

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Departamento Académico de Ciencia, Tecnología e Ingeniería de Alimentos**



**“EFECTO DE LA TEMPERATURA DE FERMENTACIÓN Y  
TRATAMIENTO ULTRASONICO EN VINO DE LULO  
(*Solanum quitoense*)”**

**TESIS**

**Para optar el título de:**

**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**LUIS EDSGARDO RAZURI YSLA**

**TINGO MARÍA - PERÚ**

**2011**



Q02

R29

Rázuri Ysla, Luis E.

Efecto de la Temperatura de Fermentación y Tratamiento Ultrasonico en Vino de Lulo  
(*Solanum quitoense*). Tingo María, 2011

75 h.; 12 cuadros; 6 fgrs.; 13 anexo; 56 ref.; 30 cm.

Tesis (Ing. Industrias Alimentarias) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo  
María (Perú). Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

**1. SOLANUM QUITOENSE 2. TRATAMIENTO ULTRAZONICO 3. ANALISIS  
FISICO-QUIMICO 4. FERMENTACION 5. ELABORACION-VINO 6. PERU**



**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**  
**Tingo María**  
**FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**  
Av. Universitaria s/n. Teléfono (062) 561385 – Fax (062) 561156  
Apart. Postal 156 Tingo María E.mail: fia@unas.edu.pe

### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 21 de Setiembre de 2011, a horas 04:10 p.m. en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, para calificar la tesis presentado por el Bach. **RAZURI YSLA, Luis Edsgardo**, titulada:

### **“EFECTO DE LA TEMPERATURA DE FERMENTACIÓN Y TRATAMIENTO ULTRASÓNICO EN VINO DE LULO (*Solanum quitoense*)”**

Después de haber escuchado la sustentación, las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran **APROBADO** con el calificativo de **MUY BUENO** en consecuencia el Bachiller, queda apto para recibir el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias** del Consejo Universitario, de conformidad con el Art. 22° de la Ley Universitaria 23733; los artículos 51° y 52° del Estatuto Actualizado de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 22 de Setiembre de 2011

Dr. Pedro P. Peláez Sánchez  
Presidente

Blgo. Julio Giraldo Huayta  
Miembro

Ing. Williams V. Roldán Carbajal  
Miembro

Ing. Jaime Basilio Atencio  
Asesor

Ing. Davy W. Hidalgo Chávez  
Co asesor

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de: Química, Análisis de Alimentos, Análisis sensorial y el Centro de Investigación para el Desarrollo Biotecnológico de la Amazonía (CIDBAM) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS); ubicada en el distrito de Rupa - Rupa, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco. Se utilizó la pulpa de lulo (*Solanum quitoense*) en estado maduro, cosechado en la ciudad de Tingo María. Los objetivos de la presente investigación fueron: caracterizar fisicoquímicamente la pulpa de lulo; evaluar la temperatura de fermentación y el efecto del tratamiento ultrasónico (40 KHz) en la obtención de vino de lulo; caracterizar fisicoquímicamente el producto final. El lulo tiene en su composición químico proximal  $94,41 \pm 0,20$  % de humedad,  $0,68 \pm 0,12$  % de ceniza total,  $0,51 \pm 0,02$  % de proteínas totales, 0,27% de grasa, 0,46% de fibra y 3,67% de carbohidratos totales. La fermentación a temperatura de refrigeración ( $10 \pm 2$  °C) se detiene al 6<sup>to</sup> día llegando a 21° Brix, debido a que la levadura no fue la adecuada. El tiempo de fermentación a temperatura ambiente ( $24,7 \pm 0,72$  °C) fue de 14 días, llegando a 13° Brix y 10°GL; Los tratamientos por ultrasonido y pasteurización fueron estadísticamente iguales ( $P_{valor}=0,0654$ ), los °Brix, pH y acidez del producto se mantuvieron durante 30 días de almacenamiento ( $P_{valor}>0.05$ ), se obtuvo un mejor resultado organoléptico al tratar el vino con ultrasonido por 20 minutos. Se obtuvo vino de lulo con 13°Brix, 10°GL, pH=3.33, acidez=0.4 g de ácido cítrico/100 ml de vino y análisis microbiológico de mohos y levaduras <10 u.f.c./ml.

**A Dios, a mis padres, a mis hermanos y a toda mi familia.**

## **AGRADECIMIENTOS**

Mis más sinceros agradecimientos a todas las personas que me ayudaron a realizar este proyecto, al Ing°. Johnny Vargas Solórzano, al Ing°. Jaime Basilio Atencio y al Ing°. Davy Hidalgo Chávez por su constante ayuda y paciencia en corregir los borradores y guiarme en mi trabajo.

## INDICE GENERAL

	<b>Páginas</b>
<b>RESUMEN</b>	
<b>I. INTRODUCCION.....</b>	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>3</b>
2.1. Aspectos generales del lulo.....	3
2.1.1. Lulo.....	3
2.1.2. Características.....	3
2.1.3. Identificación taxonómica.....	4
2.1.4. Composición química.....	5
2.2. Importancia económica de los vinos de fruta.....	5
2.3. Elaboración de vino.....	6
2.3.1. Aspectos generales en la elaboración de vino.....	6
2.3.2. Clasificación de los vinos.....	7
2.3.3. Corrección de azúcar o chaptalización.....	9
2.3.4. Corrección de la acidez.....	10
2.3.5. Rol del SO <sub>2</sub> en el vino.....	12
2.3.6. Algunos aspectos de la bioquímica de las fermentaciones.....	13
2.3.7. Influencia de la temperatura en la bioquímica de la levadura y la fermentación alcohólica.....	15
2.3.8. Clarificación y agentes clarificantes.....	17
2.4. Tratamiento con ultrasonido.....	17
2.4.1. Ondas de sonido.....	18

2.4.2. Mecanismo y efectos del ultrasonido.....	19
2.4.3. Tipos de ultrasonido.....	20
2.4.4. Inactivación microbiana por ultrasonido.....	21
2.5. Cinética química.....	23
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>26</b>
3.1. Lugar de ejecución.....	26
3.2. Materiales.....	26
3.2.1. Materia prima.....	26
3.2.2. Materiales, equipos y reactivos.....	27
3.3. Métodos de análisis.....	29
3.3.1. Análisis químico proximal.....	29
3.3.2. Análisis fisicoquímico.....	30
3.4. Metodología experimental.....	30
3.4.1. Caracterización de la pulpa de lulo.....	30
3.4.2. Obtención del mosto.....	31
3.4.3. Efecto de la temperatura en la fermentación del vino de lulo...	33
3.4.4. Efecto del tratamiento ultrasónico, pasteurización y evaluación durante el almacenamiento del vino de lulo.....	36
3.5. Diseño experimental.....	37
3.6. Análisis estadístico.....	39
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSION.....</b>	<b>41</b>
4.1. Caracterización de la pulpa de lulo.....	41
4.2. Balance de materia para la elaboración de vino de lulo.....	42
4.2.1. Balance de materia para el mosto de lulo.....	42

4.2.2. Balance de materia para obtener vino de lulo.....	43
4.3. Variación de °Brix, durante la fermentación de vino de lulo.....	44
4.3.1. Determinación del orden y constante de velocidad de reacción	50
4.4. Variación de pH, durante la fermentación.....	53
4.5. Efecto del tratamiento por ultrasonido y pasteurización para detener la fermentación y su evaluación en el almacenamiento.....	56
4.6. Análisis sensorial del vino de lulo.....	59
4.7. Grado alcohólico.....	61
4.8. Análisis microbiológico.....	61
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>63</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>64</b>
<b>VII. ABSTRACT.....</b>	<b>65</b>
<b>VIII. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>66</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>75</b>

## INDICE DE CUADROS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
1. Composición química del lulo en 100 g de parte comestible.....	5
2. Composición química del lulo obtenido experimentalmente.....	41
3. Balance de materia para obtener el mosto de lulo.....	42
4. Balance de materia para obtener el vino de luló.....	43
5. Variación de °Brix durante la fermentación a temperatura ambiente.....	45
6. Variación de °Brix durante la fermentación a temperatura refrigeración.....	47
7. Porcentaje de °Brix al inicio y final de la fermentación a temperatura ambiente.....	49
8. Constante de velocidad de reacción (K) a diferentes órdenes de reacción...	52
9. Variación de pH durante el proceso de fermentación a temperatura ambiente.....	55
10. Valores de °Brix, pH y Acidez durante el almacenamiento del vino de lulo...	58
11. Resumen de puntuación del análisis sensorial.....	60
12. Análisis microbiológico de mohos y levaduras del vino de lulo tratado con ultrasonido a 20 minutos.....	62

## INDICE DE FIGURAS

<b>Cuadro</b>	<b>Página</b>
1. Flujo de operaciones para obtener el mosto de lulo.....	31
2. Flujo de operaciones para la evaluación de la temperatura de fermentación en la obtención del vino de lulo.....	33
3. Efecto del tratamiento ultrasónico, pasteurización y evaluación durante el almacenamiento del vino de lulo.....	36
4. Diseño experimental del proceso de obtención de vino de lulo .....	38
5. Variación de los °Brix, durante la fermentación a dos temperaturas, ajustados al modelo de cinética de orden cero.....	50
6. Variación de los °Brix, durante la fermentación a dos temperaturas, ajustados al modelo de cinética de primer orden.....	51

## INDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
I. Análisis de varianza para °Brix según las temperaturas de fermentación.....	76
II. Comparación de medias de °Brix durante la fermentación de vino de lulo.....	76
III. Variación de pH durante el proceso de fermentación a temperatura de refrigeración ( $10\pm 2$ °C).....	77
IV. Análisis de varianza para pH según las temperaturas de Fermentación.....	78
V. Comparación de medias de pH durante la fermentación de vino de lulo por Tuckey 95%.....	78
VI. Análisis de varianza para °Brix según los tratamientos durante el almacenamiento.....	79
VII. Comparación de medias de °Brix durante el almacenamiento de vino por Tuckey 95%.....	79
VIII. Análisis de varianza para pH según los tratamientos durante el almacenamiento.....	79

<b>IX.</b>	<b>Comparación de medias de pH durante el almacenamiento de vino de lulo, por Tukey 95%.....</b>	<b>80</b>
<b>X.</b>	<b>Análisis de varianza para acidez según los tratamientos durante el almacenamiento.....</b>	<b>80</b>
<b>XI.</b>	<b>Ficha de puntaje de los atributos de vino.....</b>	<b>81</b>
<b>XII.</b>	<b>Análisis de varianza sensorial del vino de lulo con DCA como modelo.....</b>	<b>82</b>
<b>XIII.</b>	<b>Comparación de medias de la puntuación obtenida durante la evaluación sensorial de vino de lulo, por Tukey 95%.....</b>	<b>82</b>

## I. INTRODUCCION

Para realizar una buena fermentación en la elaboración de vinos es necesario que la temperatura del mosto encubado esté comprendido entre 18 y 22 °C y no exceder jamás de 35 °C, ya que por encima de esta temperatura, además de hacerse perezosas las levaduras, permiten el desarrollo de ciertos microorganismos alterantes (NEGRE Y FRANCO, 1980). PEYNAUD (1984) menciona que las fermentaciones a bajas temperaturas (13 °C ó inferiores) tienen gran interés para la producción de vinos, especialmente los de gran potencial aromático.

Para la conservación de alimentos, existen diversos tratamientos entre los cuales podemos mencionar: pasteurización, refrigeración, congelación, esterilización, entre otros, además se cuenta con tecnologías emergentes tales como: altas presiones, pulsaciones eléctricas, ultrasonido, etc.

El tratamiento con ultrasonido de baja frecuencia afecta la pared celular produciendo un efecto letal en los microorganismos y al ser un tratamiento no térmico, se espera que afecten en menor grado la calidad de los productos, como el vino.

Por todo lo anterior, se consideró de suma importancia plantear los siguientes objetivos:

- Caracterizar fisicoquímicamente la pulpa de lulo.
- Evaluar la temperatura de fermentación y el efecto del tratamiento ultrasónico en la obtención de vino de lulo, a partir de frutos en estado maduro.
- Caracterizar fisicoquímicamente el producto final.

## II. REVISION BIBLIOGRAFICA

### 2.1. Aspectos generales del lulo

#### 2.1.1. Lulo

El lulo (*Solanum quitoense*) pertenece a la familia solanaceae, es originaria de los bosques húmedos del subtrópico, en las vertientes oriental y occidental de la cordillera de los andes entre 1200 y 2500 m.s.n.m, pertenecientes a Perú, Ecuador y Colombia (FOR Y, 2005).

#### 2.1.2. Características

El lulo (*Solanum quitoense*) crece en forma espontánea especialmente en sitios frescos y sombreados, cercanos a corrientes de agua, con temperaturas entre 17° y 20° C, es una fruta de tipo climatérico, es decir que puede alcanzar su madurez organoléptica adherida a la planta o días después de su recolección; debido a esto, es posible cosechar la fruta en estados verdes y pintón. La fruta es una vaya globosa ovoide entre 4 y 6.5 cm de diámetro, cubiertas de tricomas de color amarillo o marrones. La corteza del fruto es de color amarillo intenso cuando alcanza la madurez, la jugosa pulpa tiene un sabor ácido (pH de 3.5 a 5.0) y se utiliza para preparar jugos, néctares, mermeladas y postres (FOR Y, 2005).

Según WATSON (1995), considera al lulo dentro de uno de los 78 cultivos económicos tropicales para las programaciones agropecuarias de la Selva.

### 2.1.3. Identificación taxonómica

El lulo (*Solanum quitoense*) presenta la siguiente descripción taxonómica:

<b>Reino</b>	:	Vegetal
<b>Subreino</b>	:	Espermatofita
<b>División</b>	:	Angiosperma
<b>Sub división</b>	:	Dicotiledonea
<b>Clase</b>	:	Semipétala
<b>Sub clase</b>	:	Pentacíclica
<b>Orden</b>	:	Tubiflorales
<b>Familia</b>	:	Solanaceae
<b>Género</b>	:	<i>Solanum</i>
<b>Especie</b>	:	<i>Solanum quitoense</i>

(FORY, 2005).

### 2.1.4. Composición química

En el cuadro 1, se muestra la composición química del fruto de lulo.

**Cuadro 1.** Composición química del lulo en 100 g de parte comestible.

Composición de pulpa de lulo	%
Agua	88,00
Proteína	0,68
Grasa	0,16
Cenizas	0,82
Carbohidratos	8,00
Fibra	2,60
Calcio	48,30 *
Hierro	0,87 *
Fósforo	25,11 *
Vitamina C	30,80 *

Fuente: (WOLFF, 1976). \* mg/100g.

## 2.2. Importancia económica de los vinos de fruta

Según VOGT (1978), manifiesta que entre los países productores del vino de fruta, Francia ocupa el primer lugar, además de ser la principal nación vinatera del mundo. También en Alemania, Inglaterra y Austria, así como Suiza, se fabrica mucho vino de fruta. En Alemania, sobre todo en Wurttemberg tiene gran demanda la fabricación de vino de fruta, ya que genera un 70% de margen de ganancia, su producción total puede estimarse en unos 6 millones

de hectolitros anuales. La producción de vino de fruta en Inglaterra se cifra en 2,35 millones de hectolitros, en suiza en 1,75 millones de hectolitros anuales, especialmente los de sabor a manzana y pera.

La exuberancia de aromas y sabores de las frutas tropicales, su alto rendimiento y la ausencia de barreras tecnológicas que impidan su vinificación, hacen de este rubro una materia prima de gran potencialidad en la elaboración de productos alternativos capaces de abastecer nuevos e interesantes mercados (GRUPO 84, 2006).

## **2.3. Elaboración de vino**

### **2.3.1. Aspectos generales en la elaboración de vino**

Según FAO (2006), vino es por definición el producto obtenido de la fermentación alcohólica de la uva. Cuando se emplea otro tipo de fruta, el producto siempre se denomina vino, pero seguido del nombre de la fruta, por ejemplo: vino de naranja, vino de marañón, otros.

