

**“OBTENCIÓN DE BEBIDAS FERMENTADAS A PARTIR DE MARACUYÁ  
(*Passiflora edulis flavicarpa*) Y CHOLUPA (*Passiflora maliformis* L.)”**



**CINDY KATHERINE BERNAL LÓPEZ  
DANIEL MAURICIO CASTRO CABRERA**



**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA  
NEIVA  
2014**

**“OBTENCIÓN DE BEBIDAS FERMENTADAS A PARTIR DE MARACUYÁ  
(*Passiflora edulissims*) Y CHOLUPA (*Passiflora maliformis L.*)”**

**CINDY KATHERINE BERNAL LÓPEZ  
DANIEL MAURICIO CASTRO CABRERA**

Trabajo de Grado presentado como requisito para optar al título de:  
**INGENIERO AGRÍCOLA**

**Director  
CLAUDIA MILENA AMOROCHO CRUZ  
Ingeniero Agrícola  
PhD Biotecnología**

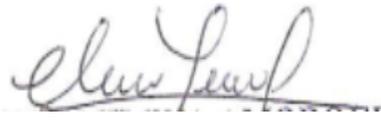
**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA  
FACULTAD DE INGENIERÍA  
PROGRAMA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA  
NEIVA  
2014**

**Nota de aceptación:**

---

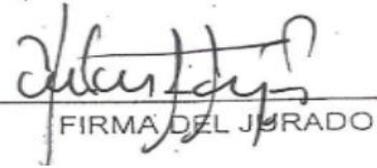
APROBATORIA

---



---

**Firma del Director del Proyecto**



FIRMA DEL JURADO

---

**Firma del Jurado**



FIRMA DEL JURADO

---

**Firma del Jurado**

**Neiva, Agosto de 2014**

## AGRADECIMIENTOS

Los Autores expresan sus agradecimientos a:

**CLAUDIA MILENA AMOROCHO CRUZ**, Ingeniera Agrícola, PhD. del Departamento de Biotecnología, Área de Microbiología de la Escuela Superior de Ingeniería Agronómica y del Medio Natural, Universidad Politécnica de Valencia. Profesor de planta de la Facultad de Ingeniería, Área de Agroindustria del programa de Ingeniería Agrícola. Universidad Surcolombiana y Directora del proyecto, por la orientación y constante ayuda, dedicación, enseñanzas, paciencia, aporte intelectual y fe en nuestro proyecto.

**NELSON GUTIÉRREZ GUZMÁN**, Ingeniero Agrícola, PhD en Tecnología de alimentos. Profesor de planta de la Facultad de Ingeniería, Área de Agroindustria del programa de Ingeniería Agrícola. Universidad Surcolombiana. Asesor del proyecto, por su apoyo y guía.

**NÉSTOR ENRIQUE CERQUERA PEÑA**, Ingeniero Agrícola, Magister en Ingeniería Agrícola, Profesor de planta de la Facultad de Ingeniería, Área de Agroindustria del programa de Ingeniería Agrícola. Universidad Surcolombiana. Asesor del proyecto, por su colaboración y orientación durante la realización de este proyecto.

**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA** y Docentes del programa de Ingeniería Agrícola, por sus valiosos conocimientos a lo largo de estos años, por formarnos como profesionales íntegros.

**GLADYS QUINO**, Secretaria del Programa de Ingeniería Agrícola, Universidad Surcolombiana, nuestra guía y mamá de los Ingenieros Agrícolas, por su colaboración, apoyo y palabras de ánimo durante todos estos años de carrera.

**JENNIFER CASTRO**, auxiliar del laboratorio de Procesos Agroindustriales y **ERIKA GARZÓN**, auxiliar del laboratorio de Química de la Universidad Surcolombiana y **YANETH RUIZ**, por su cordialidad y colaboración al facilitarnos los materiales y equipos de laboratorio, además de su ayuda para resolver algunas dudas.

A todos nuestros amigos, compañeros y profesores que nos brindaron su respaldo y de quienes aprendimos cada día.

## DEDICATORIA

*A través de los años luché constantemente por no desanimarme y poder culminar esta meta, fue difícil y largo, pero también único y feliz, en muchos momentos creí que estaba en el lugar equivocado y que no iba a poder con la carrera, considerándola mi “Everest” y para mi es de gran orgullo haber alcanzado la cima, y compartir este momento con todas aquellas personas que me apoyaron en este largo proceso, así que a todos ellos les dedico este proyecto por su amor, comprensión y amistad.*

*Primero que todo a mis padres Omar Bernal y Martha López, por su respaldo y patrocinio, por sus consejos, palabras de ánimo, por siempre apoyarme y no juzgar mis acciones, sin ellos nada esto sería posible.*

*A mí querida nona Eva, la mujer más fuerte y noble que jamás he conocido, quien me acompañó todos estos años en oraciones, consejos y buenos deseos, ella gozó mis triunfos y sufrió mis angustias, esto es para ti nonita.*

*Al amor de mi vida y futuro padre de mis hijos Mauricio Perdomo, pieza fundamental en la culminación de esta meta, él con su amor, apoyo y comprensión me impulsó y me impulsa cada día a ser mejor, gracias amor mío por creer siempre en mí, por orientarme cuando me invadían las dudas y tener fe en mis capacidades incluso cuando yo no la tenía.*

*Te Amo hoy y siempre mi Maito hermoso.*

*Dedico este logro también, a Dios, por mantenerme sana y fuerte en los momentos difíciles.*

*A mis hermanos Jorge y Omar, a mi tía Nina, Juana y Marisol, por creer siempre en mí, a mi familia del llano Yhinjak, Sammy y Michell, las quiero mucho y gracias por quererme y apoyarme tanto; a mis primos y a todo el resto de mi familia, se alegren o no esto también es para ustedes.*

*A mi compañero de tesis y gran amigo, Daniel Castro, no pude tener un mejor compañero, gracias amigo por tu paciencia y aporte intelectual en este proyecto, Te quiero.*

*A mis amigos de toda la vida universitaria que recorrieron junto a mí este largo camino, Vicky Pérez, Angela Ramos, Jhon Puentes, Mayra Soto, Sergio Sánchez, Cristian Manrique, Rocío Vargas, gracias por su amistad, por cada risa, lagrima, práctica y momento especial que compartimos. Los quiero amigos.*

*A la profe Claudia Amorocho, por tenernos tanta paciencia y creer profundamente en el proyecto y en nosotros. A doña Gladys Quino, mamá de todos los Agrícolas de la USCO, gracias por sus consejos y por sus palabras de ánimo, por ser testigo de mí cambio y alegrarse de mis logros.*

