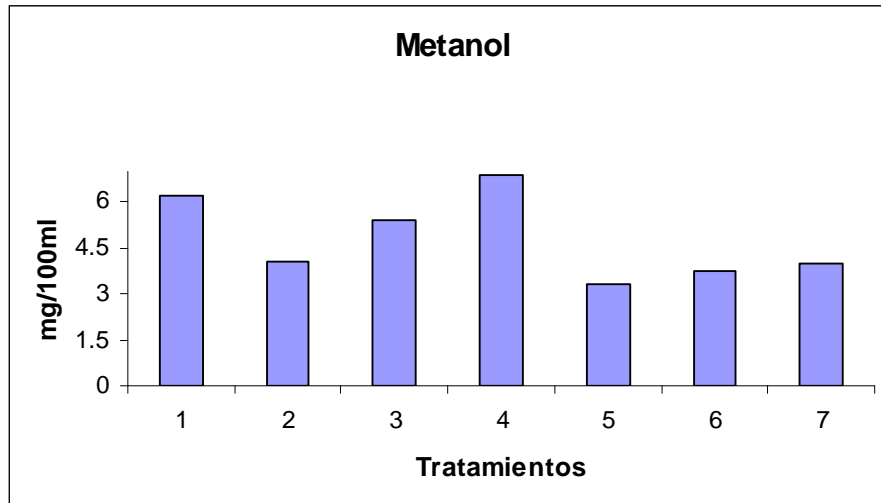
El análisis de varianza para las interacciones C x D es no significativa.

Testigo vs. otros, no tuvo diferencia significativa, lo que indica que no existió interacción entre ellos.

Se obtuvo un coeficiente de variación de 36.75% (puesto que fue considerable la diferencia entre resultados) y una media de 4.79.



**Figura 33: Comparación de cantidad de Metanol entre tratamientos**



Luego de observar la figura, se puede indicar que el tratamiento T5 (1.0 g/l levadura y 0.25 g/l de metabisulfito), reporta el nivel más bajo de contenido de metanol, con una media de 3.30 mg/100 ml, por tanto, es el mejor.

#### 4.5 ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO

Para el análisis organoléptico se hizo referencia a los siguientes atributos: aroma, color, sabor con tres muestras que son:

1 = T3

2 = T5

3 = T7

**Cuadro 33: Valoración de la característica aroma**

| Catadores | Muestras |   |   | $\Sigma$ |
|-----------|----------|---|---|----------|
|           | 1        | 2 | 3 |          |
| C1        | 4        | 5 | 3 | 12       |
| C2        | 4        | 5 | 4 | 13       |
| C3        | 3        | 3 | 3 | 9        |

|            |            |            |            |            |
|------------|------------|------------|------------|------------|
| <b>C4</b>  | 2          | 4          | 4          | 10         |
| <b>C5</b>  | 4          | 3          | 3          | 10         |
| <b>C6</b>  | 4          | 5          | 4          | 13         |
| <b>C7</b>  | 3          | 4          | 5          | 12         |
| <b>C8</b>  | 4          | 5          | 4          | 13         |
| <b>C9</b>  | 3          | 5          | 4          | 12         |
| <b>C10</b> | 4          | 4          | 4          | 12         |
| <b>Σ</b>   | <b>35</b>  | <b>43</b>  | <b>38</b>  | <b>116</b> |
| <b>X</b>   | <b>3.5</b> | <b>4.3</b> | <b>3.8</b> |            |