Por definición el vino es el jugo fermentado de la uva, sin embargo desde el punto de vista tecnológico nada impide obtener un producto equivalente a partir de otras frutas y solo se requerirá que en ellas puedan actuar las levaduras fermentadoras (GRUPO 84, 2006).

LOPEZ et al (2002) manifiestan que el vino es una bebida milenaria proveniente de la uva y sin lugar a dudas la más importante de todas, es la única para la cual se acepta comúnmente la denominación de vino. Bebidas procedentes de otras frutas se denominan con la palabra vino seguida

del nombre de la fruta, por ejemplo vino de manzana, vino de naranja, vino de maracayá, etc.

La apariencia del vino es un parámetro sensorial importante y para los consumidores potenciales es la característica organoléptica que primero se evalúa. Sin embargo el del color en los vinos está influenciado por varios factores, como el proceso de maceración, actividad fermentativa por microorganismos y tratamiento con dióxido de sulfuro (BALIK, 2003).

### 2.3.2. Clasificación de los vinos

Según Investigación Tecnológica Industrial de Normas Técnicas (ITINTEC) (1982), los vinos se clasifican de la siguiente forma:

#### a. Por su calidad

- **Vinos finos:** Son aquellas provenientes de variedades especiales adaptadas al tipo y zonas de producción, las cuales después de un proceso adecuado de añejamiento han adquirido un conjunto completo y armónico de cualidades organolépticas propias (color, sabor y olor).
- **Grandes vinos:** Son vinos que después del añejamiento han adquirido un alto grado de perfección en sus cualidades organolépticas.
- **Vinos reservados:** Son vinos que después del proceso de añejamiento han adquirido un buen grado de perfección en el

conjunto de sus cualidades organolépticas, sin alcanzar la calidad de grandes vinos.

- **Vinos corrientes:** Son vinos puestos al consumo poco después de terminada su elaboración o que cumplen las condiciones fijadas para los vinos finos.
- **Vinos ordinarios:** Son vinos producidos por cualquier uva en general.

#### **b. Por su color**

- **Vinos tintos:** Son obtenidos por fermentación de mosto provenientes de uvas tintas, en contacto con los orujos.
- **Vinos blancos:** Obtenidas por fermentación de mosto de uvas blancas o a partir del mosto blanco de uvas de hollejo rosado o tinto.
- **Vinos rosados o claretes:** Obtenido por fermentación de mosto de uvas tintas o blancas con pocas horas de contacto con orujos. Son vinos de color rojo poco intenso.

#### **c. Por su contenido de azúcares reductores**

- **Vinos secos:** Son aquellos cuyo contenido de azúcar reductor no es mayor de 5 g/L.
- **Vinos abocados:** Son aquellos cuyo contenido de azúcar reductor oscila entre 5 y 60 g/L.
- **Vinos dulces:** Son aquellos cuyo contenido de azúcar reductor esta entre los 60 g/L.

### 2.3.3. Corrección de azúcar o Chaptalización

La adición de azúcar al mosto se llama chaptalización. Fue Chaptal quien concibió en 1802 esta idea en su libro "Arte de hacer los vinos". Chaptal buscaba aumentar la "fuerza" del vino y asegurar su conservación. El exceso de azúcar produce una fermentación difícil y hay peligro de procesos patogénicos. Para obviar este inconveniente se deben tomar medidas como: anticipar la vendimia, pero sin coger las uvas verdes porque no tienen buenas características o diluir el mosto, aunque algunas legislaciones lo prohíben, para normalizar la concentración. Cuando la ley así lo permite se debe agregar 17 g de azúcar/L, los cuales aumentan el contenido alcohólico en un grado. La edulcoración debe hacerse, al inicio de la fermentación cuando el mosto empiece a calentarse (PEYNAUD, 1987).

No se recomienda fermentar mostos con concentraciones elevadas de azúcares (mayores a 45 %), bajo estas condiciones osmófilas las levaduras se afectarían al salir bruscamente el agua de su interior para equilibrar las concentraciones de soluto en el exterior, y en el interior de la célula ocurriría una plasmólisis (MÁRQUEZ, 2004).

Cualquier fruta que contenga niveles razonables de azúcar puede producir un vino con sabores característicos de cada fruta. Según la legislación de Brasil se establece que la graduación alcohólica de los vinos de frutas deben estar entre 10 a 14°GL, la adición de azúcar podrá ser un máximo de dos veces a la original de la fruta. Un mosto con 10 °Brix contiene aproximadamente 10% de azúcar, considerando que dos grados Brix produce

aproximadamente 1°GL, se deben hacer las correcciones necesarias para lograr alcanzar la cantidad deseada de alcohol en el vino (CORAZZA Y NOZAKI, 2001).

Chávez mencionado por NIETO (2009), menciona que la relación entre el contenido de sacarosa presente en el jugo y el brix se denomina pureza del jugo. El jugo es una solución diluida e impura de sacarosa. La calidad y contenido del jugo depende en un alto grado de la materia prima que le dio origen.

#### **2.3.4. Corrección de la acidez**

Según la Norma Técnica Colombiana (2005), el pH está relacionado con la resistencia a enfermedades, con el color y el enturbiamiento presente en el vino; el vino de frutas debe presentar pH entre 2.8 y 4.0.

El pH excesivo en el vino resulta en problemas de diferentes tipos, pero si pudiéramos destacar uno de ellos, sería el de los riesgos microbianos. Un pH alto, es decir, una acidez baja hace que el riesgo de alteraciones debido a microorganismos se eleve notablemente en los vinos. A parte de problemas microbianos existen otros inconvenientes que también inducen los pH altos, como puede ser una mayor oxidación de los mostos o de los vinos y problemas de clarificación. El pH reportado para una buena iniciación de los vinos es de 3.4 a 3.5 como máximo y en acidez total un mínimo de 6.1g/L, expresados en ácido tartárico (BODEGAS, 2005).

La Oficina Internacional de la Vid y del Vino (OIV), define la acidez total como la suma de todas las acideces valorables que contiene el vino, hasta un pH de 7.0, por adición de solución de hidróxido sódico. Los ácidos que se valoran son principalmente el tartárico, málico, láctico, succínico, acético, etc. La acidez total normalmente debe ser menor de 3.3 g/L expresadas como ácido tartárico, en vino de naranja se valora ácido cítrico, hasta pH 8.1 – 8.2 (CORAZZA Y NOSAKI, 2001).

Según ACEVEDO et al (2005) manifiestan que hay muchas investigaciones sobre la acidez total de mostos y vinos de uva que explican que cuanta más cantidad de agua se repone durante la temporada la acidez es mayor. Sin embargo, otros autores encontraron que vides bajo riego y luego sin riego hasta cosecha obtuvieron los valores más altos de acidez. Al mismo tiempo, vides sometidas a déficit hídrico durante toda la temporada tienden a aumentar los valores de pH en el vino. Sin embargo, otros autores no encontraron diferencias de pH en el vino entre vides con y sin estrés hídrico. Esto nos da una idea de las diferentes variables que se pueden encontrar en la producción de vinos, sometidos a diferentes condiciones climáticas. Lo anterior se puede extrapolar a cualquier vino o vino de frutas.

Según YERAMIAN et al (2001) manifiestan que para aumentar la acidez de los vinos, se usan principalmente el ácido tartárico y el cítrico. En condiciones iguales, el ácido cítrico tiene un poder ácido superior al tartárico y su poder disociante es mayor. La disminución de la acidez se efectuará adicionando carbonato de calcio el cual disminuirá la acidez en 1% al adicionar

1.0 g/L  $\text{CaCO}_3$ . Una importante vía de acidificación biológica es la selección y utilización de levaduras productoras de ácidos orgánicos en el curso de la fermentación alcohólica. La hipótesis más difundida postula dicha formación por fijación de  $\text{CO}_2$  sobre el piruvato, producto final de la glucólisis, para dar oxal acetato que es reducido a continuación a ácido málico.

### **2.3.5. Rol del $\text{SO}_2$ en el vino**

Según SALTON et al (2000) manifiestan que el anhídrido sulfuroso (llamado también dióxido de azufre, antioxidante E-220 o sencillamente  $\text{SO}_2$  es sin lugar a dudas el aditivo más ampliamente utilizado en vinificación y también el más indispensable.

Los efectos antioxidantes y antimicrobianos del anhídrido sulfuroso lo convierten en una herramienta prácticamente imprescindible, no solo en la elaboración de vinos, sino también en la de otros productos alimentarios (ZAMORA, 2005).

Los problemas causados por la falta de  $\text{SO}_2$  aumentaron dramáticamente al aumentar la temperatura de almacenaje. Vinos de frutas, incluidos los sin alcohol, no deben contener mas de 200 mg/L  $\text{SO}_2$  (AZTI-DIFUSIÓN TECNOLÓGICA, 2001). Sin embargo, un exceso en la adición de este aditivo conllevaría problemas de diversa índole. Una alta concentración de dióxido de azufre puede alterar el aroma y el sabor del vino, puede provocar una excesiva formación de sulfuro de hidrógeno y mercaptanos, e incluso

puede ser nociva para la salud del consumidor. Por esta última razón los niveles máximos de anhídrido sulfuroso en el vino están regulados por ley (ZAMORA, 2005).

Clariss mencionado por BONILLA et al (2001) mencionan que el pardeamiento oxidativo de los vinos durante la producción y el almacenaje fue considerado por mucho tiempo un gran problema en la industria vinícola. El pardeamiento puede ser debido a reacciones enzimáticas y no enzimáticas, ya que el vino contiene una gran cantidad de compuestos fenólicos que son susceptibles a oxidación. El  $\text{SO}_2$  es efectivo para controlar la presencia de microorganismos no deseados y los cambios de color en el vino al reaccionar con el acetaldehído y bloquearlo bajo la forma de combinación sulfítica estable, proporciona un mejor gusto, conservando la frescura y el aroma.

### **2.3.6. Algunos aspectos de la bioquímica de las fermentaciones**

Las fermentaciones a bajas temperaturas (13 °C o inferiores) tienen gran interés para la producción de vinos, especialmente los de gran potencial aromático. A pesar de las ventajas que presentan las bajas temperaturas, estas dificultan la realización de la fermentación alcohólica, llegando incluso al punto de comprometer su viabilidad debido a fermentaciones más largas, paradas y modificación de las poblaciones de microorganismos (PEYNAUD, 1987).

El proceso de fermentación está caracterizado por un suave burbujeo (producción de CO<sub>2</sub>) el cual se intensifica durante los primeros cinco días y termina con la producción máxima de alcohol, lo cual ocurre entre la cuarta y quinta semana (MÁRQUEZ, 2004).

NOVO et al (2001) manifiestan que la temperatura no sólo afecta la cinética de la fermentación, sino también el metabolismo de las levaduras que es lo que determina la composición química del vino.

Para que la fermentación alcohólica tenga lugar, el mosto ha de hallarse en condiciones de limitación de oxígeno. En condiciones de aerobiosis las levaduras se multiplican abundantemente con un rendimiento en biomasa muy alto ya que se consigue 1 g de levadura por cada 4 g de azúcares consumidos. En anaerobiosis las levaduras realizan la fermentación, es decir degradan los azúcares de forma incompleta generando etanol, CO<sub>2</sub> y energía. En estas condiciones el rendimiento en biomasa es de tan sólo 1 g de levadura por cada 100 g de azúcares consumidos (MEZAS Y ALEGRE, 1999).

En investigaciones recientes sobre el análisis de la actividad de levadura y la utilización de sustratos de jugos de frutas tropicales como la piña, mango y papaya, se encontró un alto grado de adaptabilidad de las levaduras en estos sustratos, la piña fue la fruta que mejores resultados dio para la elaboración de vinos de fruta tropical, para el mango y papaya se debe aumentar la cantidad de azúcar (EZERONYE, 2004). En cuanto a la composición del mosto, es imprescindible que este contenga los nutrientes suficientes si queremos elaborar vinos blancos de calidad. Por ello la industria

enológica ha desarrollado activadores complejos de fermentación, que son productos cuya finalidad es aumentar la complejidad nutricional del mosto supliendo las deficiencias de nutrientes y facilitando el metabolismo de las levaduras alcoholígenas. VARELA et al (2001) evaluaron el efecto de varios activadores de fermentación de diferente composición, entre ellos:

- Activador A: Activador comercial: fosfato amónico, clorhidrato de tiamina, celulosa y corteza de levadura.
- Activador B: Fosfato biamónico.

Los resultados indican que el activador A, es el único que incide en la cinética fermentativa, con arranques de fermentación más rápidos y duraciones de fermentación más cortas, independientemente de los microorganismos empleados.

El vino de frutas es el resultante de un proceso bioquímico, llamado fermentación alcohólica, que requiere condiciones muy específicas para culminar con éxito. Para lograr estas condiciones en cualquier jugo de frutas, el técnico debe ajustar, como mínimo, parámetros como la acidez y la concentración de azúcar (UTA, 2007).

### **2.3.7. Influencia de la temperatura en la bioquímica de la levadura y la fermentación alcohólica**

La temperatura de fermentación es una de las características que deben tomarse en cuenta para determinar el tipo de fermentación. De hecho, dependiendo del tipo de vinificación que se quiera realizar, se utilizará una

temperatura u otra y por tanto, puede ser de gran interés tener cepas que fermenten bien a las temperaturas elegidas. Así, las vinificaciones en blanco se llevan a cabo a una temperatura baja (5 a 9 °C), favoreciendo la retención de aromas, característica distintiva de un buen vino blanco. Las fermentaciones de vinos tintos, en cambio, se realizan a temperatura ambiente, pero sin dejar que la temperatura supere los 30°C, favoreciendo la extracción de los polifenoles, responsables del color de los vinos (TORIJA, 2002).

Las levaduras son microorganismos mesófilos, esto hace que la fermentación se produzca entre los 13 a 35 °C , el pH más adecuado del licor debe estar entre 3 y 4 lo cual es propicio para el desarrollo de las levaduras, mas no así para otros microorganismos (MÁRQUEZ, 2004).

Al momento de la siembra del iniciador en los tanques de fermentación el mosto necesita encontrarse a temperaturas desde 15 a 25 °C para la adaptación de las levaduras del medio. Durante la fermentación aumenta la temperatura del mosto e incluso en condiciones del ambiente es necesario el empleo de serpentines de refrigeración o bien de chorros de agua sobre las paredes exteriores del depósito o tanque de fermentación, ayudando a mantener una temperatura adecuada (JURADO Y SARZOSA, 2009)

HOYOS et al (2010) manifiestan que en una investigación de fermentación de vino de naranja, el 50% del azúcar contenido se convirtió en alcohol etílico y anhídrido carbónico, fue intenso durante las primeras 36 horas y duró entre 3 y 7 días, al cabo de 21 días el líquido disminuyo su concentración de azúcar y se transformó en vino.

### **2.3.8. Clarificación y agentes clarificantes**

Según OLIVERO (2006), investigó en una prueba de ordenamiento para determinar el mejor tratamiento de clarificación de vino de naranja criolla, llegando a concluir que la gelatina por sí sola no causa efecto sobre el atributo apariencia general, la combinación de la gelatina y la microfiltración tienen un efecto positivo sobre la apariencia del vino de naranja.

En un estudio donde fueron evaluados seis jugos de uva, tres para vinos añejos y tres recibían la adición simple de la bentonita al momento de la pre inoculación se concluyó que en cinco jugos dio lugar a un efecto estadístico significativo pero de menor importancia en la reducción de la razón máxima de la fermentación exhibida por la levadura; sin embargo el parámetro más afectado por la adición de bentonita fue el tiempo total de la fermentación (WEISS Y BISSON 2002).