***“Nunca es demasiado tarde para ser la persona que podrías haber sido”- George Eliot***

**CINDY KATHERINE BERNAL LÓPEZ**

## TABLA DE CONTENIDO

	<b>Pág.</b>
RESUMEN _____	19
ABSTRACT _____	22
INTRODUCCIÓN _____	25
1 OBJETIVOS _____	27
1.1 OBJETIVO GENERAL _____	27
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS _____	27
2. MARCO CONCEPTUAL _____	28
2.1 EL CULTIVO DE MARACUYÁ ( <i>Passiflora edulis flavicarpa</i> ) _____	28
2.1.1 Origen y Botánica _____	28
2.1.2 Características morfológicas del fruto de maracuyá _____	29
2.1.2.1 Morfología _____	29
2.1.2.2 Características físico-químicas y nutricionales _____	30
2.1.3 Mercado _____	31
2.1.4 Residuos generados del procesamiento del maracuyá _____	31
2.1.4.1 Cáscara de Maracuyá _____	32
2.2 EL CULTIVO DE CHOLUPA ( <i>Passiflora maliformis</i> L) _____	33
2.2.1 Origen y Botánica _____	34
2.2.2 Características del fruto de cholupa _____	34
2.2.2.1 Morfología _____	34
2.2.2.2 Características físico-químicas y nutricionales _____	35
2.2.3 Mercado _____	35
2.2.4 Residuos generados del procesamiento de la Cholupa. _____	36
2.3 PROCESAMIENTO DE FRUTAS _____	36
2.3.1 Escaldado _____	36
2.3.2 Despulpado _____	37
2.4 BEBIDAS FERMENTADAS. _____	37
2.4.1 Clasificación de las bebidas alcohólicas _____	38
2.5 VINO DE FRUTAS _____	38
2.5.1 Composición Química _____	39
2.5.2 Fermentación _____	39
2.5.2.1 Chaptalización _____	41
2.5.3 Factores que influyen en el proceso fermentativo _____	41
2.6 ANÁLISIS SENSORIAL _____	45
2.6.2 Pruebas Afectivas _____	46
2.6.2.1 Prueba de Medición del grado de satisfacción _____	46

2.6.2.2. Escalas Hedónicas verbales _____	46
2.6.3 Juez Consumidor _____	46
2.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO _____	47
2.7.1 Crecimiento Microbiano _____	48
2.7.1.1 Curva de Crecimiento _____	48
2.7.1.2 Recuento de células viables _____	50
2.7.1.3 Turbidez _____	51
3. MATERIALES Y MÉTODOS _____	52
3.1 Caracterización de la materia prima _____	52
3.2 Preparación de bebidas fermentadas de Maracuyá y Cholupa _____	52
3.3 Determinación de las características químicas _____	56
3.4 Análisis microbiológicos _____	59
3.4.1 Preparación de medios de cultivo _____	59
3.4.2 Siembra de Levaduras ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) _____	60
3.4.3 Identificación _____	60
3.5 Destilación del Alcohol _____	62
3.5.1 Determinación de la densidad del Alcohol _____	62
3.5.2 Determinación del grado de Alcohol _____	63
3.6 Evaluación Sensorial _____	63
3.7 Análisis Estadístico _____	64
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____	65
4.1 Caracterización materia prima _____	65
4.2 Tratamientos _____	66
4.3 Caracterización química durante el proceso fermentativo _____	66
4.3.1 Sólidos Solubles (°Brix) _____	66
4.3.2 pH _____	70
4.3.3 Acidez Total _____	72
4.4 Crecimiento microbiano _____	75
4.4.1 Descripción morfológica de levaduras en placa. _____	80
4.4.2 Tinción de Gram _____	81
4.5 Destilación _____	81
4.5.1 Densidad del Alcohol _____	82
4.5.2 Grado de Alcohol _____	83
4.6 Análisis sensorial _____	83
4.7 Rendimientos y Costos de producción _____	86
5. CONCLUSIONES _____	88
6. RECOMENDACIONES _____	90
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS _____	92
ANEXOS _____	92

## ANEXOS

	<b>Pág.</b>
ANEXO A. Determinación de la Acidez Titulable _____	105
ANEXO B. Medios de cultivo utilizados _____	106
ANEXO C. Tinción de Gram _____	107
ANEXO D. Extracción Soxhlet _____	108
ANEXO E. Guía utilizada para la determinación densidad del alcohol. Método del picnómetro (Atarés, UPV) _____	109
ANEXO F. Determinación del grado de alcohol Formula de Gay Lussac. _____	110
ANEXO G. Etiquetas y fotos del Vino de Maracuyá _____	111
ANEXO H. Continuación Vino de Cholupa _____	112
ANEXO I. Formato para el análisis sensorial a nivel de consumidor para Maracuyá y Cholupa _____	113
ANEXO J. Tablas de conteo en placa y absorbancia para maracuyá y cholupa. _____	114
ANEXO K. Resultados obtenidos del programa estadístico Statgraphic prueba sensorial. _____	115
ANEXO L. Resultados obtenidos del programa estadístico Statgraphic evaluación de parámetros. _____	118
ANEXO M. Costos netos Producción _____	136

## LISTA DE TABLAS

	<b>Pág.</b>
Tabla 1. Valor nutritivo de 100 gramos de jugo de maracuyá amarillo-----	30
Tabla 2. Productores mundiales de maracuyá amarillo-----	31
Tabla 3. Contenido químico de 100 gramos (parte comestible) de cholupa-----	35
Tabla 4. Requisitos específicos de los vinos de frutas (NTC 708)-----	38
Tabla 5. Caracterización de la pulpa de maracuyá y cholupa -----	65
Tabla 6. Proporciones de los tratamientos utilizados para 2.5 litros de mosto. -----	66
Tabla 7. Variacion de los solidos solubles en Maracuyá durante el tiempo de fermentación -----	67
Tabla 8. Variacion de los solidos solubles en Cholupa durante el tiempo de fermentación	67
Tabla 9. Variación de pH en los tratamientos de Maracuyá.-----	70
Tabla 10. Variación de pH en tratamientos de Cholupa-----	71
Tabla 11. Variación de la Acidez titulable en tratamientos de Maracuyá.-----	73
Tabla 12. Variación de Acidez titulable en tratamientos de Cholupa. -----	73
Tabla 13. Volumen obtenido en la destilación. -----	81
Tabla 14. Densidad del Alcohol -----	82
Tabla 15. Grados alcohólicos-----	83
Tabla 16. Rendimientos del vino de las frutas utilizadas. -----	86
Tabla 17. Costo neto por botella/tratamiento-----	86
Tabla 18. Costos totales de producción de vinos de maracuyá y cholupa -----	87