**Cuadro 34: Datos ranqueados de aroma**

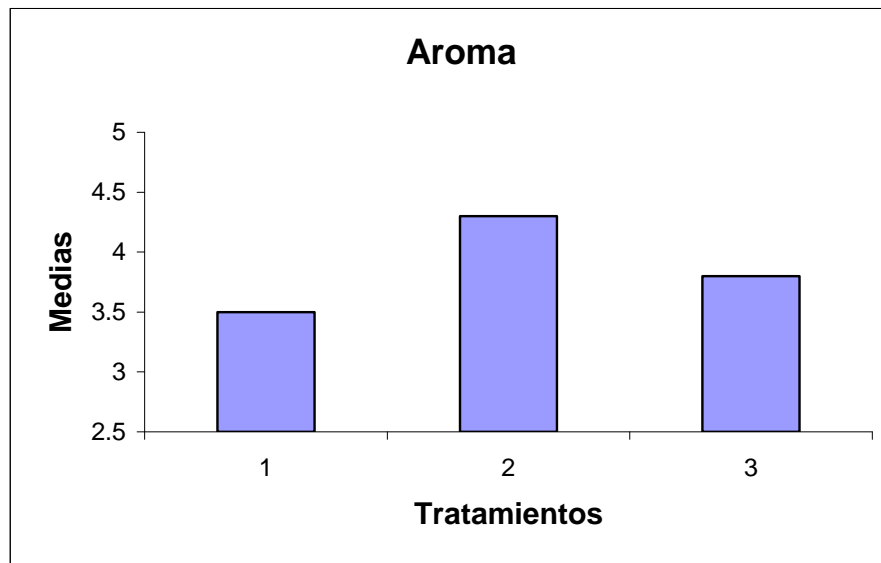
| <b>Catadores</b> | <b>Muestras</b> |               |               | <b>Σ</b>      |
|------------------|-----------------|---------------|---------------|---------------|
|                  | <b>1</b>        | <b>2</b>      | <b>3</b>      |               |
| <b>C1</b>        | 2               | 3             | 1             | 6             |
| <b>C2</b>        | 1               | 4             | 1             | 6             |
| <b>C3</b>        | 2               | 2             | 2             | 6             |
| <b>C4</b>        | 1               | 2.5           | 2.5           | 6             |
| <b>C5</b>        | 4               | 1             | 1             | 6             |
| <b>C6</b>        | 1               | 4             | 1             | 6             |
| <b>C7</b>        | 1               | 2             | 3             | 6             |
| <b>C8</b>        | 1               | 4             | 1             | 6             |
| <b>C9</b>        | 1               | 3             | 2             | 6             |
| <b>C10</b>       | 2               | 2             | 2             | 6             |
| <b>Σ</b>         | <b>16</b>       | <b>27.5</b>   | <b>16.5</b>   | <b>60</b>     |
| <b>X</b>         | <b>256</b>      | <b>756.25</b> | <b>272.25</b> | <b>1284.5</b> |

**X<sub>2</sub> = 8.45 NS**

Después de realizar la prueba de FREEDMAN para la característica organoléptica aroma, se encontró que estadísticamente es no significativa; por tanto, las muestras son iguales.

Para visualizar de mejor manera, se realizó el siguiente gráfico:

**Figura 34: aroma**



Como se puede observar en el gráfico, la muestra 2 (1.0 g/l Levadura y 0.25 g/l Metabisulfito) tiene la media más alta con 4.3 que esta dentro de la calificación Muy Bueno, aparentemente, sería el mejor tratamiento, sin embargo, aplicando la prueba no paramétrica de Freedman, se detecta que, todos los tratamientos son iguales.

**Cuadro 35: Valoración de la característica color**

| Catadores  | Muestras   |            |            | $\Sigma$   |
|------------|------------|------------|------------|------------|
|            | 1          | 2          | 3          |            |
| <b>C1</b>  | 4          | 4          | 4          | 12         |
| <b>C2</b>  | 5          | 5          | 5          | 15         |
| <b>C3</b>  | 4          | 4          | 4          | 12         |
| <b>C4</b>  | 4          | 5          | 4          | 13         |
| <b>C5</b>  | 5          | 4          | 3          | 12         |
| <b>C6</b>  | 4          | 4          | 4          | 12         |
| <b>C7</b>  | 5          | 4          | 5          | 14         |
| <b>C8</b>  | 4          | 4          | 4          | 12         |
| <b>C9</b>  | 4          | 4          | 4          | 12         |
| <b>C10</b> | 3          | 5          | 4          | 12         |
| $\Sigma$   | <b>42</b>  | <b>43</b>  | <b>41</b>  | <b>126</b> |
| <b>X</b>   | <b>4.2</b> | <b>4.3</b> | <b>4.1</b> |            |