### **2.4. Tratamiento con ultrasonido**

Ultrasonido está definido como ondas de sonido con frecuencias por encima de lo que un humano puede escuchar. El sonido se propaga a través de diferentes materiales en diferentes formas. El efecto que las ondas de ultrasonido de alto poder tienen en las propiedades físicas, biofísicas y microbiológicas de los alimentos ha atraído el interés de muchos en los últimos años. Esto es porque el ultrasonido puede producir varios efectos dependiendo de la combinación de las características de las ondas de ultrasonido y las

características del producto utilizado para caracterizarlo sin ser destructivo o producir alguna transformación física (MARTÍNEZ, 2008).

La primera aplicación comercial del ultrasonido fue en 1917; desde entonces, el tema se ha desarrollado y expandido a un gran número de aplicaciones. Los proyectos más importantes que envuelven esta técnica no se encuentran entre los confines de la química, sino en tecnologías de procesamiento, ya que ha sido mejor reconocido en la industria que en los ámbitos de la ciencia pura (MASON, 1999).

THE SONOCHEMISTRY CENTRE (2006) menciona que el ultrasonido es utilizado por la posibilidad de realizar evaluaciones no invasivas ni destructivas, y por ser fuente de energía sus aplicaciones pueden dividirse en ultrasonido de señal y de potencia.

#### **2.4.1. Ondas de sonido**

Las ondas de ultrasonido tienen un comportamiento similar a las ondas de sonido, pero su frecuencia es mucho más alta para la percepción del oído humano. La transmisión del sonido ocurre a la par con movimientos periódicos y ordenados de las moléculas del medio, con el paso de energía de movimiento a las moléculas adyacentes sin que haya transferencia de materia. Típicamente, el rango de frecuencia percibida por los humanos desde 20 Hz a 20 kHz, mientras que la frecuencia del ultrasonido abarca de los 20 a los  $1.2 \times 10^{10}$  kHz (la frecuencia más alta que puede ser transmitida por sólidos o líquidos). Las ondas de ultrasonido tienen las propiedades de una onda suave,

como su reflexión, interferencia, absorción y dispersión, y pueden ser propagadas a través de sólidos, líquidos y gases (MARTÍNEZ, 2008).

Las ondas ultrasónicas son generadas por las vibraciones mecánicas de las frecuencias más altas que 18 kHz. Durante el ciclo de expansión y de ondas ultrasónicas de alta intensidad hacen que crezcan pequeñas burbujas en estado líquido. Cuando alcanzan un volumen en el que no puede absorber suficiente energía, se da una implosión violenta. Este fenómeno es conocido como cavitación (JARUPAN, 2002).

#### **2.4.2. Mecanismos y efectos del ultrasonido**

- **Cavitación**

Es la formación, el crecimiento y la violenta desintegración de pequeñas burbujas en líquidos como resultado de presiones de fluctuación (JARUPAN, 2002).

Cuando una onda de sonido se propaga en un medio líquido como una onda longitudinal, crea una alternancia entre un ciclo de compresión y expansión. Cuando la presión negativa en el líquido, creada por el ciclo de expansión, es lo suficientemente baja para superar las fuerzas intermoleculares (esfuerzo extensible), se forman pequeñas burbujas. Durante el siguiente ciclo de expansión/compresión, las burbujas de gas se expanden y se contraen. La formación y evolución de estas burbujas es conocida como cavitación (MARTÍNEZ, 2008).

- **Efectos estructurales**

Cuando los líquidos son sometidos a la alta intensidad de sonido de campos, la dinámica de agitación y tensiones producidas afectan a sus propiedades estructurales, en particular su viscosidad. Por lo general, los fluidos newtonianos mantienen sus características, pero los fluidos dilatantes y los tixotrópicos tienden a fortalecer o bien ser menos viscoso, respectivamente (JARUPAN, 2002).

- **Turbulencia**

La alta intensidad del ultrasonido en los líquidos de baja viscosidad produce violenta agitación, que pueden utilizarse para dispersar las partículas. Esto reduce la capa límite de difusión, aumenta la convección de transferencia de masa, y acelera considerablemente difusión en los sistemas ordinarios de mezcla donde no es posible (JARUPAN, 2002).

### **2.4.3. Tipos de ultrasonido**

- **Ultrasonido de señal (100 kHz a 1 MHz)**

En el ultrasonido de señal, el producto modifica la señal, y esta proporciona información sobre dicho producto. Son utilizadas para monitorear un proceso o producto; además son señales de ultrasonido de baja intensidad. Ejemplos de aplicaciones en la industria alimentaria incluyen: medida del grosor de la carcasa en animales vivos, medición del grosor de la cáscara de huevos, detección de agujeros en quesos y papas, medición de estado de maduración en melones y aguacates, determinación de propiedades reológicas

en quesos, propiedades de textura en frutas como manzana, kiwi y melocotón y determinación de edad de huevos y papas (AZULOVA Y VARGAS 2007).

- **Ultrasonido de potencia (18-100 kHz)**

Hoy el ultrasonido de potencia se considera una prometedora tecnología para la industria de procesamiento de alimentos. Son señales de alta intensidad que se utilizan para modificar un proceso o un producto. Con una frecuencia más baja y mayor potencia producen cambios físicos y químicos en el medio a través de la generación y subsiguiente colapso de burbujas de cavitación, las cuales aparecen, crecen y colapsan dentro del líquido. Esto ocurre asimétricamente cerca de las interfases y golpes sobre la superficie sólida (AZULOVA Y VARGAS 2007).

#### **2.4.4. Inactivación microbiana por ultrasonido**

El efecto bactericida del ultrasonido es generalmente atribuido por la cavitación intracelular generada. En donde se dice que los choques micro-mecánicos son creados por la continua formación y ruptura de burbujas microscópicas inducidas por presiones que fluctúan bajo el proceso de ultrasonicación. Estos choques interrumpen componentes estructurales y funcionales celulares hasta el punto de lisis (muerte) de la célula (ACEVEDO, 2004).

En general es admitido que la mayoría de las células son más sensibles al ultrasonido, y que las bacterias en forma de barra alargada son más susceptibles que las que tienen forma redonda (MARTÍNEZ, 2008).

El estudio del mecanismo de acción de las ondas de ultrasonido es muy importante, ya que puede resultar en nuevos diseños para procesos de conservación de alimentos especialmente con procesos combinados. El efecto letal de ultrasonido de bajo poder es pequeño y se conoce que la cavitación producida por el ultrasonido de alto poder es el responsable del efecto letal en los microorganismos. Cuando las burbujas se forman en un campo de ultrasonido, son generadas altas temperaturas y presiones en un punto de colisión. Por lo tanto, calor, ondas de shock de presión, o ambas, pueden ser las responsables del efecto letal del ultrasonido (MARTÍNEZ, 2008).

Diferentes tipos de microorganismos pueden ser más susceptibles al tratamiento con ultrasonido que otros. En general se ha visto que las células largas o más grandes son más sensibles al ultrasonido. Con el incremento en el área de superficie, las células de mayor tamaño son más bombardeadas por la presión producida por la cavitación, haciéndolas más vulnerables al tratamiento (ACEVEDO, 2004).

Las células Gram-positivas son más resistentes al ultrasonido que las Gram-negativas porque la pared celular de las Gram-positivas es más gruesa y contiene una capa adherente cercana de peptidoglicanos. Sin embargo encontraron que el efecto del ultrasonido en los microorganismos no es por su morfología celular sino que se atribuye más por el efecto que se produce dentro de la membrana citoplasmática, donde las células con forma de

cocos son más resistentes que las de forma de bacilos. En general, los microorganismos esporulados presentan mayor resistencia que los vegetativos. Las especies de microorganismos que producen esporas los hace más resistentes a tratamientos con calor y el mismo efecto se observa con el ultrasonido (ACEVEDO, 2004).

El daño microbiológico al aplicar diferentes amplitudes de onda de ultrasonido va a depender de factores críticos como el tiempo de contacto con el microorganismo, el tipo de microorganismo, la cantidad y composición de alimento (ACEVEDO, 2004).

La resistencia de las bacterias a las ondas de ultrasonido cambia fuertemente todo el tiempo, a comparación de la resistencia que las bacterias tienen al tratamiento térmico. Sin embargo existen ventajas del ultrasonido sobre el tratamiento térmico como la pasteurización, donde la seguridad microbiológica se logra por tratamientos térmicos que dependen en su mayoría de cada especie de microorganismos que contaminan el producto, en cambio en el caso del ultrasonido se obtiene un aseguramiento similar de la estabilidad microbiológica sin que afecte la especie o comportamiento de cada microorganismo (MARTÍNEZ, 2008).

## **2.5. Cinética química**

La cinética química es el campo de la química que se ocupa de la rapidez o velocidad con la que ocurren las reacciones químicas, es decir, la desaparición de reactivos para convertirse en productos; así como de los

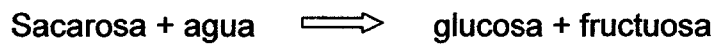
mecanismos de las mismas. Los cambios que llegan a ocurrir en los alimentos son el resultado de las numerosas y complejas reacciones químicas y bioquímicas acompañadas de diversos efectos físicos (ALVARADO, 1996).

Según ALVARADO (1996), indica que la cinética química involucra el estudio de la velocidad y mecanismos por el cual una especie química se convierte en otro. Se define a la velocidad de reacción como la cantidad de sustancia formada (si tomamos como referencia un producto) o transformada (si tomamos como referencia un reactivo) por unidad de tiempo. La velocidad de reacción no es constante. La medida de la velocidad de reacción implica la medida de la concentración de uno de los reactivos o productos a lo largo del tiempo, para medir la velocidad de una reacción necesitamos medir, bien la cantidad de reactivo que desaparece por unidad de tiempo, o bien la cantidad de producto que aparece por unidad de tiempo. La velocidad de reacción depende de los reactantes y en algunos casos especiales de los productos es de esperar entonces que al avanzar la reacción y modificarse las concentraciones, varíe la velocidad.

•**Velocidad de reacción:** La Rapidez (o velocidad) de reacción está conformada por la rapidez de formación y la rapidez de descomposición. Esta rapidez no es constante y depende de varios factores, como la concentración de los reactivos, la presencia de un catalizador, la temperatura de reacción y el estado físico de los reactivos. Uno de los factores más importantes es la concentración de los reactivos (BROWN Y COLS, 2004).

• **Reacción de orden cero:** La velocidad de formación del producto es independiente de la concentración de sustrato (BROWN Y COLS, 2004).

• **Reacción de primer orden:** Según BROWN Y COLS (2004), La velocidad de formación de los productos es directamente proporcional a la concentración del sustrato. Ejemplo:



### **III. MATERIALES Y METODOS**

#### **3.1. Lugar de ejecución**

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios de: Química, Análisis de Alimentos y el Centro de Investigación para el Desarrollo Biotecnológico de la Amazonía (CIDBAM) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS); ubicada en el distrito de Rupa - Rupa, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco; a una altitud de 660 m.s.n.m. a 09°17'08" de Latitud Sur, y 75°59'52" de Latitud Oeste ,con clima tropical húmedo, humedad relativa media de 84% y temperatura media anual de 24 °C.

#### **3.2. Materiales**

##### **3.2.1. Materia prima**

La materia prima utilizada fue la pulpa del fruto de lulo, en estado maduro (*Solanum quitoense*), que fueron adquiridas en el mercado de abastos de la ciudad de Tingo María.

### **3.2.2. Materiales, equipos y reactivos**

#### **a. Materiales de vidrio**

- Vasos de precipitación de 50, 100, 250 y 1000 ml
- Tubos de ensayo Gene Mate® de 10 ml
- Fiolas de 250, y 500 ml
- Pipetas de 5 y 10 ml
- Termómetro 0-110 °C.
- Embudos
- Campanas de desecación
- Placas petri
- Frascos con tapas de 100 ml
- Matraz quitasato
- Alcoholímetro
- Soxhlet

#### **b. Equipos de laboratorio**

- Balanza analítica digital, sensibilidad  $\pm 0,0001$  g modelo (Sartorius, USA).
- Refractómetro con rango de 0-85 °Brix (ABBE)
- Equipo digestor de proteína marca BUCHI digest automat K - 438.
- Mufla con temperatura regulable de 0 a 1200°C.
- Estufa modelo ODHG-9240A TOMOS.
- Refrigeradora cebeam Door Cooling LG GR-5392QLC.

- Autoclave (All American, Electric pressure steam sterilizer model N° 25x).
- Centrífuga marca Hettich-modelo MIRKO 22R y velocidad 10000 rpm.
- Equipo Ultrasonido (Branson 5510 serie KD – 05AB – 023 – W, 42 kHz, 220 voltios)
- Bomba al vacío modelo LC – 10ATVP, 110 voltios.

#### **c. Reactivos y solventes**

- Levadura *Saccharomyces Cerevisiae* seca marca Fleischman
- Fosfato de amonio
- Peptona bacteriológica (Merck)
- Agar sabouroud
- Etanol al 96 %
- Hidróxido de Sodio
- Fenolftaleína
- Ácido cítrico, ácido sulfúrico, ácido bórico
- Agua destilada

#### **d. Otros materiales**

- Mesa de Trabajo de acero inoxidable
- Balanza comercial con capacidad 500 kg
- Cocina a gas
- Crisoles de porcelana

- Gradillas
- Espátula
- Cuchillo de acero inoxidable
- Algodón
- Coladores de plástico
- Ollas de acero inoxidable
- Guantes de jebe
- Botellas de plástico de 500 ml
- Manguera de 0.5 cm de diámetro
- Papel filtro whatman N° 40 de 125 mm de diámetro
- Malla de asbesto
- Cocina eléctrica
- Espátulas
- Mechero

### **3.3. Métodos de análisis**

En el presente trabajo de investigación se realizó los siguientes análisis:

#### **3.3.1. Análisis químico proximal**

Se realizó el análisis de humedad, método 930.04; cenizas, método 930.05; grasa, método 930.09, proteína bruta, método 930.07, (AOAC, 1975). El análisis de fibra bruta se determinará por el método F-3 (LEES, 1982), y el contenido de carbohidratos totales por diferencia de los valores anteriores (AOAC, 1975).

### 3.3.2. Análisis fisicoquímico

- **Sólidos solubles.** Se procedió de acuerdo al método refractométrico N° 11-15 citado por (HART Y FISHER, 1991), para pulpa de frutas, mosto fermentado y vino en almacenamiento.
- **pH.** Se procedió de acuerdo al método potenciométrico N° 2-9 citado por (HART Y FISHER, 1991), para pulpa de frutas, mosto fermentado y vino en almacenamiento.
- **Acidez titulable.** Se realizó por neutralización con hidróxido de sodio. Es el método volumétrico N° 11-19 recomendado por (HART Y FISHER, 1991).
- **Grado alcohólico.** Se realizó por el método N° 28.1.05 descrito por (AOAC, 1984).

### 3.3.3. Análisis microbiológico

Se realizó enumeración de mohos y levaduras descrito por (FAO, 1981).