## LISTA DE FIGURAS

	Pág.
FIGURA 1. Morfología del Maracuyá-----	29
FIGURA 2. Morfología del Cholupa-----	22
FIGURA 3. Curva de crecimiento típica de una población bacteriana (Madigan et al., 2009). ---	37
FIGURA 4. Dos métodos para una determinación de células viables (Madigan et al. 2009). ----	38
FIGURA 5. Determinación de células viables por diluciones seriadas y vertimiento en placa (Madigan et al. 2009). -----	51
FIGURA 6. Diagrama de flujo del proceso de fabricación de las bebidas fermentadas. ---	41
FIGURA 7. Despulpado -----	42
FIGURA 8. Montajes de bebidas fermentadas de Maracuyá (arriba) y Cholupa (abajo).--	43
FIGURA 9. Separación del vino y el sedimento -----	44
FIGURA 10. Envasado-----	44
FIGURA 11. Medición de °Brix con refractómetro digital. -----	45
FIGURA 12. Medición del pH con el Potenciómetro -----	45
FIGURA 13. Determinación de acidez.-----	46
FIGURA 14. Medición de la absorbancia con el espectrofotómetro. -----	47
FIGURA 15. Diluciones seriadas-----	48
FIGURA 16. Siembra de levaduras -----	48
FIGURA 17. Extensión -----	49
FIGURA 18. Fijación-----	49
FIGURA 19. Tinción. -----	49
FIGURA 20. Observación. -----	49
FIGURA 21. Destilación con el Soxhlet.-----	50
FIGURA 22. Determinación de la densidad con el picnómetro. -----	51
FIGURA 23. Prueba hedónica.-----	52
FIGURA 24. Variación de los Sólidos solubles (°Brix) en los tratamientos de maracuyá .57	57
FIGURA 25. Variación de los sólidos solubles (°Brix) en los tratamientos de cholupa ----	57
FIGURA 26. Variación de pH en tratamientos de Maracuya durante la fermentación. ----	59
FIGURA 27. Variación del pH en tratamientos de Cholupa durante la fermentación -----	60
FIGURA 28. Cambio de acidez titulable en tratamientos de maracuya-----	62
FIGURA 29. Cambio de acidez titulable en tratamientos de cholupa -----	62
FIGURA 30. Curva de crecimiento de levaduras y densidad óptica en tratamiento 1 de Maracuya -----	63
FIGURA 31. Curva de crecimiento de levaduras y densidad óptica en tratamiento 1 de Cholupa-----	64
FIGURA 32. Curva de crecimiento de levaduras y densidad óptica en tratamiento 2 de maracuya -----	65
FIGURA 33. Curva de crecimiento de levaduras y densidad óptica en tratamiento 2 de Cholupa. -----	66

FIGURA 34. Curva de crecimiento de levaduras y densidad optica en tratamiento 3 de maracuya -----	67
FIGURA 35. Curva de crecimiento de levaduras y densidad optica en tratamiento3 de Cholupa-----	67
FIGURA 36. Crecimiento de levaduras Fleischman aisladas de bebidas fermentadas de Maracuya y Cholupa en agar YGC. -----	68
FIGURA 37. Tincion de levaduras -----	69
FIGURA 38. Prueba sensorial de las bebidas fermentadas de maracuya -----	72
FIGURA 39. Decision de compra de las bebidas de Maracuya según los jueces-----	72
FIGURA 40. Prueba sensorial de las bebidas fermentadas de cholupa -----	73
FIGURA 41. Decision de compra de las bebidas de cholupa según los jueces -----	73

## RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la producción de bebidas fermentadas de maracuyá (*Passiflora edulis Sims*) y cholupa (*Passiflora maliformis*) en tres tratamientos distintos mediante el proceso de fermentación con levadura *Saccharomyces cerevisiae* (marca fleischmann). El primer tratamiento fue de mosto de pulpa, T1, el segundo tratamiento mosto de cáscara, T2, y el tercer tratamiento una mezcla entre cáscara y pulpa en proporciones 50-50, T3, cada uno de los tratamientos con tres repeticiones.

La fermentación se llevó a cabo por 30 días durante los cuales se evaluó, parámetros fisicoquímicos como; Sólidos solubles (°Brix); pH y la acidez en porcentaje de ácido cítrico. Para los análisis microbiológicos se realizaron diluciones seriadas y siembra a profundidad para el conteo en placa de levaduras, midiendo además la turbidez (absorbancia) con una longitud de onda de 620 nm.

El volumen se determinó por medio de destilación y el grado de alcohol de las bebidas, por medio de la fórmula Gay-Lussac. Finalmente se realizó una prueba sensorial a 30 jueces consumidores no entrenados con el fin de medir el nivel de aceptación de las bebidas.

En el comportamiento de la cáscara de maracuyá y cholupa durante la fermentación se observó que el volumen y el grado de alcohol obtenido fueron ligeramente mayores en los tratamientos que la contenían comparados con el que no. Indicador caso del maracuyá 74 ml (10° de alcohol) T1; 80 ml (11°) T2 y 76 ml (11°) T3. En los tratamientos de Cholupa los valores obtenidos fueron de 80 ml (11°) T1; T2 con 95 ml (13°) y 110 ml (15°) T3; estadísticamente la prueba sensorial realizada no se encontraron diferencias la aceptación de las muestras para ninguna de las dos frutas.

Los valores promedios de sólidos solubles obtenidos en maracuyá fueron  $8.43 \pm 0.21$  tratamiento 1,  $5.5 \pm 0.44$  tratamiento 2 y  $7.5 \pm 0.36$  tratamiento 3. En el caso de la cholupa se obtuvo  $6.93 \pm 0.35$  T1,  $1.33 \pm 0.15$  T2 y  $4.47 \pm 0.31$  T3. Las lecturas promedio finales de pH en maracuyá  $3.20 \pm 0.03$  T1,  $3.71 \pm 0.09$  T2 y  $3.39 \pm 0.02$  T3, en cholupa se obtuvo  $3.09 \pm 0.02$  T1,  $3.66 \pm 0.05$  T2 y  $3.24 \pm 0.03$  T3; y en la variable acidez se obtuvo valores promedios en maracuyá  $2.26 \pm 0.09\%$  T1,  $0.32 \pm 0.04\%$  T2 y  $1.36 \pm 0.20\%$  T3 y en cholupa  $1.66 \pm 0.07\%$  T1,  $0.38 \pm 0.06\%$  T2 y  $1.10 \pm 0.17\%$  T3.