**Cuadro 36: Datos ranqueados de color**

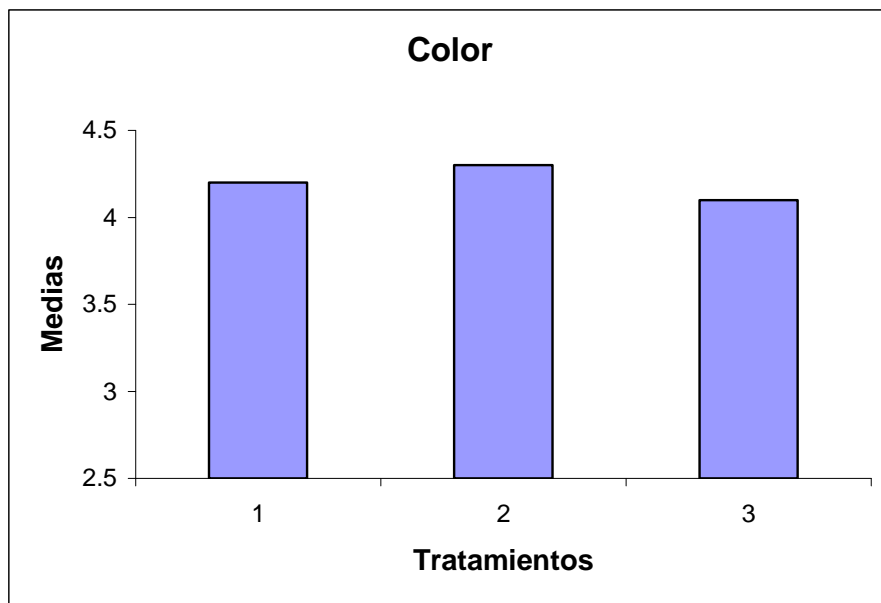
| Catadores  | Muestras      |            |               | $\Sigma$      |
|------------|---------------|------------|---------------|---------------|
|            | 1             | 2          | 3             |               |
| <b>C1</b>  | 2             | 2          | 2             | 6             |
| <b>C2</b>  | 2             | 2          | 2             | 6             |
| <b>C3</b>  | 2             | 2          | 2             | 6             |
| <b>C4</b>  | 1             | 4          | 1             | 6             |
| <b>C5</b>  | 3             | 2          | 1             | 6             |
| <b>C6</b>  | 2             | 2          | 2             | 6             |
| <b>C7</b>  | 2.5           | 1          | 2.5           | 6             |
| <b>C8</b>  | 2             | 2          | 2             | 6             |
| <b>C9</b>  | 2             | 2          | 2             | 6             |
| <b>C10</b> | 1             | 3          | 2             | 6             |
| $\Sigma$   | <b>19.5</b>   | <b>22</b>  | <b>18.5</b>   | <b>60</b>     |
| <b>X</b>   | <b>380.25</b> | <b>484</b> | <b>342.24</b> | <b>1206.5</b> |

$\chi^2 = 0.65$  NS

Después de realizar la prueba de FREEDMAN para la característica organoléptica color, se encontró que estadísticamente es no significativa; por tanto, las muestras son iguales.

Para visualizar de mejor manera, se realizó el siguiente gráfico

**Figura 35: color**



Como se puede observar en el gráfico, la muestra 2 (1.0 g/l levadura y 0.25 g/l Metabisulfito) tiene la media más alta con 4.3 que esta dentro de la calificación Muy Bueno, aplicando la prueba no paramétrica de Freedman, indica que, todos los tratamientos son iguales; como demuestra el gráfico, hay una ligera diferencia entre tratamientos.

**Cuadro 37: Valoración de la característica sabor**

| <b>Catadores</b> | <b>Muestras</b> |            |            | $\Sigma$   |
|------------------|-----------------|------------|------------|------------|
|                  | <b>1</b>        | <b>2</b>   | <b>3</b>   |            |
| <b>C1</b>        | 4               | 5          | 4          | 13         |
| <b>C2</b>        | 3               | 4          | 4          | 11         |
| <b>C3</b>        | 3               | 4          | 3          | 10         |
| <b>C4</b>        | 4               | 4          | 4          | 12         |
| <b>C5</b>        | 5               | 5          | 4          | 14         |
| <b>C6</b>        | 4               | 3          | 3          | 10         |
| <b>C7</b>        | 4               | 3          | 4          | 11         |
| <b>C8</b>        | 4               | 4          | 3          | 11         |
| <b>C9</b>        | 3               | 4          | 3          | 10         |
| <b>C10</b>       | 4               | 5          | 4          | 13         |
| $\Sigma$         | <b>38</b>       | <b>41</b>  | <b>36</b>  | <b>115</b> |
| <b>X</b>         | <b>3.8</b>      | <b>4.1</b> | <b>3.6</b> |            |

**Cuadro 38: Datos ranqueados de sabor**

| Catadores  | Muestras      |               |            | $\Sigma$      |
|------------|---------------|---------------|------------|---------------|
|            | 1             | 2             | 3          |               |
| <b>C1</b>  | 1             | 4             | 1          | 6             |
| <b>C2</b>  | 1             | 2.5           | 2.5        | 6             |
| <b>C3</b>  | 1             | 4             | 1          | 6             |
| <b>C4</b>  | 2             | 2             | 2          | 6             |
| <b>C5</b>  | 2.5           | 2.5           | 1          | 6             |
| <b>C6</b>  | 4             | 1             | 1          | 6             |
| <b>C7</b>  | 2.5           | 1             | 2.5        | 6             |
| <b>C8</b>  | 2.5           | 2.5           | 1          | 6             |
| <b>C9</b>  | 1             | 4             | 1          | 6             |
| <b>C10</b> | 1             | 4             | 1          | 6             |
| $\Sigma$   | <b>18.5</b>   | <b>27.5</b>   | <b>14</b>  | <b>60</b>     |
| <b>X</b>   | <b>342.25</b> | <b>756.25</b> | <b>196</b> | <b>1294.5</b> |