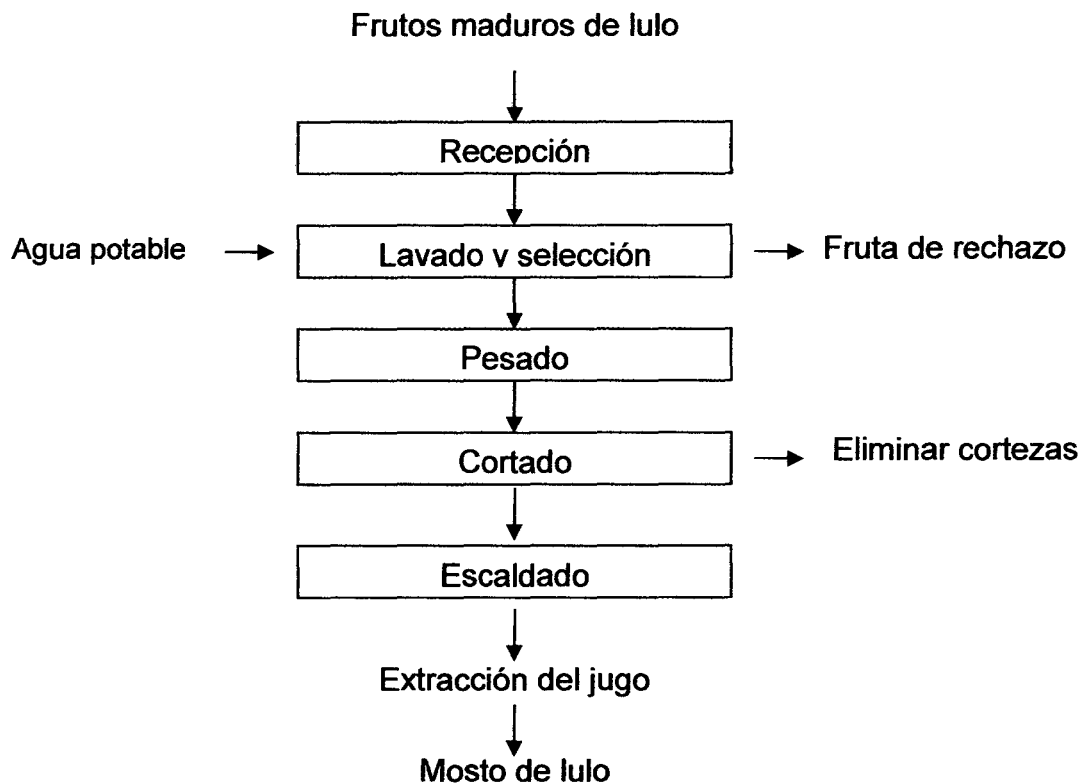
## 3.4. Metodología experimental

### 3.4.1. Caracterización de la pulpa de lulo

Para realizar los análisis se empleó pulpa de lulo, al estado maduro, considerando los siguientes análisis: pH, °Brix, Acidez titulable, Análisis químico proximal, descritos en el ítem 3.3.

### 3.4.2. Obtención del mosto

Para obtener el mosto de lulo, se utilizó el siguiente flujo de operaciones:



**Figura 1.** Flujo de operaciones para obtener mosto de lulo.

#### 3.4.2.1. Descripción del proceso de obtención del mosto.

##### a. Recepción

La materia prima se recepciona teniendo en cuenta los cuidados respectivos, para evitar golpes mecánicos, ya que estos podrían ocasionar características organolépticas no deseadas al producto final.

**b. Lavado y selección**

Se realizó para eliminar bacterias superficiales, residuos de insecticidas y suciedad adherida a la fruta. Se debe utilizar agua clorada y seleccionándose solo frutos en estado maduro que no presenten daño en su estructura física.

**c. Pesado**

Se procedió a pesar la materia prima en una balanza comercial, con el fin de obtener el balance de materia final.

**d. Cortado**

Se eliminó la corteza de los frutos con un cuchillo de acero inoxidable, con el fin de reducir la astringencia.

**e. Escaldado**

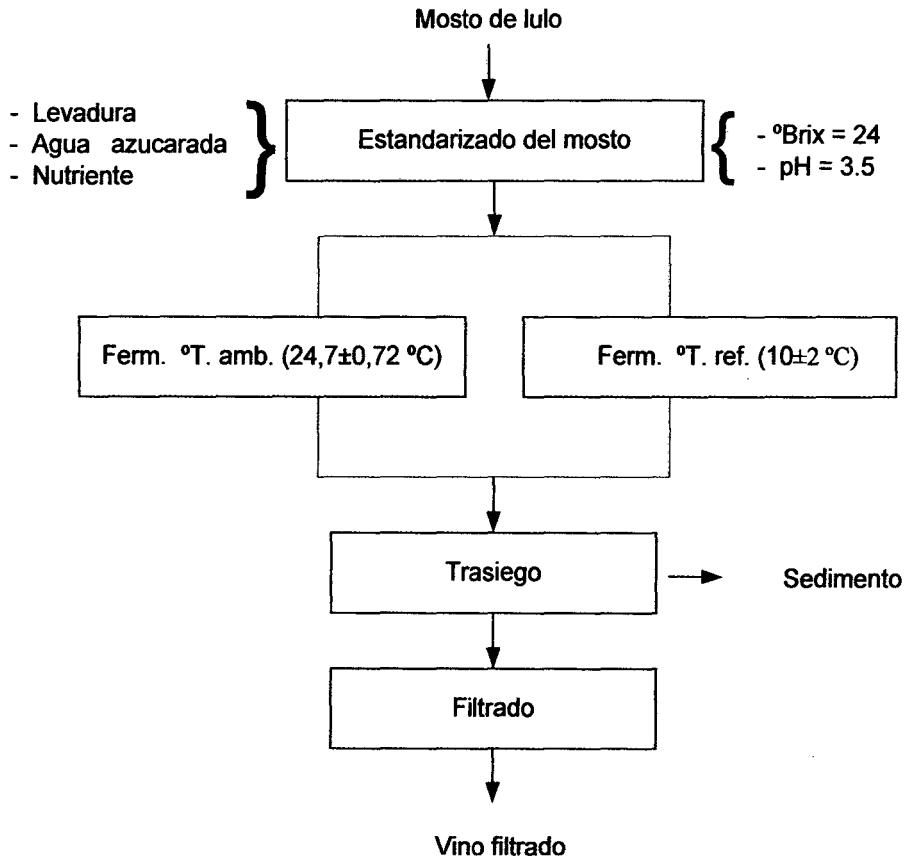
Se realizó con el fin de inactivar enzimas a una temperatura de 70 °C/10 minutos.

**f. Extracción del jugo o mosto**

Se pulpeó el fruto de lulo (*Solanum quitoense*), luego se tamizó, para evitar el paso de fibras y pepas, obteniéndose así solo el mosto de lulo, listo para diluir con agua tratada en relación 1:2.

### 3.4.3. Efecto de la temperatura en la fermentación del vino de lulo

Para evaluar el efecto de la temperatura de fermentación en la obtención de vino de lulo, se utilizó el siguiente flujo de operaciones:



Donde:

Ferm. = fermentación

°T. amb. = temperatura ambiente

**Figura 2.** Flujo de operaciones para la evaluación de la temperatura de fermentación en la obtención del vino de lulo.

### **3.4.3.1. Descripción del proceso de obtención del vino de lulo**

#### **a. Estandarizado del mosto**

Se diluyo el mosto a una relación mosto-agua de 1:2, luego se regulo el pH, a 3.5 y 24 °Brix con ácido cítrico y azúcar respectivamente; para luego activar la levadura (15 g/ 100 L), mas agua azucarada (38 °C) y fosfato de amonio (1 g /10 L), con el fin de darle el medio adecuado a la levadura y se desarrolle una fermentación adecuada.

#### **b. Fermentación**

Se efectuó a temperatura de refrigeración ( $10\pm 2$  °C) y temperatura ambiente ( $27\pm 0.19$  °C) durante 14 días. Durante la fermentación se evaluó diariamente los °Brix y pH, con el fin de evaluar la degradación de los sólidos solubles y verificar el pH adecuado para que la levadura se desarrolle.

#### **c. Trasiego**

Se realizó cada 4 días con el fin de eliminar el sedimento que se da durante el proceso de la fermentación.

#### **d. Filtrado**

Esta operación se efectuó mecánicamente al vacío con un equipo de vidrio para filtración y bomba de vacío modelo LC – 10ATVP, empleando papel whatman Nº 40 de 125 mm de diámetro, con el fin de eliminar el sedimento depositado en el fondo del envase y así evitar que se confieran olores desagradables al vino.

#### **e. Pasteurizado**

Esta operación se realizó para obtener un vino clásico, pasteurizando el mosto a 72°C/15", para detener el proceso de fermentación y evitar el crecimiento de microorganismos ajenos al producto.

#### **f. Tratamiento ultrasónico**

Los vinos obtenidos se sometieron a tratamiento con ultrasonido a 40 kHz expuestos a 10, 20 y 30 min, con el fin de detener el proceso de fermentación y evitar el crecimiento de microorganismos ajenos al producto.

#### **g. Envasado**

Los envases fueron botellas de vidrio tipo ámbar con capacidad de 100 ml. con tapa rosca y tapones de plástico, previamente esterilizados sumergiéndolos en agua a 95 °C durante 10 minutos.

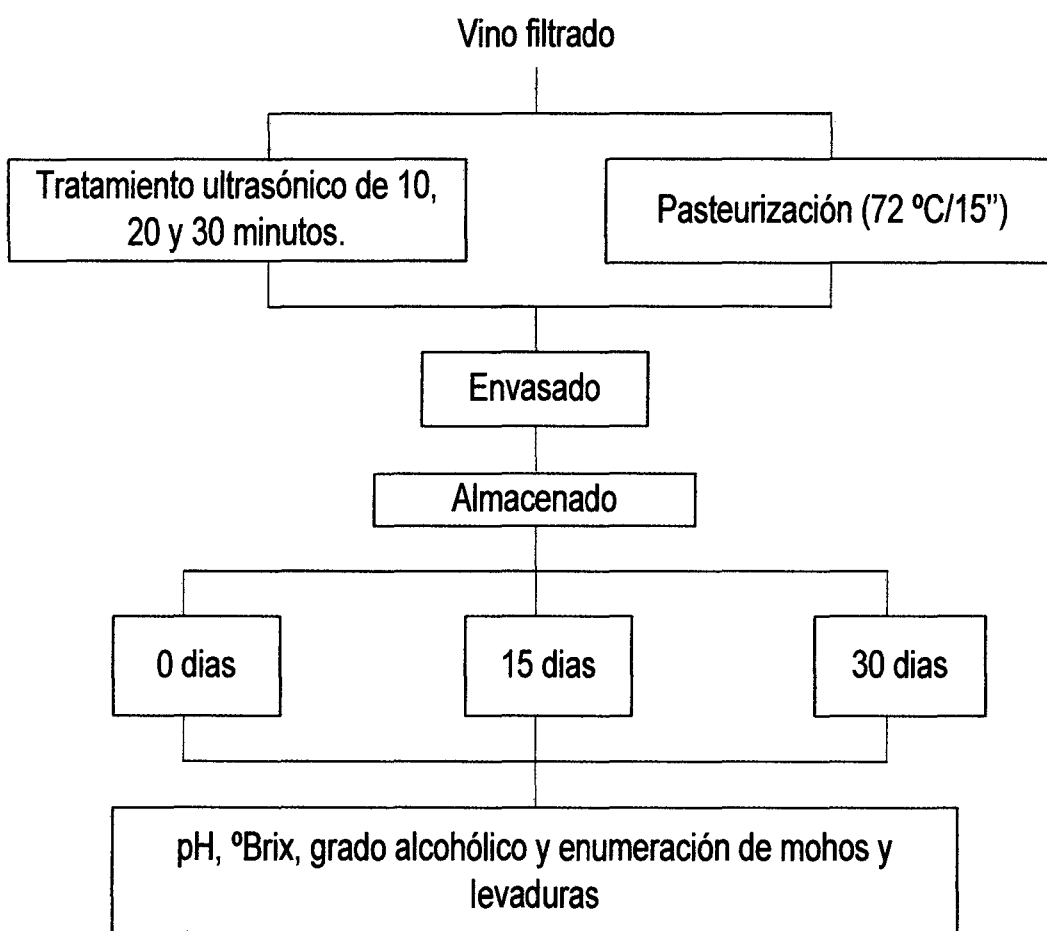
#### **h. Almacenado**

El producto fue almacenado en un ambiente fresco, ventilado y oscuro, para evitar que los rayos de luz alteren el color. Se evaluó: pH, °Brix, acidez titulable, al inicio del envasado, a los 15 y 30 días de almacenamiento, con el fin de corroborar que el producto se estabilizó. Luego de transcurrido los 30 días se realizó la evaluación organoléptica de los vinos para los atributos de apariencia, color, aroma, astringencia y sabor, de acuerdo a los resultados estadísticos obtenidos y el mejor tratamiento fue sometido a

las siguientes evaluaciones: determinación de grado alcohólico y numeración de mohos y levaduras.

#### 3.4.4. Efecto del tratamiento ultrasónico, pasteurización y evaluación durante el almacenamiento del vino de lulo

Para evaluar el efecto del tratamiento ultrasónico en el vino de lulo, se utilizó el siguiente flujo de operaciones:



**Figura 3.** Efecto del tratamiento ultrasónico, pasteurización y evaluación durante el almacenamiento del vino de lulo.

### **3.5. Diseño experimental**

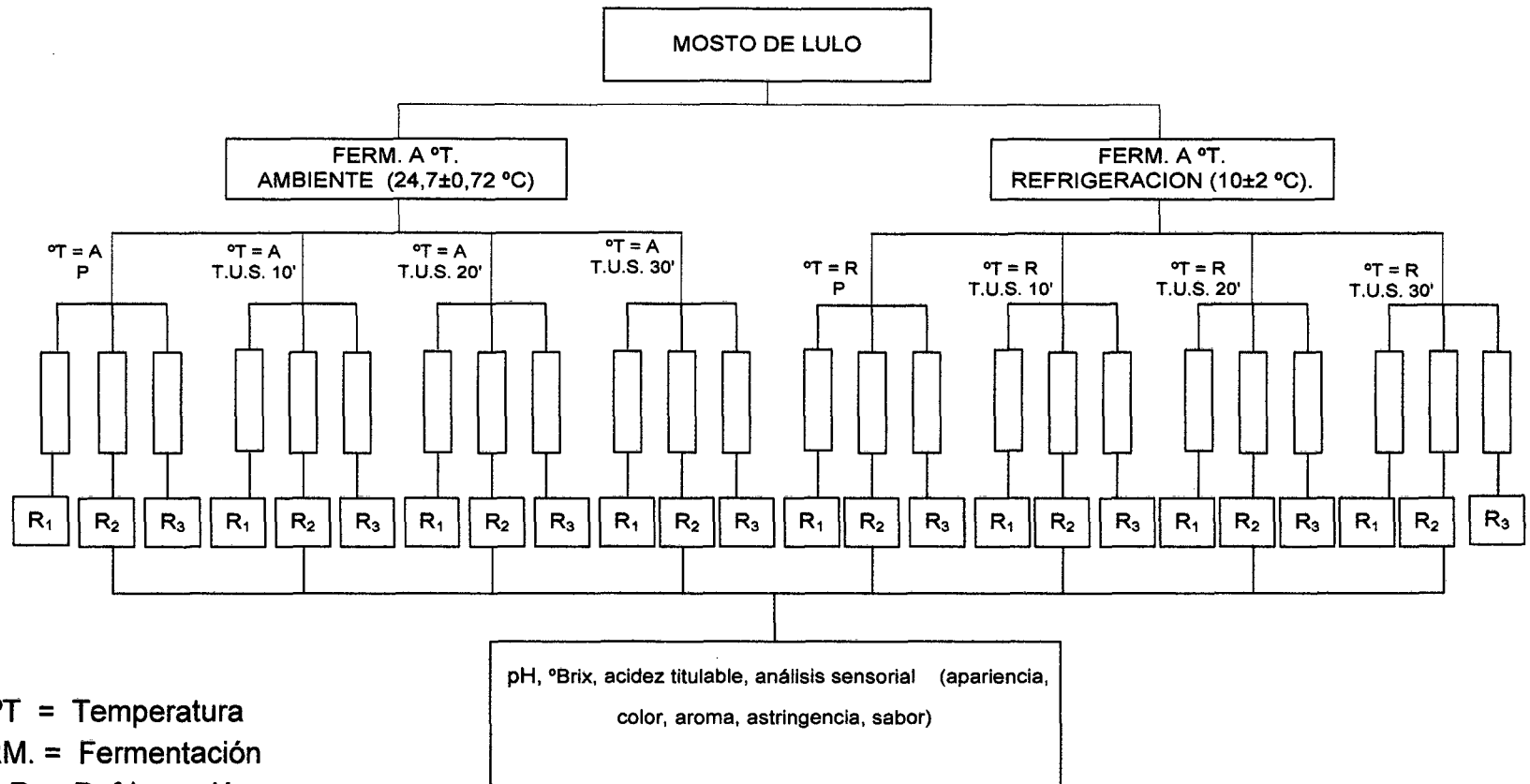
En la figura 4, se observa el diseño experimental utilizado para el presente trabajo de investigación, el diseño aplicado fue completamente al azar (DCA), con arreglo factorial con tres repeticiones, asignados aleatoriamente a las unidades experimentales (tanques de fermentación). Las variables experimentales son: Temperatura de fermentación, tiempo de tratamiento por ultrasonido y pasteurización. Donde el mosto de lulo se fermentó a dos temperaturas (ambiente y refrigeración); se evaluó cuatro tratamientos donde:

Tratamiento 1: Pasteurización (72 °C/15")

Tratamiento 2: Ultrasonido por 10 minutos

Tratamiento 3: Ultrasonido por 20 minutos

Tratamiento 4: Ultrasonido por 30 minutos



Donde :

- °T = Temperatura
- FERM. = Fermentación
- R = Refrigeración
- A = Ambiente
- P = Pasteurización (72 °C/15")
- T.U.S. = Tratamiento ultrasónico
- R<sub>1</sub>, R<sub>2</sub>, R<sub>3</sub> = Número de repeticiones (3)

**Figura 4.** Diseño experimental del proceso de obtención de vino de lulo.

### 3.6. Análisis estadístico

- Para evaluar los resultados del diseño experimental en la evaluación del vino en función a la temperatura de fermentación y al tratamiento ultrasónico, se utilizó el modelo estadístico diseño completo al azar con arreglo factorial de 2x4 con tres repeticiones, para lo cual se utilizó el siguiente modelo matemático (MONGOTMERRY, 1991).