Por lo definido anteriormente los mostos de pulpa de maracuyá y cholupa son los más recomendados para fabricar este tipo de bebidas. En posteriores investigaciones se puede plantear diferentes tiempos de fermentación, cantidad de levadura, y evaluar la composición de las cáscaras con el fin de identificar cual es el tratamiento más apropiado para la elaboración de bebidas fermentadas. Adicional al estudio se recomienda profundizar en las cáscaras de estas pasifloras debido a su alto volumen de alcohol obtenido para la producción de etanol.

**Palabras claves:** *Saccharomyces cerevisiae*, mosto, fermentación, propiedades fisicoquímicas.

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the production of passion fruit (*Passiflora edulissims*) and cholupa (*Passiflora maliformis*) wines, in three different treatments by fermentation process with yeast *Saccharomyces cerevisiae* (Fleischmann brand). The first treatment was pulp must, T1, the second treatment was peel must, T2, and the third treatment a mixture of peel and pulp at levels 50-50, T3, each of the treatments with three replicates.

The fermentation was carried out for 30 days during which is evaluated as physicochemical parameters like; Soluble solids (°Brix); pH and acidity percentage of citric acid. For microbiologists analysis was performed serial dilutions and planting depth for the plate count of yeasts, additionally measuring the turbidity (absorbance) at a wavelength of 620 nm.

Other parameters measured were the volume and alcohol content of the beverage, the first was carried out by performing distillation and the second using the formula for Gay-Lussac degrees of alcohol. In addition, a sensory test was performed at 30 untrained judges consumers to measure the level of acceptance of the drinks.

As relevant results behavior had passion fruit peel and cholupa during fermentation, because the volume and alcohol content obtained was higher in treatments containing shell compared to those without, for the case of passion fruit was 74 ml (10° alcohol) for treatment 1; 80 ml (11°) in treatment 2 and 76 ml (11°) in treatment 3. Cholupa treatments in the values were of 80 ml (11 °) for T1; T2 with 95 ml (13°) and 110 ml (15°) for the T3. The °Brix values obtained in the treatments were 8.43 ± 0.21 passionfruit for T1; T2, 5.5 ± 0.44 and T3, 7.5 ± 0.36. For the cholupa was obtained 6.93 ± 0.35 (T1), 1.33 ± 0.15 (T2) and 4.47 ± 0.31 (T3). The final pH readings were passion fruit, 3.20 ± 0.03 (T1), 3.71 ± 0.09 (T2) and 3.39 ± 0.02 (T3) for cholupa 3.09 ± 0.02 was obtained for T1, 3.66 ± 0.05 for T2 and 3.24 ± 0.03 for T3. Varying acidity to the values obtained in the treatments were 2.26 ± 0.09 passionfruit (T1), 0.32 ± 0.04 (T2) and 1.36 ± 0.20 (T3) in the treatments cholupa were 1.66 ± 0.07 results (T1), 0.38 ± 0.06 (T2) and 1.10 ± 0.17 (T3).

The statistical analysis of the characteristics evaluated showed that the pH values of passion fruit treatments showed statistically significant differences between day 0 and the other day for three treatments (P = 0.05). For treatments cholupa found that there are differences between day 0 and the other days (P = 0.05) in treatments 2 and 3, and in treatments 1 and 3 there are differences between day 28 and the other days (P = 0.05).

For the ° Brix was observed in T1 and T3 for passionfruit for and for cholupa in T2 and T3, were statistically significant differences between day 0 and the other days (P=0,05), other days had similar behaviors.

The acidity was more varied behavior, which was less significant difference in treatments was passionfruit T2 had differences between day 0 and the other days also between days 4 and 7. In cholupa treatments, in T1 and T2 were differences on days 0 and 4 and in treatment 3 significant variations between days 0-15, 0-28 and 4-10 were had.

According to the sensory test made no statistically significant difference in the uptake differed between the samples for both the cholupa passion fruit to be had, but to observe the intent of buying it can be said that the two fruits, T1 was awakened interest and good reviews on judges.

So we can say that the musts pulp are the most recommended for making such beverages, making some improvements such as reduced fermentation time and the amount of yeast, and shells can be studied for the production of ethanol, due to high volume of alcohol obtained with these musts.

**Key words:** *Saccharomyces cerevisiae*, must, fermentation, physicochemical properties

## INTRODUCCIÓN

En la industria de procesamiento de frutas el descarte de los residuos vegetales representa un creciente problema debido al aumento de la producción, el cual da como resultado innumerables toneladas anuales (Schieber *et al.*, 2001). Entre los residuos orgánicos de mayor importancia y relevancia en el área hortofrutícola se encuentran las cáscaras, las semillas, las pulpas y vegetales que no cumplen con los estándares de calidad (Vélez *et al.* 2009); dichos desechos contienen varios componentes como pectinas, celulosas y hemicelulosas que pueden ser implementadas en la industria alimentaria o farmacéutica (Calvo 2009).

El maracuyá amarillo (*Passiflora edulissim*) y la cholupa (*Passiflora maliformis L.*) son frutas de clima tropical muy apreciadas por la calidad de su jugo; el departamento del Huila se destaca por ser uno de los principales productores de estas dos pasifloras en el país, con una producción de 19.000 toneladas/ año de maracuyá y 1072 toneladas/año de cholupa, la cual se destina en su mayoría al consumo en fresco (Gobernación del Huila, 2011).

El porcentaje de residuos para el maracuyá y la cholupa, se derivan del peso total de la fruta el cual está distribuido aproximadamente en un 40% de pulpa con semilla y 60% cáscara (CasaLuker, 2010).

La preparación de vinos de fruta es una práctica desarrollada a nivel artesanal en el país, pero que en el ámbito internacional va en aumento a nivel industrial en búsqueda de innovación. Para la elaboración de estas bebidas se ha utilizado con mayor frecuencia la uva, mora, manzana, papa, alcanzando niveles elevados de consumo, sin embargo, las investigaciones evidencian que los consumidores están prestos a experimentar nuevos y exóticos sabores, lo que se alcanza con la mezcla de frutas no tan utilizadas en estos procesos (Arias & Lastra, 2008).

Los vinos de frutas son una alternativa viable para el desarrollo agroindustrial, ya que dan un valor añadido a la fruta, y abren un nuevo mercado aumentando los beneficios económicos. Además, la elaboración de vinos a partir de jugos de frutas garantiza la estabilidad del producto a temperatura ambiente reduciendo costes (Cassano *et al.*, 2003).

Investigaciones realizadas muestran el uso de frutas tropicales como naranja, papaya y sandía, en la fabricación de bebidas fermentadas, uno de estos estudios es el desarrollado por Bedoya *et al.* (2005) en donde analizan el comportamiento de la fermentación de naranja dulce (*Citrus sinensis Osbeck*), evaluando tres concentraciones distintas de °Brix

(16, 20 y 25) y dos cepas de levadura *Saccharomyces cerevisiae*, teniendo como resultado que el vino con 25 °Brix de valor inicial, tuvo mayor aceptabilidad puesto que presento las mejores características organolépticas.