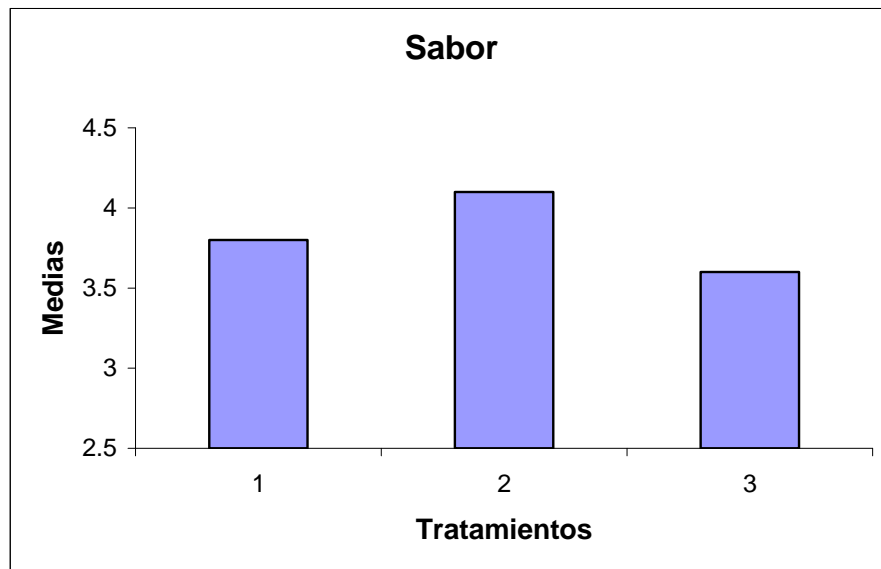
**X<sup>2</sup> = 9.45 NS**



Después de realizar la prueba de FREEDMAN para la característica organoléptica sabor, se encontró que estadísticamente es no significativa; por tanto, las muestras son iguales.

Para visualizar de mejor manera, se realizó el siguiente gráfico:

**Figura 36: Sabor**



Como se puede observar en el gráfico, la muestra 2 (1.0 g/l Levadura y 0.25 g/l metabisulfito) tiene la media más alta con 4.1 que esta dentro de la calificación Muy Bueno, aún siendo más alta que las otras, aplicando la prueba no paramétrica de Freedman, indica que todos los tratamientos son iguales; como demuestra el gráfico, hay una ligera diferencia entre tratamientos.

#### 4.6 ANÁLISIS DE COSTOS

**Cuadro 39: Costos del mejor tratamiento: T5**

| <b>Materia Prima</b> | <b>Unidad</b> | <b>Cantidad</b> | <b>P.unitario</b> | <b>P. Total</b> |
|----------------------|---------------|-----------------|-------------------|-----------------|
| Manzana              | Kg            | 17.5            | 0.80              | 14              |
| Azúcar               | Kg            | 1.5             | 1.30              | 1.95            |
| Levadura             | g             | 25              | 0.08              | 0.20            |
| Metabisulfito        | g             | 6.25            | 0.10              | 0.62            |
| Agua                 | l             | 60              | 0.03              | 1.80            |
| Tina                 | 1             | 1               | 8.00              | 8.00            |
| Gas                  | Kg            | 3               | 0.15              | 0.45            |
| Botellas             | 1             | 1               | 0.15              | 0.15            |
| Tapas                | 1             | 1               | 0.05              | 0.05            |
| Mano de obra         |               | 1               | 1/h               | 5               |
| T.C.V                |               |                 |                   | 27.22           |

$$\mathbf{T.C.O = T.C.V + C.F}$$

Total costos operativos = Total costos variables + Costos fijos

$$T.C.O = 27.22 + 5$$

$$= \mathbf{32.22}$$

Volumen de producto obtenido: 3000 ml

Número de botellas de 750 ml = 4

**T.C.O / N° botellas**

$$32.22 / 4 = \mathbf{8.05}$$

Precio de cada botella de 150 ml: **8.05 dólares**

**Cuadro 40: Costos para tratamientos**

| <b>Tratamientos</b> | <b>Costo</b> | <b>Costo / Botella</b> |
|---------------------|--------------|------------------------|
| <b>T1</b>           | 31.80        | 7.95                   |
| <b>T2</b>           | 31.90        | 7.97                   |
| <b>T3</b>           | 32.00        | 8.00                   |
| <b>T4</b>           | 33.02        | 8.25                   |
| <b>T5</b>           | 32.22        | 8.05                   |
| <b>T6</b>           | 35.02        | 8.75                   |
| <b>T7</b>           | 31.40        | 7.85                   |

Luego de analizar los costos para cada tratamiento, se encontró que los tratamientos, se encuentran con similar costo, ya que lo que varía entre éstos es la cantidad de levadura y metabisulfito adicionados. El tratamiento que registra menor costo fue el T7 puesto que a éste, no se le suministró ni levadura ni metabisulfito.