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_i + \alpha_j + \alpha\beta_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

**Donde:**

$Y_{ijk}$  : pH, °Brix, acidez titulable, análisis sensorial (apariencia, color, aroma, astringencia, sabor)

$\mu$  : Efecto de la media general de las evaluaciones

$\beta_i$  : Efecto de la temperatura de fermentación

$\alpha_j$  : Efecto del tratamiento con/sin ultrasonido

$\alpha\beta_{ij}$  : Efecto de la interacción de la T° de fermentación y el tipo de tratamiento con/sin ultrasonido

$\varepsilon_{ijk}$  : Efecto del error experimental

Se evaluó con la prueba de Tuckey, con un nivel de significación del 5%. El análisis estadístico se realizó mediante el software STATGRAPHICS PLUS 5.1

- Para evaluar los resultados del diseño experimental en el estudio de almacenamiento del vino de lulo, se utilizó el modelo estadístico diseño completo al azar, para lo cual se empleó el siguiente modelo matemático (MONGOTMERRY, 1991).

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ijk}$$

**Donde:**

$Y_{ijk}$  : pH, °Brix, grado alcohólico y enumeración de mohos y

levaduras

$\mu$  : Efecto de la media general de las evaluaciones

$\alpha_i$  : Efecto del tiempo de almacenamiento

$\varepsilon_{ijk}$  : Efecto del error experimental

Se evaluó con la prueba de Tuckey, con un nivel de significación del 5%. El análisis estadístico se realizó mediante el software STATGRAPHICS PLUS 5.1

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

### 4.1. Caracterización de la pulpa de lulo

En el cuadro 2, se presenta la composición fisicoquímica del lulo, pudiéndose apreciar que los resultados difieren de lo reportado por WOLFF (1976) en el cuadro 1 con respecto al análisis fisicoquímico, resultados que fueron obtenidos en Bogotá-Colombia a 1800 m.s.n.m., temperatura de 16-24 °C. Según PINO (1988), manifiesta que la composición de los frutos varía según el suelo, clima, etc.

**Cuadro 2.** Composición fisicoquímica del lulo obtenido experimentalmente.

Componente	%	
Humedad	94,41	± 0,20
Ceniza total	0,68	± 0,12
Proteínas totales	0,51	± 0,02
Grasa total	0,27	± 0,00
Fibra total	0,46	± 0,00
Carbohidratos totales	3,67	± 0,00

Fuente: ESTA INVESTIGACIÓN

## 4.2. Balance de materia para la elaboración de vino de lulo

### 4.2.1 Balance de materia para el mosto de lulo

En el cuadro 3, se muestra el balance de materia para obtener el mosto de lulo. PAJAJÓY et al (2003) obtuvieron vino a partir de 2.333 kg de fruto de níspero, al diluir con agua y respectiva estandarización obtuvo finalmente 3.40 L de mosto. En el presente trabajo de investigación se obtuvo 11.22 L de mosto de mosto de lulo a partir de 20 kg de fruto de lulo, representando el 56.5% del total de materia prima. Además se observa que se perdió 8.7 kg entre cáscara y pepas.

**Cuadro 3.** Balance de materia para obtener el mosto de lulo

Operaciones	Entra		Pierde		Continua		RxO	RxP
	kg	%	kg	%	kg	%		
Recepción	-	-	-	-	-	-	-	-
Lavado/Selección	-	-	-	-	-	-	-	-
Pesado	20,00	100	-	-	-	-	100	100
Cortado	20,00	100	-	-	20,00	100	100	100
Escaldado	20,00	100	-	-	20,00	100	100	100
Extracción jugo	20,00	100	8,70	43,5	11,22	56,5	56,10	56,10
Mosto de lulo	11,22	56,5	-	-	11,22	56,5	100	56,10

Fuente: ESTA INVESTIGACIÓN

#### 4.2.2. Balance de materia para obtener vino de lulo

En el cuadro 4, se muestra el balance de materia para obtener el vino de lulo. Según PAJAJROY (2003), durante la fermentación de vino de níspero el contenido de azúcares del mosto disminuyó desde un valor de 18% hasta 8.2%, obteniéndose finalmente 130 L de vino. En el presente trabajo de investigación obtuvimos 11.22 L de mosto pero al estandarizar se obtuvo 34.44, finalmente se obtuvo 25.36 L de vino filtrado.

**Cuadro 4.** Balance de materia para obtener el vino de lulo

Operaciones	Entra		Agrega		Pierde		Continua		RxO	RxP
	kg	%	kg	%	kg	%	kg	%		
Estandarización	22,44	100,0	12	53,48	-	-	34,44	153,5	65,16	153,48
Fermentación	34,44	153,5	-	-	6	26,74	28,44	126,7	82,58	126,74
Trasiego	28,44	126,7	-	-	3,08	13,72	25,36	113,0	89,17	113,01
Filtrado	25,36	113,0	-	-	-	-	25,36	113,0	100,00	113,01
Pasteurizado	25,36	113,0					25,36	113,0	100,00	113,01
T. ultrasónico	25,36	113,0					25,36	113,0	100,00	113,01
Envasado	25,36	113,0					25,36	113,0	100,00	113,01
Almacenado	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Fuente: ESTA INVESTIGACIÓN

### 4.3. Variación de °Brix, durante la fermentación de vino de lulo

Para determinar la variación de °Brix durante la fermentación, se evaluaron dos temperaturas, de ambiente ( $24,7 \pm 0,72$  °C) y refrigeración ( $10 \pm 2$  °C).

Del cuadro 5, podemos observar que los °Brix en el mosto sometido a temperatura ambiente, descienden durante el proceso fermentativo.

La disminución de los °Brix se debe a la actividad de las levaduras las cuales consumen los carbohidratos presentes en el mosto. Esta afirmación es corroborada por GRAINGER Y TATTERSALL (2005), quienes mencionan que la fermentación alcohólica es el proceso que tiene por finalidad lograr la transformación de un mosto azucarado, hasta producto alcohólico, en un medio anaerobio y por la acción de la levadura, con la presencia de nutrientes, temperatura, pH y acidez óptima, de manera que la levadura pueda actuar correctamente sobre los azúcares.

HOYOS et al (2010) manifiestan que en una bebida alcohólica a partir de naranja valencia donde los parámetros de inicio de fermentación fueron de 9 g/kg de ácido cítrico, 20° Brix, se presentó una fermentación tumultuosa, en la cual se produce la ebullición del mosto tornándose turbio y espumoso por el CO<sub>2</sub> que se desprende. El 50% del azúcar se convirtió en alcohol y anhídrido carbónico, el proceso de fermentación fue de 21 días, finalmente se obtuvo un vino con 8.25°GL. En el presente trabajo de investigación se inició con 24° Brix,

pH de 3.5 y el proceso fermentativo fue de 14 días, obteniendo un vino con 10°GL.

**Cuadro 5.** Variación de °Brix durante la fermentación a temperatura ambiente ( $24,7\pm 0,72$  °C).

Tiempo (días)	°Brix			
	Past.	U.S. 10'	U.S. 20'	U.S.30'
0	24,00±0,00	24,00±0,00	24,00±0,00	24,00±0,00
1	23,10±0,06	23,10±0,06	23,07±0,06	23,13±0,07
2	22,17±0,03	22,27±0,07	22,20±0,07	22,20±0,06
3	21,00±0,00	21,13±0,03	21,17±0,03	21,03±0,03
4	20,17±0,03	20,13±0,09	20,13±0,09	20,10±0,06
5	19,20±0,06	19,70±0,06	19,77±0,06	19,47±0,09
6	18,67±0,09	19,03±0,03	19,10±0,03	18,90±0,06
7	17,97±0,03	18,17±0,09	18,23±0,09	18,10±0,06
8	17,07±0,03	17,30±0,12	17,37±0,12	17,17±1,70
9	16,17±0,09	16,33±0,18	16,47±0,18	16,33±0,03
10	15,13±0,03	15,30±0,06	15,37±0,06	15,10±0,06
11	14,23±0,03	14,40±0,06	14,43±0,06	14,17±0,12
12	13,67±0,03	13,83±0,09	13,63±0,09	13,50±0,15
13	13,47±0,03	13,43±0,07	13,50±0,07	13,30±0,10
14	12,87±0,22	12,80±0,15	13,00±0,15	12,97±0,09

Donde:

Past. = Pasteurización

U.S. 10' = Ultrasonido con diez minutos

U.S. 20' = Ultrasonido con veinte minutos

U.S. 30' = Ultrasonido con treinta minutos

La fermentación del mosto sometido a temperatura de refrigeración ( $10\pm 2$  °C), evoluciona hasta el quinto día (21°Brix) como se aprecia en el cuadro 6, esto se debe a que las levaduras utilizadas no se adaptaron a dicha temperatura.

CASP (2003) menciona que la temperatura normal de cultivo de las levaduras se sitúa entre 25 °C y 30 °C permitiendo el desarrollo de la mayor parte de las levaduras. En el presente trabajo se utilizó la levadura específica *Saccharomyces Cerevisiae*. Los términos *levadura* y *fermentación* provienen etimológicamente de palabras que se refieren al efecto de “hervir” o “burbujear” producido cuando el azúcar se convierte bioquímicamente en alcohol etílico y dióxido de carbono, pero la fermentación producida por las levaduras es mucho más que eso.

PRETORIUS (2009) manifiesta que la levadura es la responsable de la mayoría de los cambios asociados con la biotransformación del mosto en vino, el aroma, el sabor, la sensación en el paladar, el color y la complejidad química son producidos por la levadura conforme diversifica y amplía su mundo con los productos de su metabolismo.

Según CANTARELLI (1984), manifiesta que la temperatura condiciona no sólo el rendimiento en alcohol, sino también la producción de biomasa y la acumulación de productos secundarios importantes. Las variaciones producidas por este factor sobre el poder fermentativo no muestran una relación lineal. El mayor rendimiento de alcohol se debe generalmente a menores temperaturas, a bajas temperaturas las fermentaciones son más lentas pero generalmente el grado alcohólico alcanzado es mayor que a

temperaturas elevadas o superiores a los 30-35 °C. La temperatura influye en la velocidad de fermentación, esto se debe a que la temperatura afecta al desarrollo de las levaduras, por lo que es necesario determinar el orden de reacción y la constante de velocidad de fermentación tomando como referencia la disminución de los °Brix. La velocidad de reacción se desarrolla eficientemente siempre y cuando se realicen con las condiciones óptimas de pH, temperatura, presencia de cofactores y concentraciones de sustrato.

**Cuadro 6.** Variación de °Brix durante la fermentación a temperatura de refrigeración ( $10\pm 2$  °C).

Tiempo (días)	°Brix			
	Past.	U.S. 10'	U.S. 20'	U.S.30'
0	24,00±0,00	24,00±0,00	24,00±0,00	24,00±0,00
1	23,53±0,03	23,63±0,09	23,70±0,06	23,70±0,07
2	23,07±0,03	23,00±0,06	23,10±0,07	23,03±0,06
3	22,03±0,03	22,30±0,06	22,03±0,03	22,07±0,03
4	21,83±0,03	21,83±0,17	21,87±0,09	21,97±0,06
5	21,13±0,03	21,30±0,06	21,30±0,06	21,30±0,09
6	21,13±0,03	21,03±0,03	21,07±0,03	21,10±0,00
7	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00
8	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00
9	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00
10	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00
11	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00
12	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00
13	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00
14	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00	21,10±0,00

Donde:

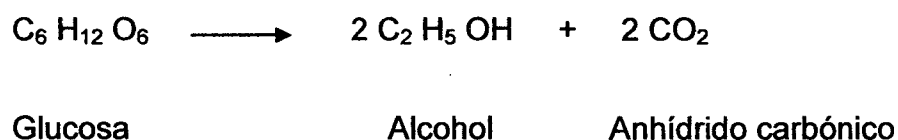
Past. = Pasteurización

U.S. 10' = Ultrasonido con diez minutos

U.S. 20' = Ultrasonido con veinte minutos

U.S. 30' = Ultrasonido con treinta minutos

En el cuadro 7, se observa que no existe diferencia estadística en el contenido de °Brix en los vinos destinados a diversos tratamientos post-fermentación, también es evidente que los carbohidratos presentes en el mosto fueron convertidos en alcohol, lo que se manifiesta en la disminución de sólidos solubles, siendo corroborado por PEYNAUD (1987), quien manifiesta que Lavoisier en 1798, fue el primero en advertir que el azúcar se desdobra por fermentación en alcohol y anhídrido carbónico, por su parte J. Gay-Lussac en 1810, expuso como resultado de sus trabajos experimentales, la formula de la fermentación, válida todavía hoy en términos generales:



Según HASHIZUME (1983), manifiesta que 1 mol de glucosa es convertida en 2 moles de etanol y 2 de CO<sub>2</sub> se puede decir que la producción de alcohol etílico es del 51.1 % en peso del azúcar transformado.

Según TORIJA (2002), manifiesta que 1 gramo de glucosa genera 0.51 gramos de etanol y 0.49 gramos de carbónico, a parte del etanol y el carbónico, también se forman otras sustancias generadas en la fermentación alcohólica, estas son: glicerol, ácido acético, ácido láctico, ácido pirúvico, acetaldehído, ácido succínico, acetoína, diacetilo, 2-3 butanodiol (butilenglicol), alcoholes superiores, ésteres, acetatos, vinil-fenoles y etil-fenoles principalmente. Durante la fase de crecimiento exponencial, las levaduras se multiplican durante 6 ó 7 generaciones, generando una población máxima de  $120-130 \times 10^6$  células por mililitro, esta biomasa solo representa 3 gramos de peso seco por litro. Se admite que 17 g de azúcar/L, produce 1°GL., en el presente experimento se obtuvo 10°GL. a partir de 24° Brix inicial.