Por otro lado, Aguilar y Hernández (2006) identificaron y valoraron las características favorables de la naranja, la papaya, la sandía, la manzana y la pera para la fabricación de vinos, adicionando nutrientes y azúcares para hacer más agradable la bebida, teniendo como resultado que el vino de manzana fue el que presentó mayor aceptación, pero que en general todos tuvieron una calificación aceptable. Estos estudios demuestran que se han desarrollado investigaciones con algunas frutas y aun no se ha trabajado con pasifloras en la elaboración de este tipo de bebidas.

El objetivo del presente estudio fue evaluar variables fisicoquímicas y microbiológicas que influyen en el proceso fermentativo de dos tipos de bebidas fermentadas a base de maracuyá y cholupa, ya que es una alternativa poco estudiada en el departamento del Huila y en la Universidad Surcolombiana, además se tiene un enfoque ambiental al considerar la utilización de subproductos como las cáscaras de las pasifloras, brindando así opciones para el manejo de estos residuos.

# 1 OBJETIVOS

## 1.1 OBJETIVO GENERAL

Elaborar bebidas fermentadas a base de maracuyá y cholupa y determinar sus principales características físico-químicas y microbiológicas, evaluando además su aceptación sensorial.

## 1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Evaluar las variaciones de pH, °Brix, Acidez y Absorbancia de cada tratamiento en condiciones de laboratorio.
- ❖ Evaluar el crecimiento microbiano de *S. cerevisiae* durante el proceso de fermentación en los tratamientos propuestos.
- ❖ Realizar una prueba sensorial de aceptación de las bebidas fermentadas de maracuyá y cholupa.

## 2. MARCO CONCEPTUAL

### 2.1 EL CULTIVO DE MARACUYÁ (*Passiflora edulis flavicarpa*)

El maracuyá es una fruta tropical de una planta que crece en forma de enredadera y que pertenece a la familia de las *Passifloras*, de la que se conoce más de 400 variedades.

Presenta dos variedades o formas diferentes: la púrpura o morada (*Passiflora edulis Sims.*) y la amarilla (*Passiflora edulis flavicarpa*). La primera, principalmente, se consume en fresco y prospera en lugares semi cálidos y a mayor altura sobre el nivel del mar, en tanto que la segunda crece en climas cálidos, desde el nivel del mar hasta 1000 metros de altitud y es más apreciada por la industria gracias a su mayor acidez.

Su jugo es ácido y aromático; se obtiene del arilo, tejido que rodea a la semilla, y es una excelente fuente de vitamina A, niacina, riboflavina y ácido ascórbico (Gerencia Regional Agraria, 2009-2010).

#### 2.1.1 Origen y Botánica

Esta planta es originaria de la región amazónica del Brasil, de donde fue difundida a Australia, pasando luego a Hawai en 1923. En la actualidad se cultiva en Australia, Nueva Guinea, Sri Lanka, Sud-Africa, India, Taiwan, Hawai, Brasil, Perú, Ecuador, Venezuela y Colombia.

El maracuyá pertenece a la misma familia (*Passifloraceae*) de la Curuba (*P. Mollissima*), de la badea (*P. Quadrangularis*), y de la granadilla (*P. Ligularis*), a las que se parece en su hábito vegetativo y flor. Sus frutos presentan un sabor particular intenso y una alta acidez, muy apreciado en los países norteamericanos, europeos y asiáticos que lo demandan con gran interés. El maracuyá tiene una gran importancia por las cualidades gustativas de sus frutos y por las cualidades fármaco-dinámicas y alimenticias de su jugo, cáscara y semillas (Fundación Eroski, 2010).

## 2.1.2 Características morfológicas del fruto de maracuyá

### 2.1.2.1 Morfología

El fruto es una baya, de forma globosa u ovoide, con un diámetro de 0.04 – 0.08 m y de 0.06 – 0.08 m de largo, la base y el ápice son redondeados, la corteza es de color amarillo, de consistencia dura, lisa y cerosa, de unos 0.003 m de espesor; el pericarpio es grueso, contiene de 200-300 semillas, cada una rodeada de un arilo (membrana mucilaginosa) que contiene un jugo aromático en el cual se encuentran las vitaminas y otros nutrientes (García, 2002).

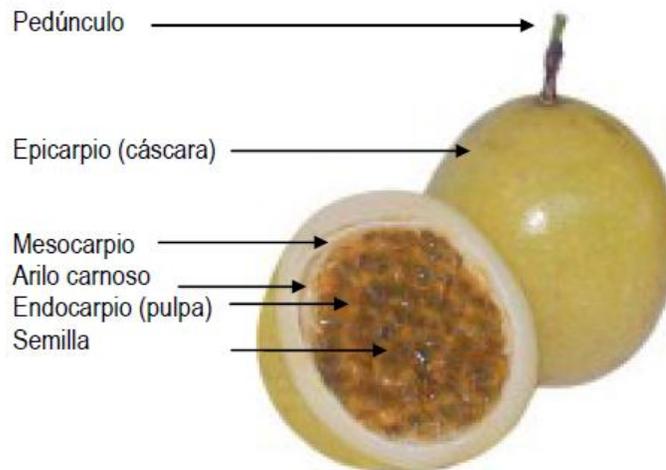
El fruto consta de 3 partes (Figura 1):

\*Exocarpio o Epicarpio: Es la cáscara o corteza del fruto, es liso y está recubierto de cera natural que le da brillo. El color varía desde el verde al amarillo cuando está maduro.

\*Mesocarpio: Parte blanda porosa y blanca, formada principalmente por pectina, tiene grosor aproximadamente de 6 mm que, al contacto con el agua, se reblandece con facilidad.

\*Endocarpio: Es la envoltura (saco o arilo) que cubre las semillas de color pardo oscuro. Contiene el jugo de color amarillo opaco, bastante ácido, muy aromático y de sabor agradable (García, 2002).

**Figura 1.** Morfología del Maracuyá



Fuente: Gerencia Regional Agraria La Libertad-Perú, 2010

### 2.1.2.2 Características físico-químicas y nutricionales

El agua es su principal componente. Contiene una alta cantidad de hidratos de carbono por lo que su valor calórico es muy elevado. Cabe destacar su contenido de provitamina A, vitamina C y respecto a los minerales, su aporte de potasio, fósforo y magnesio (Tabla 1).