# CAPÍTULO V

## 5 CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1 Conclusiones

De los resultados obtenidos de la presente investigación, se concluye que:

- Con respecto a la determinación de curvas de crecimiento de levaduras y variación de grados Brix, se encontró que el tratamiento 3 (1.5 gramos por litro de levadura, y 0.15 gramos por litro de metabisulfito) fue el que tuvo menor tiempo de fermentación y una mayor cantidad de levaduras presentes en la fase estacionaria; los grados Brix disminuyeron de forma continua de acuerdo al paso del tiempo y el consumo de sustrato.

Este tratamiento tuvo un tiempo de fermentación de (14 días), una diferencia significativa con respecto al testigo al que no se adicionó ni levadura ni metabisulfito y, registró un tiempo de fermentación de 47 días.

- El grado alcohólico del mosto, estadísticamente es no significativo; siendo todos los tratamientos iguales; sin embargo, los que registraron mayor grado fueron los tratamientos 3, 6 y 7. Los dos primeros, se les suministró igual dosis de levadura, al tratamiento siete, no se adicionó levadura, pues éste, cumplió el proceso fermentativo usando levaduras propias de la fruta registrando resultados similares a los otros tratamientos.
- En lo referente a los análisis físico químicos del producto terminado, se concluye que, la presencia de congéneres son metabolitos secundarios

propios de la fermentación alcohólica, mismos que se encuentran dentro de los rangos permitidos de la norma INEN 366, siendo segura la ingesta para el ser humano.

- El grado alcohólico del producto se encuentra entre 39.6 y 42.6 °GL siendo fruto de una sola destilación, es decir, que es un producto no rectificado que conserva las características propias de la fruta de la cual proviene.
- Del análisis organoléptico, se concluye que el mejor tratamiento para las características evaluadas: color, olor, sabor es la muestra dos que corresponde al tratamiento cinco.
- La manzana usada en esta investigación; organolépticamente es buena, y se confirma su calidad por cuanto se puede fermentar sin usar un cultivo iniciador, aspecto importante, ya que en la actualidad por el excesivo uso de plaguicidas y químicos en general usados en la mayoría de cultivos dificulta dicho proceso.
- Por lo tanto, se concluye que el mejor tratamiento para la investigación: **“Producción y destilación de mosto de manzana (variedad Santa Lucia) para la obtención de calvados “** fue el tratamiento cinco (1.0 g/l de levadura y 0.25 g/l de metabisulfito) con las siguientes características:

#### **Norma INEN 366**

|                                |           |                    |
|--------------------------------|-----------|--------------------|
| Tiempo de fermentación:        | 25 días   |                    |
| Grado alcohólico del mosto:    | 4.2 ° GL  |                    |
| Grado alcohólico del producto: | 42.6 ° GL | <b>38 – 45 °GL</b> |
| Rendimiento                    | 12 %      |                    |

|                         |               |                          |
|-------------------------|---------------|--------------------------|
| Volumen cuerpo obtenido | 3000 ml       |                          |
| Total congéneres:       | 90.3 mg/100ml | <b>57 – 450 mg/100ml</b> |

Se acepta la hipótesis alternativa que dice:

La cantidad de metabisulfito de potasio y el porcentaje de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* inciden en el tiempo de fermentación.

## 5.2 Recomendaciones

- ❖ Se recomienda usar manzanas sin defectos pero también se puede usar fruta con pequeñas fallas físicas para la producción de calvados; de ésta manera se da uso a este tipo de fruta y se disminuye las pérdidas en una plantación.
- ❖ La manzana usada para la producción de calvados, no debe ser ni tierna ni sobre madura, debido que afectaría al proceso de fermentación; de tal manera que la fruta debe encontrarse en estado medio de maduración.
- ❖ Para la fermentación del mosto, se recomienda usar otro tipo de levadura o enzima como también probar con temperaturas mayores a la del medio ambiente para de ésta manera disminuir tiempos de fermentación.
- ❖ Durante la destilación se recomienda, prolijidad en cuanto a la temperatura de calentamiento, puesto que mientras más baja sea, se dará mayor

oportunidad a la separación de los diferentes tipos de compuestos presentes en este proceso, y por lo tanto, mayor control; con lo cual se obtendrá un producto de mejor calidad.