**Cuadro 7.** Porcentaje de °Brix al inicio y final de la fermentación a temperatura ambiente ( $24,7 \pm 0,72$  °C).

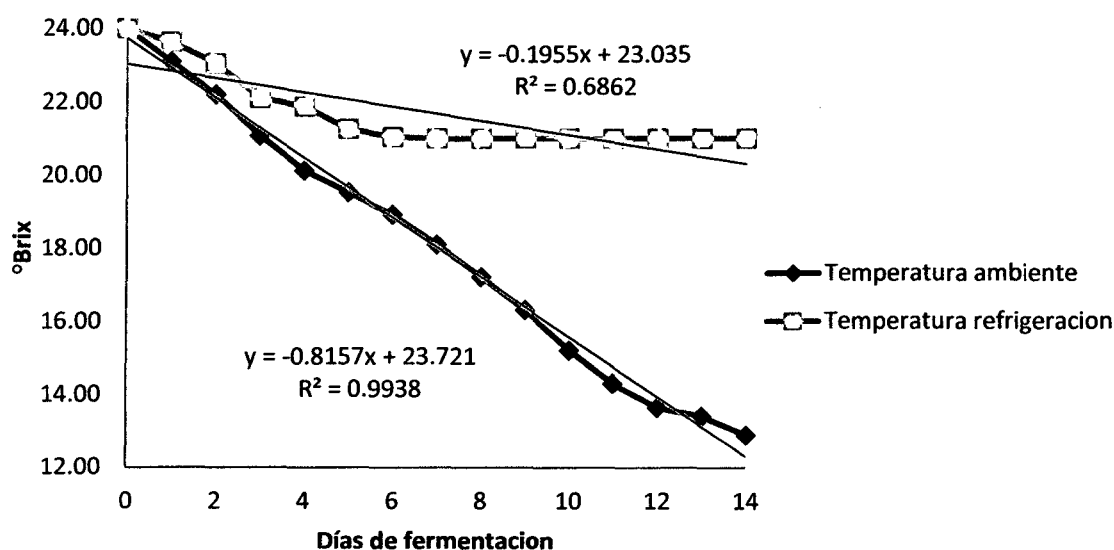
Fermentadores	°Brix i	%	°Brix f	%
Destinados a pasteurización	$24,00 \pm 0,00^a$	100	$12,87 \pm 0,22^a$	53,63
Destinados a ultrasonido 10'	$24,00 \pm 0,00^a$	100	$12,80 \pm 0,15^a$	53,33
Destinados a ultrasonido 20'	$24,00 \pm 0,00^a$	100	$13,00 \pm 0,15^a$	54,17
Destinados a ultrasonido 30'	$24,00 \pm 0,00^a$	100	$12,97 \pm 0,09^a$	54,04

Donde: a= indica que no hay diferencia significativa para un 95% en relación a los °Brix durante la fermentación.

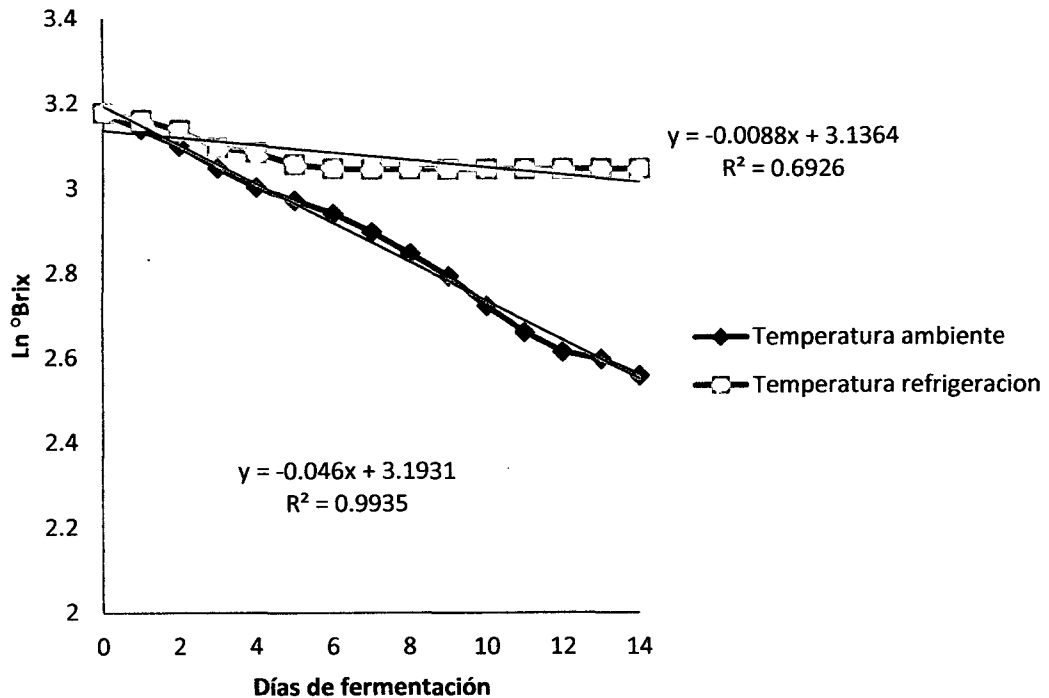
### 4.3.1. Determinación del orden y constante de velocidad de reacción

Para la determinación del orden de reacción, para el caso de la temperatura de refrigeración solo se considero hasta 6 días, por que a partir de ese tiempo la fermentación se detuvo. Por lo que el valor de K a esta temperatura solo tiene valor en este intervalo de tiempo.

La figura 5 y 6, muestra los valores de regresión para la determinación del orden de reacción a orden cero y primer orden.



**Figura 5.** Variación de los °Brix durante la fermentación a dos temperaturas, ajustados al modelo de cinética de orden cero.



**Figura 6.** Variación de los °Brix durante la fermentación a dos temperaturas, ajustados al modelo de cinética de primer orden.

Los valores de la constante de velocidad de reacción (K) ajustados a los modelos de cinética de orden cero y primer orden se muestra en el cuadro 8. Del cuadro 8, se puede observar los valores de K para cada orden reacción correspondiente al proceso de fermentación a dos temperaturas distintas; siendo el  $r^2$  adecuado para ambos ordenes de reacción (cero y primer orden), los cuales se encuentran mayor a 0,97 teniendo en cuenta que en el caso de la temperatura de refrigeración solo se considero hasta el sexto día de fermentación. El orden de reacción de fermentación es de Primer orden para la

fermentación a temperatura ambiente y de orden cero para la fermentación a temperatura de refrigeración (parado a los 6 días de fermentación).

Finalmente se obtuvo las siguientes ecuaciones:

- Temperatura ambiente:

$$^{\circ}\text{Brix finales} = \exp(3,193 - (0,046 \times \text{Tiempo de fermentación (Días)}))$$

- Temperatura de refrigeración:

$$^{\circ}\text{Brix finales} = \exp(3,179 - (0,023 \times \text{Tiempo de fermentación (Días)}))$$

El análisis de varianza del efecto de la temperatura en la variación de los grados  $^{\circ}\text{Brix}$  durante la fermentación, se muestra en el anexo I y la comparación de medias correspondiente en el anexo II. Del Anexo I, dado que los dos  $P_{\text{valor}}$  son inferiores a 0,01; significa que el tiempo y temperatura de fermentación tienen efecto altamente significativo en la variación de  $^{\circ}\text{Brix}$  durante la fermentación.

**Cuadro 8.** Constante de velocidad de reacción (K) a diferentes órdenes de reacción.

n	$^{\circ}\text{T. Ambiente}$		$^{\circ}\text{T. Refrigeración}$	
	$r^2$	K	$r^2$	K
0	0,993	-0,815	0,980	-0,5690
1	0,993	-0,046	0,978	-0,0235

Donde:

- n: orden de reacción.
- K: constante de velocidad de reacción.

#### **4.4. Variación de pH, durante la fermentación**

Como puede apreciarse en el cuadro 9, el pH tiene un descenso durante los primeros 11 días de fermentación, para luego tener un incremento leve en los días posteriores. Según ALEGRIA (2004), en el vino de zapote el pH disminuye de 3.25 a 3.03 en los primeros nueve días de fermentación (temperatura ambiente), para luego incrementarse bruscamente de 3.03 a 3.11, durante el décimo al decimotercer día de fermentación.

El pH tiene un marcado efecto en la velocidad de crecimiento y en el rendimiento, el pH óptimo para algunos organismos en especial para las levaduras se encuentra en un rango de 4.0 a 6.0. Un cambio en el valor de pH puede afectar su composición o su naturaleza de la superficie microbiana al disociarse ácidos y bases. Este último puede afectar la floculación de la biomasa o la adhesión a las paredes. El pH tiene una gran influencia en los productos finales del metabolismo anaerobio (FAJARDO Y SARMIENTOS, 2007). En el presente trabajo de investigación el pH fue de 3.5 dando como resultado una buena fermentación sin contaminación microbiana de por medio. Lo que no coincide con Fajardo y Sarmientos, quienes mencionan que el pH óptimo para levaduras es de 4.0 a 6.0.

Según NIETO (2009), investigo sobre el proceso de adaptación de la levadura en la fermentación alcohólica utilizando como sustrato jugo de caña, con pH inicial es de 3.7, 4.7 y 5.7 observando el descenso del rango 4.7 – 4.5 a 4.2 – 3.6 en dos horas, El mejor proceso de adaptación de la levadura *Saccharomyces Cerevisiae* fue a pH de 3.7, este descenso del pH influye en el crecimiento y fisiología de las levaduras.

*Saccharomyces Cerevisiae* es un hongo que crece en un rango amplio de pH, pero esta capacidad de adaptación a cambios en el pH extracelular, puede deberse a la capacidad eficiente para mantener la homeostasis de pH intracelular o a que posee un sistema de regulación génica capaz de controlar la síntesis de enzimas extracelulares, permeasas y metabolitos que son secretadas al medio. Dicho sistema entra en funcionamiento en respuesta a variaciones en el pH, lo cual asegura que solo se produzca las proteínas en las condiciones de pH ambiental existente (SERRANO, 2006).

Del Anexo IV, dado que dos  $P_{valor}$  son inferiores a 0,01, estos factores tienen efecto estadísticamente significativo en pH para un 95,0%. Lo que significa que el tiempo y temperatura de fermentación tienen efecto altamente significativo en la variación de pH durante la fermentación.

**Cuadro 9.** Variación de pH durante el proceso de fermentación a temperatura ambiente ( $24,7 \pm 0,72$  °C).

Tiempo (días)	pH			
	T <sub>1</sub> P	T <sub>2</sub> P	T <sub>3</sub> P	T <sub>4</sub> P
0	3,56±0,000	3,56±0,000	3,56±0,000	3,56±0,000
1	3,40±0,003	3,42±0,003	3,41±0,006	3,41±0,007
2	3,50±0,003	3,50±0,003	3,51±0,007	3,51±0,003
3	3,45±0,008	3,46±0,007	3,46±0,009	3,46±0,003
4	3,54±0,009	3,55±0,009	3,56±0,006	3,54±0,006
5	3,57±0,006	3,57±0,003	3,58±0,003	3,56±0,003
6	3,56±0,003	3,57±0,003	3,56±0,003	3,56±0,003
7	3,57±0,003	3,58±0,006	3,57±0,006	3,57±0,003
8	3,53±0,000	3,57±0,003	3,54±0,009	3,53±0,003
9	3,43±0,003	3,45±0,003	3,43±0,003	3,42±0,003
10	3,36±0,003	3,39±0,008	3,37±0,003	3,36±0,003
11	3,27±0,003	3,29±0,003	3,30±0,003	3,28±0,007
12	3,00±0,015	2,97±0,040	2,98±0,049	2,99±0,019
13	3,20±0,012	3,18±0,000	3,19±0,009	3,20±0,036
14	3,30±0,007	3,32±0,006	3,30±0,006	3,31±0,015

Donde:

T<sub>1</sub>P = tratamiento uno destinado a pasteurización

T<sub>2</sub>P = tratamiento dos destinado a pasteurización

T<sub>3</sub>P = tratamiento tres destinado a pasteurización

T<sub>4</sub>P = tratamiento cuatro destinado a pasteurización

#### **4.5. Efecto del tratamiento por ultrasonido y pasteurización para detener la fermentación y su evaluación en el almacenamiento.**

El vino obtenido por fermentación a temperatura ambiente fue sometido a tratamiento ultrasónico y pasteurización; luego almacenado para su evaluación sensorial, grado alcohólico y análisis microbiológico.

De acuerdo a los datos encontrados en el cuadro 10 y Anexo VI, los tratamientos por ultrasonido y pasteurización son estadísticamente iguales  $P_{valor} = 0,0654$ ; para la variación de °Brix en almacenamiento, esto se debería a que el ultrasonido desactivo a las levaduras por el efecto de cavitación causando la muerte de las levaduras como lo manifestado por ACEVEDO (2004), quien menciona que el efecto bactericida del ultrasonido es generalmente atribuido por la cavitación intracelular generada, en donde se dice que los choques micro-mecánicos son creados por la continua formación y ruptura de burbujas microscópicas inducidas por presiones que fluctúan bajo el proceso de ultrasonicación, estos choques interrumpen componentes estructurales y funcionales celulares hasta el punto de lisis (muerte) de la célula.

Según MARTÍNEZ (2008), menciona que la mayoría de las células son más sensibles al ultrasonido, y que las bacterias en forma de barra alargada son más susceptibles que las que tienen forma redonda. Del Anexo VI, dado que dos  $P_{valor}$  son superiores a 0,05, estos factores no tienen efecto estadísticamente significativo en °Brix para un 95,0%. Lo que significa que el tiempo y tipo de tratamiento no tienen efecto altamente significativo en la

variación de °Brix durante el almacenamiento. Del Anexo VI y VII, observamos que durante el tiempo el °Brix no tiene variación estadística significativa, lo que significa que la fermentación se ha detenido, de la misma manera, el efecto de los tratamientos de pasteurización y ultrasonido a diferentes tiempos no tiene diferencia estadística significativa, lo que significa que todos los tratamientos son iguales  $P_{valor} = 0.0654$ , por lo tanto el ultrasonido es tan efectivo como la pasteurización para detener la fermentación, así mismo el tiempo necesario sería el mínimo de 10 min. Del Anexo VIII, dado que el  $P_{valor}$  para el tiempo de almacenamiento es superior a 0,05, no existe diferencia estadística del pH durante el almacenamiento, indicando la estabilidad del pH. Pero el  $P_{valor}$  para los tratamientos es inferior a 0.5, por lo que existe diferencia significativa para los tratamientos, la prueba de Tukey para la comparación de medias mostrada en el Anexo IX, se puede apreciar la homogeneidad entre los tratamientos.

Del Anexo X, dado que dos  $P_{valor}$  son superiores a 0,05, estos factores no tienen efecto estadísticamente significativo en acidez para un 95,0%. Lo que significa que el tiempo de almacenamiento y tipo de tratamiento no tienen efecto significativo en la variación de acidez durante el almacenamiento.

Los °Brix, pH y acidez del producto se mantiene durante el tiempo de almacenamiento  $P_{valor} > 0.05$ , lo que indica que el vino se encuentra estable, si los °Brix varían, significa que el proceso de fermentación continua, por lo tanto los tratamientos para detener la fermentación no fueron eficientes. Si el pH y acidez varia indica que existe un deterioro del producto por fermentación acética debido a un mal almacenamiento y embotellado, lo cual es corroborado

por CASP (2003), quien menciona que el ataque del alcohol por las bacterias se produce en presencia de oxígeno, produciéndose así la oxidación bioquímica del etanol para formar ácido acético, este proceso es el causante de la alteración conocida como picado acético de los vinos.