La variedad amarilla es más rica en minerales y en provitamina A que la variedad morada. Además, contiene una cantidad elevada de fibra, que mejora el tránsito intestinal y reduce el riesgo de ciertas alteraciones y enfermedades (Erazo, 2010).

La composición general de la fruta de maracuyá es la siguiente: cáscara 50-60%, jugo 30-40%, semilla 10-15%, siendo el jugo el producto de mayor importancia. En el caso de la diabetes, dificulta la absorción de carbohidratos, como la glucosa (Gerencia Regional Agraria, 2009-2010). Según Ramos *et al.*, 2004, la harina de cáscara de maracuyá controla los niveles de colesterol en mujeres de entre 30 y 60 años. La cáscara del maracuyá, es rica en pectina que es una fracción de fibra soluble.

**Tabla 1.** Valor nutritivo de 100gramos de jugo de maracuyá amarillo

<b>ESTRUCTURA</b>	<b>CANTIDAD</b>	
<b>Calorías</b>	Kal	53
<b>Proteínas</b>	gr.	0,67
<b>Grasa</b>	gr.	0,1
<b>Carbohidratos</b>	gr.	13,72
<b>Fibra</b>	gr.	0,17
<b>Cenizas</b>	gr.	0,49
<b>Calcio</b>	mg	3,8
<b>Fosforo</b>	mg	24,6
<b>Hierro</b>	mg	0,36
<b>Vitamina A</b>	mg	2410
<b>Niacina</b>	mg	2,2
<b>Acidez (como ácido ascórbico)</b>	mg	20,0

Fuente: Knight, Jr. (2010)

### 2.1.3 Mercado

En el mercado de las frutas, Colombia se encuentra dentro de los tres primeros productores y exportadores de Maracuyá de Suramérica, teniendo en cuenta además que la región sudamericana provee el 90% de la producción a nivel mundial según Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura (2005) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Productores mundiales de maracuyá amarillo

<b>Productores Mundiales de Maracuyá</b>	
<b>Brasil</b>	66%
<b>Ecuador</b>	12%
<b>Colombia</b>	11%
<b>Asia</b>	3%
<b>Perú</b>	2%
<b>Otros</b>	6%

Fuente: Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura (2005)

El maracuyá se consume en todas las ciudades del país, en el 2011 existían en el país 5.321 hectáreas destinadas al cultivo de maracuyá con una producción total de 79.458 toneladas. El 23,2% de las áreas sembradas se encontraban en el Huila, el 14,3% en el Meta, el 12% en Valle del Cauca y el 9,8% en Córdoba, entre otros.

El producto del Valle del Cauca suele ser considerado por los consumidores, de mejor calidad por su sabor, color uniforme, rendimiento y ausencia de manchas, razones por las cuales tiene mayores precios, en comparación con otras zonas productoras de Colombia (Salinas, 2010).

### 2.1.4 Residuos generados del procesamiento del maracuyá

Investigaciones realizadas por Bello, 2011, afirman que la utilización de la maracuyá en la industria alimenticia es variada y altamente requerida por el consumidor, está presente en forma de jugos, zumos, jaleas, mermeladas, dulces, postres, entre otros. Esto es debido a su alta extensión en cultivo en las zonas de clima tropical del país, además que es transportada a todas las centrales de abasto en el país.

Pero en los productos que se elaboran a partir del maracuyá, solo se utiliza su pulpa, que equivale a aproximadamente del 30 al 50% del peso total de la fruta, esto quiere decir que

las cáscaras se encuentran en un mayor proporción, de un 50 a un 70% del peso total (López y Velez, 2013). Según Oliveira *et al.*, 2002, el uso de las semillas y cáscaras de maracuyá en la fabricación de alimentos con buen valor nutricional resulta viable, reduce costos y al mismo tiempo disminuye los problemas de eliminación de los subproductos.

Investigaciones realizadas por Paiva 1998, demostraron que el uso de los residuos industriales del maracuyá (semillas y cáscara) en la alimentación de ganado condujo a un aumento en la producción de leche, incluyendo la inhibición de problemas digestivos.

Las semillas de maracuyá se consideran fuente de ácidos grasos esenciales que se pueden utilizar en la industria alimentaria y cosmética; el ácido linoleico ( $\omega$ -6) es uno de los ácidos grasos principales presentes en las semillas de maracuyá (aproximadamente 55-66%), seguido del ácido oleico (18-20%) y el ácido palmítico (10-14%) (Leonel *et al.* 2000).

#### **2.1.4.1 Cáscara de Maracuyá**

La cáscara de maracuyá, representa alrededor de un 60-70% de la fruta, y es considerada desecho, pero de este residuo es posible obtener una buena cantidad de residuos fibrosos, con los cuales se puede producir un alimento nutritivo que a su vez sea beneficioso para la salud.

Según Tacú 2004, la cáscara de maracuyá está compuesta de entre un 17-20% de materia seca, además tiene aproximadamente 6.78% de carbohidratos; con 32,5 % de fibra soluble y 49,4% de fibra insoluble. El estudio realizado por Rodríguez 2012, demuestra que la cáscara de maracuyá contiene aproximadamente 60% de fibra dietética ubicada en el mesocarpio. Este subproducto podría ser utilizado como un agente espesante reemplazando a la pectina y la goma xantano. Además de ser incluido directamente como ingrediente en la industria pastelera, o en la fabricación de néctares de frutas.

La corteza del maracuyá también es rica en niacina (vitamina B3), hierro, calcio y fósforo (Gondim *et al.* 2005); según Ramos 2004, la utilización de harina de cáscara de maracuyá en la dieta posee efecto en el control de la glicemia a corto plazo. Otro estudio muestra los beneficios de la harina a base de cáscara de maracuyá, con la adherencia de otros componentes como almidones, fibras, vitaminas, entre otros; el cual es un producto con propiedades analgésicas, espasmódicas, sedantes y tranquilizantes (Plaza N., *et al.* 2010). Sabaá-Srur y Junqueira, 2003, demostraron en animales el efecto de la harina de la cáscara de *P. edulis* en el control de la diabetes y la obesidad.

Además la cáscara de maracuyá, subproducto del procesamiento de los frutos para la obtención de pulpa, viene siendo utilizada en Brasil como suplemento alimenticio para ayudar en el control del colesterol y la obesidad. Antes considerada una basura industrial, hoy se ha tornado un producto de alto valor de comercialización, con mayor valor a la propia pulpa (Sandoval *et al.*, 2010).

## **2.2 EL CULTIVO DE CHOLUPA (*Passiflora maliformis L*)**

Dentro de la misma familia del maracuyá encontramos la Cholupa, fruta exótica, que ofrece también importantes beneficios para la salud, debido al alto contenido de vitaminas y minerales. La Cholupa es una planta que obtuvo su denominación de origen en el Departamento del Huila y es común encontrarla en el norte de los andes. Se conoce como granadilla de hueso, granadilla de piedra, calabacito de indio, juju, ceibey cimarrón o parcha cimarrona. Es una planta trepadora que inicia su producción a los 7 meses después de su establecimiento.