- ❖ Si en futuras investigaciones de destilación, se usaría frutas ácidas, se recomienda usar un equipo destilador construido de acero inoxidable para evitar corrosión del material; puesto que el cobre no es el material más apropiado para dicho propósito.
- ❖ Antes de cada destilación, se recomienda, destilar primero agua para así limpiar la tubería del equipo de posibles contaminantes.
- ❖ Para disminuir pérdidas de producción, se recomienda usar las partes del fraccionamiento de la destilación es decir: cabeza y colas como solventes orgánicos; las colas se pueden usar para la limpieza de botellas.
- ❖ Para la producción industrial de calvados, se recomienda usar fermentación continua, es decir, tomar cepas de la fase estacionaria y que éstas sean iniciadoras de otro fermento, acortando significativamente el tiempo de fermentación.
- ❖ Se recomienda la industrialización de calvados, ya que existe producción de manzana en nuestro medio y lo más importante; no se conoce que Ecuador produzca este tipo de licor.



# CAPÍTULO VI

## 6 RESUMEN

Para la obtención de calvados usando como materia prima la manzana variedad Santa Lucia, el objetivo general fue producir y destilar mosto de manzana (variedad Santa Lucía) para la obtención de calvados; se probaron tres dosis de levadura *Saccharomyces cerevisiae*: 0.5, 1, 1.5 gramos/litro y también dos dosis de metabisulfito de potasio 0.15 y 0.25 gramos/litro durante el proceso de fermentación alcohólica.

Para el estudio estadístico se utilizó un Diseño Completamente al Azar con arreglo factorial A X B + 1, siete tratamientos y tres repeticiones; la unidad experimental correspondió a veinte y cinco litros de jugo de manzana; partiendo la fermentación con 13 ° Brix para todos los tratamientos. Se realizó el análisis funcional Tuckey al 5% para tratamientos y Diferencia Mínima Significativa para los factores estudiados.

Para determinar la calidad del producto, se evaluaron variables cuantitativas: (determinación de curvas de crecimiento de levaduras, variación de grados Brix, grado alcohólico del mosto, grado alcohólico del calvados, evaluación físico-químico) y cualitativas: Aroma, color, sabor.

Con respecto a la determinación de curvas de crecimiento de levaduras y variación de grados Brix, se encontró que el tratamiento tres (1.5 gramos por litro de levadura, y 0.15 gramos por litro de metabisulfito) fue el que tuvo menor tiempo de fermentación (14 días) y una mayor cantidad de levaduras presentes en la fase estacionaria; los grados Brix disminuyeron de forma continua de acuerdo al paso del tiempo y el consumo de sustrato por parte de las levaduras;

todos los tratamientos llegaron hasta 5° Brix, lo que indica el final de la fermentación. El tratamiento siete (sin adición de levadura ni metabisulfito) triplicó el tiempo de fermentación (47 días) respecto al tratamiento tres, sin embargo, la curva de crecimiento de levaduras fue normal, al igual que la disminución de grados Brix.

Para el grado alcohólico del mosto, se detectó diferencia no significativa tanto para tratamientos, como para factores. Teniendo la media más alta los tratamientos T3, T6, T7.

El grado alcohólico del calvados registró diferencia no significativa para tratamientos y para factores. El grado alcohólico se encuentra dentro de los parámetros de la norma INEN 366 (Norma para Brandy)

En la evaluación físico – química, se analizaron cinco aspectos: acetaldehídos, acetato de etilo, alcoholes superiores, furfural y metanol; presentando todos los tratamientos los niveles de tolerancia permitidos, de acuerdo con el INEN y su norma 366.

En el análisis organoléptico, aroma, color, sabor se detectó que es no significativo para los tres aspectos; por lo tanto, todos los tratamientos son iguales.

El costo para el mejor tratamiento (T5) fue de 8.05 dólares por cada botella de 750 ml de contenido.

Del análisis de resultados se acepta la hipótesis alternativa que dice:

La cantidad de metabisulfito de potasio y el porcentaje de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* inciden en el tiempo de fermentación.

## SUMMARY

To obtain calvados using as the raw material the apple variety Santa Lucia, the general objective was to produce and distil apple juice (variety Santa Lucia) to obtain calvados. Three doses of yeast *Saccharomyces cerevisiae* were tried out: 0.5, 1, 1.5 grams/litre and also two doses of potassium meta-bisulphite 0.15 and 0.25 grams/litre during the process of alcoholic fermentation.

For the statistic study, a Completely at Random Design was used with the factorial arrangement  $A \times B + 1$ , seven treatments and three repetitions. The experimental unit corresponded to twenty-five litres of apple juice starting the fermentation with 13° Brix for all the treatments. The functional analysis Tuckey was carried out at 5% for treatments and the Meaningful Minimum Difference for the studied factors.

To determine the quality of the product, quantitative variables were evaluated: (determination of the growth curves of the yeast, variation of degrees of Brix, degrees of alcohol in the juice, degrees of alcohol in the calvados, physical-chemical evaluation) and the qualitative ones: scent, colour, taste.