**Cuadro 10.** Valores de °Brix, pH y Acidez durante el almacenamiento del vino de lulo.

Tratamientos	Días	Durante Almacenamiento		
		°Brix	pH	Acidez
Pasteurización	0	12,87±0,00	3,30±0,00	0,39±0,00
Pasteurización	15	12,50±0,30	3,29±0,003	0,39±0,00
Pasteurización	30	12,40±0,31	3,31±0,02	0,52±0,00
Ultrasonido 10'	0	12,80±0,00	3,32±0,00	0,40±0,00
Ultrasonido 10'	15	12,73±0,07	3,32±0,003	0,39±0,00
Ultrasonido 10'	30	12,73±0,03	3,36±0,006	0,38±0,00
Ultrasonido 20'	0	12,87±0,00	3,30±0,00	0,40±0,00
Ultrasonido 20'	15	12,81±0,03	3,33±0,003	0,40±0,00
Ultrasonido 20'	30	12,79±0,00	3,37±0,003	0,40±0,00
Ultrasonido 30'	0	12,97±0,00	3,31±0,000	0,41±0,00
Ultrasonido 30'	15	12,91±0,00	3,32±0,000	0,44±0,00
Ultrasonido 30'	30	12,90±0,07	3,36±0,003	0,42±0,00

#### **4.6. Análisis sensorial del vino de lulo**

En el cuadro 11, se observa el resumen de puntuación (con escala hedónica de 0-10) del análisis sensorial y en el anexo XII, dado que dos  $P_{valor}$  es inferior a 0,05 indica que los tratamientos tienen efecto estadísticamente significativo en la calidad sensorial del vino de lulo para un 95,0%. Lo que significa que el tipo de tratamiento tiene efecto en la percepción de los panelistas (20 tomados al azar) en cuanto a la calidad del vino de lulo.

De acuerdo a los resultados de la evaluación organoléptica, se encontró que hay diferencia significativa entre los diferentes tratamientos, esto se debería a que la pasteurización por calor tiene efecto en las características organolépticas; lo cual es corroborado por CASP (2003), quien menciona que los efectos del calor sobre las propiedades organolépticas en productos de origen vegetal pueden verse en modificaciones de color, de consistencia y aroma. Por lo cual se trata de minimizar estos cambios con el uso de ultrasonido, el tiempo encontrado para el tratamiento por ultrasonido es de 20 minutos, como se puede apreciar en el anexo XIII, el tratamiento ultrasónico de 20 minutos presenta diferencia estadísticamente significativa en comparación a los otros tratamientos.

**Cuadro 11.** Resumen de puntuación del análisis sensorial

Panelistas	Tratamientos			
	TC	U 10	U 20	U 30
1	8,0	10,5	10,0	6,0
2	11,0	10,5	10,0	12,0
3	9,0	10,5	12,0	9,5
4	11,0	10,0	12,0	8,0
5	8,5	4,0	10,0	8,0
6	7,5	7,5	11,0	10,5
7	8,0	6,0	9,5	9,5
8	10,5	8,5	10,5	9,5
9	10,5	5,5	10,5	6,0
10	10,5	8,5	10,0	3,5
11	9,0	7,5	10,0	7,0
12	10,5	9,0	12,0	10,0
13	10,0	12,0	11,0	10,0
14	8,0	6,0	9,5	9,5
15	9,5	12,0	10,5	10,0
16	11,0	5,0	10,5	8,5
17	12,0	9,5	10,0	4,0
18	10,0	7,5	10,0	9,5
19	9,5	4,5	12,0	8,0
20	7,5	4,5	12,0	8,0
<b>Total</b>	<b>9,6±1,33</b>	<b>8±2,54</b>	<b>10,7±0,89</b>	<b>8,4±2,16</b>

Donde: TC = Tratamiento clásico (pasteurización); U 10 = Ultrasonido 10',  
U 20 = Ultrasonido 20' y U 30 = Ultrasonido 30'.

#### **4.7. Grado alcohólico**

El mejor vino obtenido de acuerdo al análisis sensorial realizado con 20 panelistas, obtuvo 10°GL, lo cual indica que esta dentro de las bases de la limitación legal del etanol. Según ALEGRIA (2005), menciona que si un vino contiene menos de 10°GL, se deteriora con mucha mas facilidad, siendo así más vulnerable para el ataque de bacterias. Según HOYOS et al (2010), mencionan que los vinos a partir de 6°GL se encuentran dentro de las normas establecidas de graduación alcohólica de vinos.

#### **4.8. Análisis microbiológico**

Del cuadro 7, se observa que los resultados reportados del análisis microbiológico de vino de lulo fueron favorables ( $< 10$  u.f.c./ml), lo que indica que está dentro del rango permisible para el consumo humano.

El tratamiento ultrasónico de 20 minutos al cual fue sometido el vino de lulo provocó la muerte de las levaduras. Lo que es corroborado por ACEVEDO (2004), quien manifiesta que el tratamiento ultrasónico es efectivo contra los microorganismos, pero depende del tiempo expuesto y el tipo de alimento a analizar, donde la cavitación (choques entre moléculas) que se produce interrumpen componentes estructurales y funcionales celulares hasta el punto de lisis (muerte) de la célula. Según JORGENSEN (1978), menciona que la mayor parte de las alteraciones microbianas que tienen lugar en zumos y derivados de frutas son debidas a las levaduras en más del 90%.

**Cuadro 12.** Análisis microbiológico de mohos y levaduras del vino de lulo tratado con ultrasonido a 20 minutos.

---

Análisis	Factor dilución	Número de UFC/ml.
Mohos	$1 \times 10^5$	< 10
Levaduras	$1 \times 10^5$	< 10

---

Fuente: ESTA INVESTIGACIÓN

## V. CONCLUSIONES

- El lulo tiene en su composición químico proximal  $94,41 \pm 0,20$  % de humedad,  $0,68 \pm 0,12$  % de ceniza total,  $0,51 \pm 0,02$  % de proteínas totales, 0,27% de grasa, 0,46% de fibra y 3,67% de carbohidratos totales.
- La fermentación a temperatura de refrigeración se detiene al 6<sup>to</sup> día llegando a 21° Brix, debido a que la levadura no es la adecuada. El tiempo de fermentación a temperatura ambiente ( $24,7 \pm 0,72$  °C) es de 14 días, llegando a 13° Brix y 10°GL, obteniéndose un mejor resultado organoléptico, al tratar el vino con ultrasonido por 20 minutos.
- El vino obtenido es catalogado como semi-seco con 13° Brix y 10°GL de acuerdo a ITINTEC, (1982). El pH obtenido fue de 3.33 y su acidez total fue de 0.4 g de ácido cítrico/100 ml de vino.

## VI. RECOMENDACIONES

- Tener en cuenta los parámetros óptimos en cuanto al efecto de la temperatura de fermentación y tratamiento ultrasónico de vino de lulo.
- Experimentar con otra especie de levadura diferente a la marca Fleisshman, cuando el mosto es sometido a temperatura de refrigeración, a fin de obtener vino.
- Realizar un estudio de pre-factibilidad técnico-económico para la instalación de una planta productora de vinos a partir del fruto de lulo (*Solanum quitoemse*) y otras frutas tropicales existentes en la zona del alto huallaga, tratándolas con ultrasonido.
- Los equipos de laboratorio en lo que concierne a análisis de fermentación, deberían estar acondicionados en un ambiente específico, para así evitar algún tipo de contaminación al momento de trasladarse entre los ambientes.
- Estudiar el contenido de taninos en vino de lulo (*Solanum quitoemse*).

## VII. ABSTRACT

The present investigation work research in the laboratories of chemistry, food analysis, sensory analysis and research center for biotechnology development of the Amazon (CIDBAM) of the National Agrarian University of the Forest; located in the district of Rupa - Rupa, province of Leoncio Prado, Huanuco department. It was used the flesh of lulo (*Solanum quitoemse*) in mature condition, harvested in Tingo Maria city. The objectives of this research were: to characterize physicochemically the pulp of lulo; to evaluate the fermentation temperature and the effect of ultrasonic treatment (40 KHz) in obtaining lulo wine; to characterize physicochemically the final product. Lulo has proximal chemical composition  $94.41 \pm 0.20\%$  moisture,  $0.68 \pm 0.12\%$  of total ash,  $0.51 \pm 0.02\%$  of total protein,  $0.27\%$  fat,  $0.46\%$   $3.67\%$  fiber and total carbohydrate. Fermentation at refrigeration temperature ( $10 \pm 2$  °C) stops at the 6<sup>th</sup> day reaching 21° Brix, because the yeast was'nt not appropriate. The fermentation time at room temperature ( $24.7 \pm 0.72$  °C) it was 14 days, reaching 13°Brix and 10°GL, ultrasound treatments and pasteurization were statistically equal (Pvalor = 0.0654), the °Brix, pH and acidity of the product is kept for 30 days of storage (Pvalor > 0.05), it was obtained a better result by treating the wine organoleptic ultrasound for 20 minutes. It was obtained wine of lulo with 13° Brix, 10°GL, pH=3.33, acidity=0.4 g. citric acid/100 ml of wine and microbiological analysis of molds and yeasts <10 u.f.c./ml.

## VIII. BIBLIOGRAFIA

- ACEVEDO, A. P. 2004. Inactivación Microbiana Combinando Ultrasonido de Baja Frecuencia con Ultravioleta de Onda Corta. Universidad de las Américas Puebla. Escuela de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Cholula, Puebla, México. [En línea]: ([http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/lia/martinez\\_r\\_mj/](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/martinez_r_mj/), 19 de Marzo 2009).
- ACEVEDO, C.; ORTEGA, O.; HIDALGO, C. A.; MORENO, F. 2005. Effects of different levels of water application in post-setting and post-ripening on wine quality cv. Cabernet Sauvignon. *Agricultura Técnica (Chile)* 65(4):397-410.
- ALVARADO, J. 1996. Principios de ingeniería aplicados a alimentos. Secretaria General de la OEA. Programa Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Universidad Técnica de Ambato. Ecuador. 145 p.
- ALEGRIA, P. J. 2005. Evaluación del comportamiento de la pulpa del fruto del zapote frente a procesos de transformación agroindustrial (*Matisia cordata*). Investigación Química de Productos Naturales Departamento de Química. Facultad de Ciencias Exactas y de la Educación. Universidad del Cauca. Sede Tulcán, Colombia. 56 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) 1984. Official methods of analysis of the association official analytical chemist. Ed. 16 th. Vol II Rd. Washington. 39 p.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS (AOAC) 1975. "Official methods of analysis of the AOAC" Horwitz ed. 12 ed. Association of official analytical Chemists Washington, D.C. 1094 p.

AZTI-DIFUSIÓN TECNOLÓGICA. 2001. Ministerio de Sanidad y Consumo. Aditivos autorizados en vinos y diversas bebidas alcohólicas a base de vinos. Elaborado por: Servicio de Información Alimentaria Aditivos alimentarios. Vino © AZTI 2000 (Sukarrieta).

AZULOA, L. Y VARGAS, R. 2007. Power ultrasound in food processing the way forward. En "Ultrasound and Food Processing". Eds. Povey, MJW. y Mason, T. J. Blackie Academic and Professional. USA.

BALIK, J. 2003. Effect of bentonite clarification on concentration of anthocyanins and colour intensity of red rose wines. HORT. SCI. (PRAGUE). 30(4):135-141.

BODEGAS, J. 2005. Las soluciones del aumento de pH están en el viñedo y en la elaboración. II Encuentro de Enólogos, Fundación para la cultura del vino. Zaragoza - España. 154 p.

BONILLA, F.; MAYEN, J.; MERIDA, K; MEDINA, M. 2001. Yeasts used as fining treatment to correct browning in white wines. J. Agric. Food Chem. [En línea]: (<http://www.springerlink.com/content/4v55760776h66105/>, 12 de Agosto 2010).

- BROWN, T. Y COLS, J. 2004. Química. La Ciencia Central. Editorial Pearson Educación, IX Edición, México.
- CASP, A. 2003. Procesos de Conservación de Alimentos. Ediciones Mundi - Prensa. Madrid, España. 187 p.
- CANTARELLI, C. 1984. Control de la temperatura en la fermentación. L. Enotecnico. p. 383-396.
- CORAZZA, D. Y NOZAKI, J. 2001. Preparation and Characterization of Orange Wine. Quim. Nova. 24 (4): 449-452.
- EZERONYE, O. U. 2004. Nutrient utilization profile of *Sacharomyces Cerevisiae* from palm wine in tropical fruit fermentation. Antonie Van Leewenhoek. 86 (3): 235-239.
- FAJARDO, E. Y SARMIENTOS, S. (2007). Evaluación de la melaza de caña como sustrato para la producción de *Saccharomyces cerevisiae*. Trabajo de grado para la obtención del título de Microbióloga Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Microbiología Industrial. [En línea]: (<http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis26.pdf>, 03 de Noviembre 2008)
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO) 1981. Alimentación y nutrición. Manual para el control de calidad de los alimentos. Análisis microbiológico. Roma. 42 p.
- FICHAS TECNICAS DE PRODUCTOS FRESCOS Y PROCESADOS (FAO) 2006. Elaboración de vinos de frutas. [En línea]:

(<http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/AE620s/Pprocesados/FRU2.HTM#B1>, 14 de Marzo 2008).

FORY, P. A. 2005. Caracterización y análisis molecular de la diversidad genética de la colección colombiana de Lulo (*Solanum quitoemse* Lam) y seis especies relacionadas de la sección Lisocarpa. Tesis. 179 p.

GRAINGER, K Y TATTERSALL, H. 2005. Producción de Vino (desde la vid hasta la botella), Editorial Acribia, Zaragoza – España. p. 14 - 36.

GRUPO 84. 2006. Vino de uva y frutas. [En línea]:

(<http://www.geocities.com/grupo84/Frutas.htm>, 18 de Mayo 2010).

HART, F. Y FISHER, H. 1991. Análisis moderno de los alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza. 32 p.

HASHIZUME, T. 1983. Fundamentos de tecnología de vino en alimentos y bebidas producidas por fermentación. Sao Paulo, Brasil. Ltda. serie biotecnológica. V.5. p. 29-33.

HOYOS, J.; URBANO, F.; VILLADA, H.; MOSQUERA, S.; NAVIA, P. 2010. Determinación de parámetros fermentativos para la formulación y obtención de vino de naranja (*citrus sinensis*). Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad del Cauca- Colombia. 9 pp.

INVESTIGACION TECNOLOGICA DE NORMAS TECNICAS (ITINTEC). 1982. Norma técnica para análisis de vinos y bebidas alcohólicas N° 011.001,

210.004, 210.011, 212.007, 212.009, 212.010, 212.014. Lima, Perú. 157 p.

JARUPAN, K. 2002. Effect of Ultrasound, Temperature and Pressure Treatments on Enzyme Activity and Quality Indicators of Fruit and Vegetable Juices. J. Jpn. Soc. FoodSci. Technol. [En línea]:

([http://edocs.tu-berlin.de/diss/2002/kuldiloke\\_jarupan.pdf](http://edocs.tu-berlin.de/diss/2002/kuldiloke_jarupan.pdf), 05 de Febrero 2007).

JURADO, S. Y SARZOSA, X. 2009. Estudio de la cadena agroindustrial en la cabuya en la producción de miel y licor de cabuya. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustria. Quito – Ecuador. 176 pp.

JORGENSEN, A. 1978. Microbiología de las fermentaciones industriales.

Zaragoza, España, Acribia. 591 p.

LEES, R. 1982. Análisis de los alimentos: Métodos analíticos y control de calidad. 2º ed. Ed. Acribia, S.A. Zaragoza, España. 41 p.

LÓPEZ, G.; RAMÍREZ, A.; MEJÍA, G.; JIMÉNEZ, L. 2002. Manual de Métodos de Análisis para el Laboratorio de Bromatología. Dpto. de Farmacia. Facultad de Química Farmacéutica. Universidad de Antioquia. Medellín. 32 p.