Su sabor es complejo, con acidez viva y con un post-gusto vibrante en el paladar. Su aroma es característico y extraordinario, persistente y atractivo. Su reconocimiento como producto agroalimentario es local y nacional, particularmente en la región andina. Es demandado en otras regiones de Colombia y en el exterior por el “mercado de nostalgia” (Gobernación del Huila, 2007).

El departamento del Huila es el principal productor comercial con el 100% de la producción nacional. Sin embargo, a pesar de los incrementos en la producción nacional de esta fruta se presenta un problema bastante importante, pues según el instituto de Ciencia y Tecnología de alimentos de la Universidad Nacional de Colombia, actualmente se calcula que las pérdidas en la cholupa debido principalmente a la poca variedad de canales de comercialización y a los inadecuados manejos de la fruta en época de post-cosecha superan el 30% de la producción.

Atendiendo esta problemática, la comercialización internacional de la cholupa como pulpa, es una opción para prolongar la vida útil del producto, aprovechando sus características nutricionales, y a la vez generando nuevas oportunidades de mercado y disminuyendo la considerable pérdida de la producción nacional (Córdoba, 2011).

### 2.2.1 Origen y Botánica

Es del genero *Passiflora* de la familia Passifloraceae. Es un bejuco o arbusto trepador de tallo glabro y voluble, ramificado cuando adquiere su mayor edad, se aferra mediante zarcillos caulínifolios, axilares, resultante de hojas profundamente modificadas. Sus raíces son fasciculadas. Sus hojas son alternas, pecioladas, sencillas lobuladas. Se esparcen a lo largo del tallo y ramas en forma alterna. La flor es de hermoso color violeta, hermafrodita y con el receptáculo considerablemente desarrollado (Gobernación del Huila, 2007).

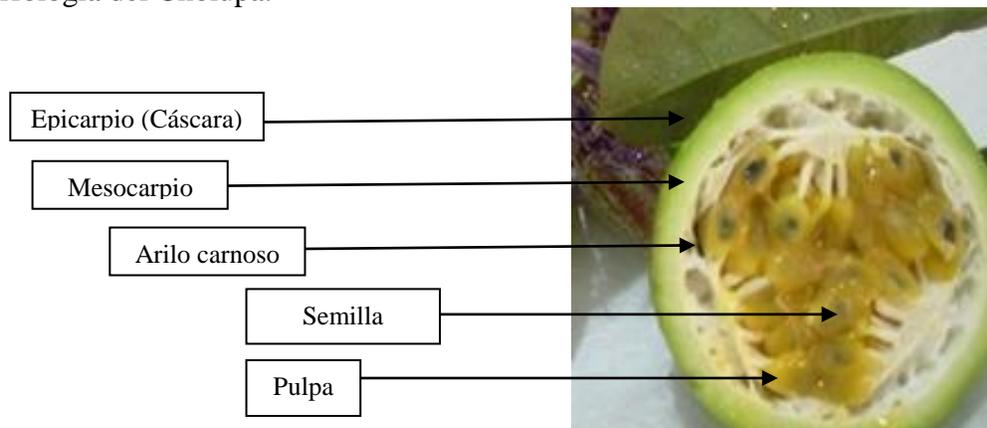
### 2.2.2 Características del fruto de cholupa

#### 2.2.2.1 Morfología

El fruto es de forma redonda, ovoide, con cáscara caríaca, de unos 5 a 9 centímetros de diámetro, y su peso oscila en 30 a 100 gramos, de color anaranjado, amarillo y matizado, el cual es dulce y comestible (Figura 2).

Los frutos pueden considerarse capsulares, en cuyo interior se localizan numerosas semillas, las cuales van envueltas en un mucílago viscoso y transparente el cual le da un sabor dulce o ácido. Los frutos son verdes y se tornan ligeramente amarillentos al llegar a su estado de máximo madurez, momento en el cual se desprenden de la planta listo para la cosecha o consumo, se recomienda que el fruto no caiga al suelo por que sufriría daños mecánicos que afectarían la calidad del mismo (Prieto y García, 2006).

**Figura 2.** Morfología del Cholupa.



### 2.2.2.2 Características físico-químicas y nutricionales

La pulpa es rica en minerales como el calcio, hierro y fósforo. Resulta muy adecuada para el tratamiento del colesterol y el perfecto estado de los nervios. Su bajo contenido en grasas la hace muy adecuada para dietas de adelgazamiento. Al igual que el resto de las partes de la planta, presenta propiedades tranquilizantes y desintoxicantes debido a su alto contenido en vitamina A que se convierte en Betacaroteno y riboflavinas. Todos estos elementos parecen otorgarle propiedades anticancerígenas. Contiene proteínas, grasas, carbohidratos, agua, fibra, tiamina, niacina, sodio, potasio, fósforo y hierro. Es laxante, ayuda al buen funcionamiento del intestino, combate el ácido úrico; es aconsejable consumirlo cuando hay infecciones de vejiga, próstata, hígado y vías urinarias, además baja la tensión (Gobernación del Huila, 2007). La tabla 3, muestra el contenido químico y nutricional de la pulpa de cholupa.

**Tabla 3.** Contenido químico de 100 gramos (parte comestible) de cholupa

<b>ESTRUCTURA</b>	<b>CANTIDAD</b>
<b>Humedad</b>	% m/m 80,6
<b>Grasa</b>	% m/m 0,0
<b>Fibra cruda</b>	% m/m 0,04
<b>Proteínas</b>	% m/m 0,9
<b>Cenizas</b>	% m/m 0,78
<b>Carbohidratos</b>	% m/m 17,7
<b>Vitamina C</b>	mg 10,74
<b>Kilocalorías</b>	16,6
<b>°Brix</b>	3,18
<b>pH</b>	3,0
<b>Acidez (como ácido cítrico)</b>	% 3,0

Fuente: Secretaría Agricultura del Huila. Acuerdo de productividad cadena frutícola, 2006

### 2.2.3 Mercado

La Cholupa es una importante oportunidad de negocios debido a su alta producción y a su poco conocimiento en tanto en el mercado nacional como internacional (Duran y Méndez, 2008).

El departamento del Huila es el principal productor comercial con el 100% de la producción nacional. En el Huila en el año 2012 según el anuario estadístico, se registró

una producción de 1112 toneladas de cholupa, siendo el municipio de Rivera el mayor productor con 637 toneladas (Gobernación del Huila, 2012).