With regard to the determination of the growth curves of the yeast and the variation of the degree of Brix, it was found that treatment three (1.5 grams yeast per litre and 0.15 grams meta-bisulphite per litre) was the one with the best fermentation time (14 days) and the highest yeast quantity present at the stable stage; the degrees of Brix decreased continually with the time and the consumption of the substrate by the yeast; All the treatments came down to 5° Brix which shows the end of fermentation. Treatment seven (without addition of yeast or meta-bisulphite) triples fermentation time (47 days) with regard to

treatment three, The growth curve of yeast, however, was normal as well as the decrease of degrees Brix.

For the alcohol degree of the juice, no important difference for the treatments was detected, neither for factors. The treatments T3, T6, T7 had the highest average. The alcohol degree of the calvados registered no important difference for treatments and factors. The alcohol degree is within the parameters of the INEN norm 366 (norm for Brandy).

In the physical-chemical evaluation, five aspects were analysed: acetic aldehyde, ethyl acetate, superior alcohols, furfural and methanol showing all the treatments the permitted tolerance levels according to INEN and its norm 366.

In the sense analysis of scent, colour, taste it was detected that it is not important for the three aspects, so all the treatments are the same.

The cost for the best treatment (T5) was 8.05 dollars for each bottle of 750 ml content.

Due to the analysis of the results, the alternative hypothesis was accepted saying: The quantity of potassium meta-bisulphite and the percentage of yeast *Saccharomyces cerevisiae* impinge on fermentation time.

# CAPÍTULO VII

## 7 BIBLIOGRAFIA

1. BETANCOURT. R. (2001). Guía de Operaciones Unitarias III.
2. CONRADO M, COALDMAW. Fabricación Casera de Licores. Editorial de Vecchi S.A. Barcelona 1985
3. Editorial. UNM. Manizales p.30-35
4. Biblioteca Práctica Agrícola y Ganadera (1984). Práctica de cultivos Tomo III. Editorial Océano p. 128
5. EARLE, R. (1979). Ingeniería de los Alimentos Editorial Acribia p. 223.
6. ENCICLOPEDIA SALVAT (1980) Como funciona Salvat p.43-46
7. ENCICLOPEDIA ENCARTA (2007)
8. GEANKOPLIS, Ch (1986) Procesos de Transporte CECSA p.557.
9. GONZÁLEZ, E Y JOVER J. (2002) Alternativas Tecnológicas para la Producción de Bioetanol. CYTEDAECY.
10. VERVINA, N. (1988) Microbiología de las Producciones Alimentarias. Editorial Agro Moscú, México.
11. <http://frutas.consumer.es/documentos/frescas/manzana/intro.php>

12. [http://bedri.webcindario.com/Libreta\\_de\\_apuntes/M/MA/Manzano.htm](http://bedri.webcindario.com/Libreta_de_apuntes/M/MA/Manzano.htm)
13. <http://www.consumer.es/web/es/alimentacion/guia-alimentos/frutas-y-derivados/2004/09/02/108242.php>
14. <http://www.unavarra.es/genmic/microgral/Tema%2002.%20Cultivo%20de%20microorganismos.pdf>



# CAPÍTULO VIII

## **ANEXOS**

### **ANEXO 1: Resultados del análisis físico-químico de los tratamientos**

**ANEXO 2: Norman INEN N° (340, 350, 366)**

**ANEXO**

**3:**

**Hoja**

**para la evaluación organoléptica**

## **CATA DE CALVADOS**

**Catar:** Es la operación mediante la que, utilizando los sentidos, se determinan las características organolépticas del producto como es: color, olor, sabor.

### **Consideraciones para el catador**

- El catador no debe fumar ni ingerir bebidas o alimentos durante el tiempo de la operación
- Las manos deben estar completamente limpias exentas de olores a fin de evitar confusiones en la operación.
- No debe efectuarse el ensayo si el catador tiene las vías respiratorias o la cavidad bucal afectadas; si se encuentra cansado o afectado el sistema nervioso.

### **COLOR:**

El calvados debe ser absolutamente incoloro; exento de elementos ajenos al producto. Para este aspecto, el catador debe observar detenidamente la porción de muestra contenida en la copa a fin de determinar su color.

### **OLOR:**

El calvados debe tener el olor característico a la fruta que procede, exento de olores ajenos. Para determinar el olor, se recomienda seguir los siguientes pasos:

- Olores obtenidos con la copa en reposo apreciándose los olores más sutiles o posibles olores extraños.
- Olores obtenidos después de mover la copa se percibe una mayor variedad de sensaciones aromáticas.
- Olores obtenidos de la copa vacía los aromas fluyen de la pequeña cantidad de licor que se esta evaporando.