MÁRQUEZ, C. J. 2004. Deshidratación de mora (*Rubus glaucus*) por convección forzada para producción de aromáticas. Medellín: El Autor. 102 p.

MARTÍNEZ, M. J. 2008. Estabilidad de néctar de mango tratado con ultrasonido de baja frecuencia y/o radiación ultravioleta de onda corta. Universidad

de las Américas Puebla. Escuela de Ingeniería. Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. Cholula, Puebla, México. [En línea]: ([http://catarina.udlap.mx/u\\_dl\\_a/tales/documentos/lia/martinez\\_r\\_mj/](http://catarina.udlap.mx/u_dl_a/tales/documentos/lia/martinez_r_mj/), 03 de Diciembre 2010).

MASON, T. J. 1999. "Sonochemistry: current use and future prospects in the chemical and processing industries". *Philosophical Transactions of The Royal Society A: Mathematical Physical and Engineering Sciences*. 357(1751):355-369.

MESAS, J. Y ALEGRE, M. 1999. The role of the microorganisms in winemaking. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 2(4):174-183.

NORMA TÉCNICA COLOMBIANA (NTC-708) 2005. *Temas Agrarios*. Bogotá, Colombia. Vol. 10:(2). [En línea]: ([www.unicordoba.edu.co/.../TEMAS\\_AGRARIOS\\_2005\\_JULIO.pdf](http://www.unicordoba.edu.co/.../TEMAS_AGRARIOS_2005_JULIO.pdf), 12 de Marzo 2011).

NEGRE, E. Y FRANCO. 1980. *Manual práctica de vinificación y conservación de vinos*. Trad, del francés por Herminio de la Llama. 102 p.

NIETO, H. 2009. Tesis para optar el grado de Ingeniero en Biotecnología "Evaluación de las condiciones de la fermentación alcohólica utilizando *Sacharomyces cerevisiae* y jugo caña de azúcar como sustrato para obtener etanol". Departamento de Ciencias de la Vida Ingeniería en Biotecnología. Escuela Politécnica del ejército. Sangolqui, Ecuador. 142 p.

- NOVO, M., BELTRAN, M.; TORIJA, M.; NROZES, J.; GUILLAMON, A. 2001. Fermentaciones a Bajas Temperaturas: resultados preliminares Departamento de Ingeniería Química, Unidad de Enología del CERTA (Generalitat de Catalunya), Facultad de Enología, Universitat Rovira i Virgili, Tarragona. VI Jornadas Científicas grupos de investigación enológica. [En línea]: (<http://www.acenologia.com/>, 10 de Junio 2004).
- OLIVERO, R. 2006. Optimización del proceso de clarificación de vino de naranja criolla (*Citrus sinensis*). Universidad de Puerto Rico – Recinto de Mayaguez. 164 p.
- PINO, J. 1988. Manejo postcosecha e industrialización del lulo. En: Memorias del Primer Seminario Internacional del Cultivo de lulo (*solanum quitoemense* Lam). Secretaria de Agricultura, Departamento de Antioquia, Colombia. 49 p.
- PEYNAUD, E. 1987. Enología práctica del conocimiento y elaboración del vino. Madrid, España, Mundi. 414 p.
- PAJAJROY, V. B.; CAICEDO, A. A.; ORDÓÑEZ, L. E. 2003. Estudio fenológico, fisicoquímico, nutricional, fitoquímico y uso agroindustrial del níspero común *Achras sapota* L. en el C.I. Palmira CORPOICA-Regional Cinco. Trabajo de grado, Ingeniero agroindustrial. Universidad Nacional de Colombia sede Palmira. 117 p.
- PRETORIUS, I. S. 2009. Seminario técnico. Compuestos azufrados volátiles en vinos. Tarragona, Madrid. 112 p.

SALTON, M.; DAUT, C.; RIZZON, L. 2000. Influence of sulfur dioxide and grape varieties at the formation of some volatile compounds and at the sensory quality of the wine distillate. *Ciênc. Tecnol. Aliment.* 20(3):302-308.

SERRANO, R. (2006). Mecanismo de adaptación de la *Saccharomyces cerevisiae* a la alcalinidad ambiental. Tesis Doctoral. Universidad Autónoma de Barcelona. Departamento de bioquímica y biología molecular. Barcelona, España. [En línea]:  
[http://www.tesisenxarxa.net/TESIS\\_UAB/AVAILABLE/TDX-1219106-163252//rsc1de1.pdf](http://www.tesisenxarxa.net/TESIS_UAB/AVAILABLE/TDX-1219106-163252//rsc1de1.pdf), 04 de diciembre 2008).

THE SONOCHEMISTRY CENTRE. 2006. Ultrasound in Food Technology. Coventry University, London. Consultado en marzo del 2010. [http://www.sonochemistry.info.food.html]

TORIJA, M. 2002. Ecología de levaduras: Selección y adaptación a fermentaciones vínicas. Tesis PhD. Universidad de Rovira I Virgilio. Tarragona, España. 260 p.

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO-UNIVERSIDAD PÚBLICA DE NAVARRA. 2007. Seminarios Internacionales "Elaboración de Vinos de frutas", Ambato, Ecuador. 185 p.

VARELA, F.; UTHURRY, F.; CALDERÓN, M.; GONZÁLEZ, B.; COLOMO, J.; SUÁREZ, L. 2001. Efecto de activadores de fermentación sobre la cinética fermentativa y producción de volátiles secundarios de distintas cepas de levadura. VI Jornadas Científicas 2001. Grupos de Investigación Enológica Valencia. Consultado: 5 de junio del 2001.

- VOGT, C. 1978. El vino, obtención, elaboración y análisis. Trad. del Alemán por Silvia Herbert. Zaragoza, España. Acribia 394 p.
- WATSON, J. 1995. Rambutan cultivars in north Queensland. Queensland Agricultural Journal. p. 37- 41. [En línea]:  
([http://www.fhia.org.hk/downloads/informes\\_tecnicos/it2008diversificacion.pdf](http://www.fhia.org.hk/downloads/informes_tecnicos/it2008diversificacion.pdf), 18 de Febrero 2011).
- WOLFF, D. 1976. El cultivo del lulo a naranjilla (*Solanum quitoense lam*). Bogotá: Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Agronomía. 132 p.
- WEISS, K. Y BISSON, L. 2002. Effect of bentonite treatment of grape juice on yeast fermentation. Am. J. Enol. Vitic. 53(1):28-36.
- YERAMIAN, N. F.; VARELA, F.; CALDERÓN, B.; COLOMO, A.; MORATA, J. A.; SUÁREZ, L.; SANCHO, E. 2001. Acidificación del Mosto por *Saccharomyces* spp. VI Jornadas Científicas 2001 Grupos de Investigación Enológica. 56 - 82 pp.
- ZAMORA, F. 2005. El Anhídrido Sulfuroso. Algunas Reflexiones Sobre Este Aditivo. Enólogos N° 38. [En línea]:  
(<http://www.enologo.com/tecnicos/eno38/eno38.html>, 05 de Julio 2011).

**ANEXO**

**Anexo I. Análisis de varianza para °Brix según las temperaturas de fermentación.**

FUENTE	SC	GL	CM	C-F	P-Valor
Días fermentación	577,67	14	41,2622	18,58	0,0000
Temp. fermentación	412,663	1	412,663	185,81	0,0000
RESIDUOS	230,977	104	2,22093		
TOTAL (CORREGIDO)	1221,31	119			

**Anexo II. Comparación de medias de °Brix durante la fermentación de vino de lulo, por Tukey 95%.**

Nivel	Muestra	Media	Sigma	Grupos homogéneos
14	8	17,005	0,526893	X
13	8	17,2625	0,526893	XX
12	8	17,3788	0,526893	XX
11	8	17,7037	0,526893	XXX
10	8	18,1625	0,526893	XXXX
9	8	18,7125	0,526893	XXXX
8	8	19,1637	0,526893	XXXX
7	8	19,6088	0,526893	XXXX
6	8	20,0038	0,526893	XXXX
5	8	20,3962	0,526893	XXX
4	8	21,0038	0,526893	XX
3	8	21,595	0,526893	XX
2	8	22,63	0,526893	XX
1	8	23,37	0,526893	X
0	8	24,0	0,526893	X

**Anexo III. Variación de pH durante el proceso de fermentación a temperatura de refrigeración ( $10\pm 2$  °C).**

Tiempo (días)	pH			
	T1P	T2P	T3P	T4P
0	3,56±0,000	3,56±0,000	3,56±0,000	3,56±0,000
1	3,54±0,001	3,54±0,001	3,54±0,001	3,53±0,001
2	3,53±0,001	3,53±0,001	3,53±0,001	3,51±0,001
3	3,50±0,001	3,51±0,001	3,50±0,001	3,50±0,001
4	3,49±0,001	3,49±0,001	3,50±0,001	3,49±0,001
5	3,45±0,001	3,46±0,001	3,46±0,001	3,45±0,001
6	3,51±0,001	3,52±0,001	3,51±0,001	3,51±0,001
7	3,51±0,001	3,54±0,003	3,50±0,002	3,52±0,002
8	3,50±0,001	3,53±0,004	3,51±0,002	3,52±0,005
9	3,50±0,001	3,51±0,001	3,51±0,001	3,51±0,001
10	3,50±0,000	3,50±0,001	3,51±0,001	3,53±0,003
11	3,50±0,001	3,51±0,003	3,47±0,006	3,54±0,004
12	3,51±0,001	3,51±0,006	3,52±0,004	3,51±0,004
13	3,51±0,001	3,53±0,004	3,49±0,004	3,53±0,007
14	3,50±0,001	3,51±0,003	3,51±0,006	3,49±0,008

**Anexo IV.** Análisis de varianza para pH según las temperaturas de fermentación.

Fuente	SC	GL	CM	C-F	P-Valor
Días fermentación	0,0808897	14	0,0577783	7,23	0,0000
Temp. fermentación	0,250253	1	0,2502533	1,30	0,0000
Residuos	0,831397	104	0,0079942		
<hr/>					
Total (corregido)	1,89055	119			

**Anexo V.** Comparación de medias de pH durante la fermentación de vino de lulo, por Tukey 95%.

Nivel	Recuento	Media	Sigma	Grupos homogéneos
14	8	3,24875	0,0316113	X
13	8	3,53375	0,0316113	X
12	8	3,395	0,0316113	XX
11	8	3,405	0,0316113	XX
10	8	3,44	0,0316113	XXX
9	8	3,47	0,0316113	XXX
8	8	3,47375	0,0316113	XXX
7	8	3,48	0,0316113	XXX
6	8	3,5125	0,0316113	XX
5	8	3,515	0,0316113	XX
4	8	3,52	0,0316113	XX
3	8	3,52875	0,0316113	XX
2	8	3,5375	0,0316113	XX
1	8	3,545	0,0316113	X
0	8	3,56	0,0316113	X

**Anexo VI. Análisis de varianza para °Brix según los tratamientos durante el almacenamiento.**

Fuente	SC	GL	CM	C-F	P-Valor
Días almacenamiento	0,243889	2	0,1219443	2,30	0,1178
Tratamientos	0,424956	3	0,141652	2,67	0,0654
Residuos	1,591710	30	0,053057		
Total (corregido)	2,26056	35			

**Anexo VII. Comparación de medias de °Brix durante el almacenamiento de vino de lulo, por Tukey 95%.**

Tratamiento	Muestra	Media	Sigma	G. homogéneos
Pasteurización	9	12,59	0,0767804	X
Ultrasonido 10	9	12,7556	0,0767804	XX
Ultrasonido 20	9	12,8011	0,0767804	XX
Ultrasonido 30	9	12,8889	0,0767804	X

**Anexo VIII. Análisis de varianza para pH según los tratamientos durante el almacenamiento.**

Fuente	SC	GL	CM	C-F	P-Valor
Días almacenamiento	0,000200	2	0,000100	0,17	0,8448
Tratamientos	0,0057861	3	0,001928	3,27	0,0347
Residuos	0,0176889	30	0,000589		
Total (corregido)	0,023675	35			

**Anexo IX.** Comparación de medias de pH durante el almacenamiento de vino de lulo, por Tukey 95%.

Tratamiento	Recuento	Media	Sigma	G. homogéneos
Pasteurización	9	3,30222	0,0080941	X
Ultrasonido 20	9	3,33111	0,0080941	X
Ultrasonido 30	9	3,33111	0,0080941	X
Ultrasonido 10	9	3,33222	0,0080941	X

**Anexo X.** Análisis de varianza para acidez según los tratamientos durante el almacenamiento.

Fuente	SC	GL	CM	C-F	P-Valor
Días almacenamiento	5,555E <sup>-6</sup>	2	2,77778E <sup>-6</sup>	0,24	0,7896
Tratamientos	7,5E <sup>-5</sup>	3	2,5E <sup>-5</sup>	2,14	0,1156
Residuos	0,00035	30	1,16667E <sup>-5</sup>		
Total (corregido)	4,30556 E <sup>-435</sup>				

## Anexo XI. Ficha de puntaje de los atributos de vino

### Análisis sensorial de vinos

Por favor después de catar los vinos, colocar el puntaje que usted crea por conveniente de acuerdo a los valores dados en el cuadro de atributos.

**Nota:** los códigos que se presentan a continuación en los cuadros, no influyen de ninguna manera en los resultados.

ATRIBUTOS	761	142	839	454
Apariencia				
Color				
Aroma				
Astringencia				
Calidad general				

### Puntaje de atributos

<b>1. APARIENCIA (descripción del atributo)</b>	<b>Puntaje</b>
Brillante, transparente, atractivo, pulido	2.0
Transparente pero no tan brillante, limpio como cristal	1.5
Apagado y posibles rastros de turbidez	1.0
Opaco y con turbidez evidente	0.0
<b>2. COLOR (descripción del atributo)</b>	<b>Puntaje</b>
Color paja claro, con destellos verdes y atractivo	2.0
Duda si esta oxidado o no	1.0
Evidentemente oxidado	0.0
<b>3. AROMA (descripción del atributo)</b>	<b>Puntaje</b>
Aroma fácilmente identificable a fruta, indicios de la fruta que se hizo y otros aromas agradables (florales especies)	4.0
Aromas identificables a frutas sin ningún otro aroma agradable	3.0
Aromas agradables no identificables y sin aromas desagradables	2.0
No tiene aroma, con la posible excepción del alcohol	1.0
Tiene aromas desagradables (químicos, oxidado, olor a vinagre)	0.0
<b>4. ASTRINGENCIA (descripción del atributo)</b>	<b>Puntaje</b>
El post-gusto es largo y agradable; dá la sensación de querer ingerir más	2.0
El post-gusto es corto y agradable	1.5
El post-gusto es corto pero es muy fuerte; reseca	1.0
El post-gusto es largo y muy fuerte, reseca, desagradable	0.0
<b>5. CALIDAD GENERAL (descripción del atributo)</b>	<b>Puntaje</b>
Le agrada tanto que lo regalaría como un regalo especial	2.0
Le agrada lo suficiente para comprarlo	1.5
Le agrada pero no lo compraría	1.0
No le agrada en absoluto	0.0

**Anexo XII.** Análisis de varianza sensorial del vino de lulo con DCA como modelo.

Fuente	SC	GL	CM	C-F	P-Valor
Tratamientos	35,65	3	11,8833	9,73	0,0001
Residuos	43,95	36	1,22083		
Total (corregido)	79,6	39			

**Anexo XIII.** Comparación de medias de la puntuación obtenida durante la evaluación sensorial de vino de lulo, por Tukey 95%.

Tratamientos	Recuento	Media	G. homogéneos
Pasteurización	10	7,8	X
Ultrasonido 10	10	8,05	X
Ultrasonido 30	10	8,35	X
Ultrasonido 20	10	10,2	X