### **SABOR:**

Los sabores solo se perciben en la lengua a través de las papilas gustativas. El examen gustativo se realiza de la siguiente manera:

- Primera sensación que se perciben durante los 2 – 3 primeros segundos de tener la copa en la mano.
- Paso en boca (al tener el producto en la boca) podría detectarse otros sabores que enmascaran el sabor característico.
- Post-gusto persisten luego de haber ingerido o escupido el licor.

**APRECIACION**

**COLOR:**

| <b>ALTERNATIVAS</b> | <b>T3</b> | <b>T5</b> | <b>T7</b> |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|
| Excelente           |           |           |           |
| Muy bueno           |           |           |           |
| Bueno               |           |           |           |
| Regular             |           |           |           |
| Malo                |           |           |           |
| <b>TOTAL</b>        |           |           |           |

**OLOR:**

| <b>ALTERNATIVAS</b> | <b>T3</b> | <b>T5</b> | <b>T7</b> |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|
| Excelente           |           |           |           |
| Muy bueno           |           |           |           |
| Bueno               |           |           |           |
| Regular             |           |           |           |
| Malo                |           |           |           |
| <b>TOTAL</b>        |           |           |           |

**SABOR:**

| <b>ALTERNATIVAS</b> | <b>T3</b> | <b>T5</b> | <b>T7</b> |
|---------------------|-----------|-----------|-----------|
| Excelente           |           |           |           |
| Muy bueno           |           |           |           |
| Bueno               |           |           |           |
| Regular             |           |           |           |
| Malo                |           |           |           |
| <b>TOTAL</b>        |           |           |           |

Gracia por la ayuda brindada a la presente catación.

#### ANEXO 4: Fotografías



Lavado de la fruta



Retirado de las semillas de la fruta



Pesado de las manzanas



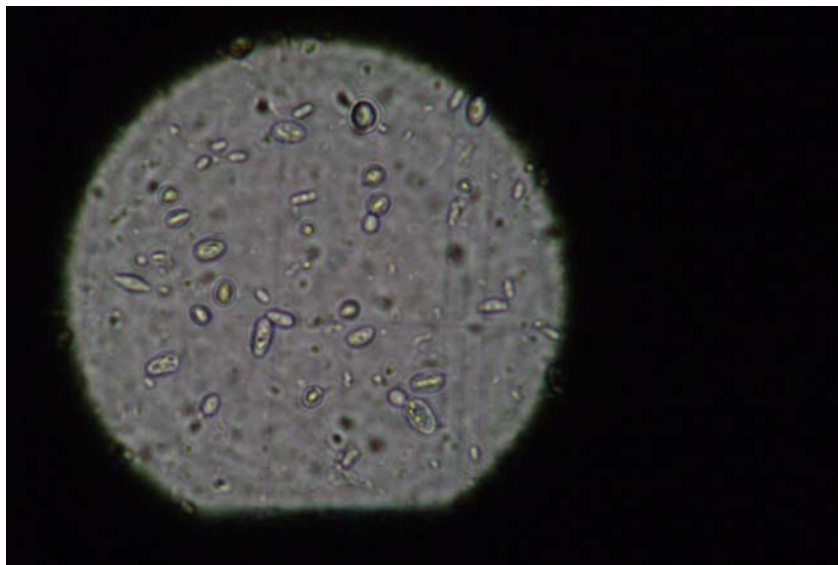
Licudo de la fruta







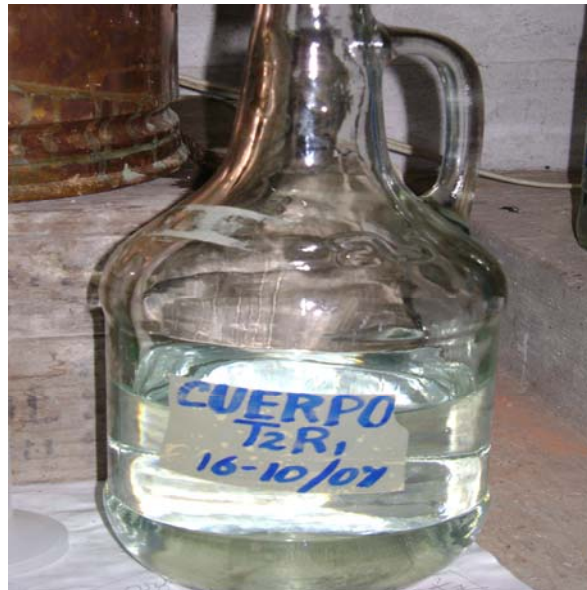
Fermentación del jugo de manzana



Levaduras en gemación



Destilado del calvados



Cuerpo del destilado