El cultivo de cholupa es un activo rural, constituye patrimonio territorial que cobra realce por su distinción y reconocimiento, ya que este cultivo se adapta a las condiciones climáticas, edáficas del Huila y existen productores que tienen experiencia en su producción.

La oferta transable del producto se efectúa en un 95% en el territorio del departamento del Huila, con clara cultura de consumo en fresco. No existe para el renglón productivo desarrollos en la diferenciación y valor agregado en la producción. La producción de Cholupa es significativamente de economía campesina y de pequeños productores (Gobernación del Huila, 2007).

#### **2.2.4 Residuos generados del procesamiento de la Cholupa.**

Al ser una pasiflora al igual que el maracuyá, los residuos generados serían los mismos, es decir, la cáscara y las semillas. Estos desechos no han sido estudiados hasta el momento, para evaluar su potencial en la industria agroalimentaria.

### **2.3 PROCESAMIENTO DE FRUTAS**

#### **2.3.1 Escaldado**

Es un tratamiento térmico entre 70-90°C que dura varios minutos. Se realiza para ablandar un poco la fruta y con esto aumentar el rendimiento de la pulpa, además de la reducción de la carga microbiana que aún está presente en la fruta. También se realiza para inactivar enzimas que producen cambios indeseables de apariencia, color, aroma, y sabor en la pulpa, aunque pueda estar conservada bajo congelación (Camacho, 2002).

En la fábrica el escaldado se puede efectuar por inmersión de las frutas en una marmita con agua caliente, o por calentamiento con vapor vivo generado también en marmita, esta operación se puede realizar a presión atmosférica o a sobrepresión en una autoclave. Con el escaldado en agua caliente se pueden perder jugos y componentes nutricionales, al emplear bajo vapor puede ser más costoso y demorado pero hay menos pérdidas. Al usar autoclave el proceso es más rápido y costoso. En todos los casos se producen algunos cambios como la disminución significativa de la carga microbiana; el color se hace más vivo, el aroma y

sabor puede variar a un ligero cocido y la viscosidad de la pulpa puede aumentar (Camacho, 2002).

### **2.3.2 Despulpado**

Es la operación en la que se logra la separación de la pulpa de los demás residuos como las semillas, cáscaras y otros. El principio en que se basa es el de hacer pasar la pulpa-semilla a través de una malla. Esto se logra por el impulso que comunica a la masa pulpa-semilla, un conjunto de paletas (2 o 4) unidas a un eje que gira a velocidad fija o variable. La fuerza centrífuga de giro de las paletas lleva a la masa contra la malla y allí es arrastrada logrando que el fluido pase a través de los orificios la malla. Es el mismo efecto que se logra cuando se pasa por un colador una mezcla de pulpa-semilla que antes ha sido licuada. Aquí la malla es el colador y la paleta es la cuchara que repasa la pulpa-semilla contra la malla del colador. Durante el despulpado en este tipo de máquinas también se causa demasiada aireación de la pulpa, con los efectos negativos de oxidaciones, formación de espuma y favorecimiento del cambio de color y sabor en ciertas pulpas (Camacho, 2002).

## **2.4 BEBIDAS FERMENTADAS.**

La producción de bebidas fermentadas ha sido una actividad ligada a la mayoría de las culturas durante milenios. En forma empírica los humanos aprendimos a encauzar las fermentaciones alcohólicas de diversos sustratos. Debido a la gran importancia de estos productos, la investigación científica y tecnológica relacionada con estas bebidas ha concentrado grandes esfuerzos desde el siglo pasado. Esta industria es, dentro de las industrias biotecnológicas, la de mayor importancia económica en el mundo, y los avances en el conocimiento que se han generado en su seno, se han extrapolado a muchas aplicaciones de la biotecnología y la tecnología de alimentos a lo largo de más de siglo y medio (García *et al*, 2004). El hombre las ha consumido persistentemente por los efectos que estas le ocasionan. Las bebidas fermentadas se elaboran a partir de zumos de frutas fermentados durante un tiempo, alcanzando un determinado grado alcohólico. Para la elaboración de estas bebidas se ha utilizado con mayor frecuencia la uva, mora, manzana, papa, alcanzando niveles elevados de consumo, sin embargo, las investigaciones evidencian que los consumidores están prestos a experimentar nuevos sabores, lo que se ha alcanzado mediante la mezcla de frutas no tan utilizadas en estos procesos (Lastra & Arias, 2008).

### 2.4.1 Clasificación de las bebidas alcohólicas

Dentro de la clasificación de las bebidas alcohólicas se tienen las bebidas fermentadas, las cuales se obtienen al actuar sobre un mosto levaduras, las cuales transforman el azúcar en alcohol mediante un proceso de fermentación. Las bebidas más características son según Vincent *et al.* (2006):

- *Sidra, elaborada a partir de manzana* (3 a 9° de alcohol)
- *Cerveza, elaborada a partir de malta de cebada* (3 a 7° de alcohol)
- *Vino, elaborada a partir mosto de frutas, especialmente de uva* (7 a 20° de alcohol)
- *Vermuts y aperitivos vínicos, elaborado a partir de vino blanco de uva aromatizado* (16 a 17° de alcohol)

### 2.5 VINO DE FRUTAS

Según la Norma Colombiana NTC 708, define los vinos de frutas de la siguiente manera: “El vino de frutas es el producto obtenido por la fermentación alcohólica normal de mostos de frutas frescas y sanas o del mosto concentrado de las mismas, que ha sido sometido a las mismas prácticas de elaboración que los vinos de uva”. Según esta norma los vinos deben cumplir las especificaciones mostradas en la tabla 4:

**Tabla 4.** Requisitos específicos de los vinos de frutas (NTC 708)

Requisitos	Valores	
	Mínimo	Máxima
Contenido del alcohol en grados alcoholimétricos a 20°C	6	-
Acidez total expresada como ácido tartárico en g/dm <sup>3</sup> (libre de SO <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> y ácido sórbico)	3,5	10
Acidez volátil expresada como ácido acético en g/ dm <sup>3</sup> (libre de SO <sub>2</sub> , CO <sub>2</sub> y ácido sórbico)	-	1,2
Metanol en mg/ dm <sup>3</sup> de alcohol anhidro	-	1 000
Azúcares totales previa inversión expresados como glucosa, en g/dm <sup>3</sup>		
-Seco	0	15
-Semiseco	15,1	50
-Dulce	50,1	-
Extracto seco reducido en g/dm <sup>3</sup>	10,0	
Sulfatos expresados como sulfato de sodio, en g/dm <sup>3</sup>		2,0
Cloruros expresados como cloruro de sodio, en g/dm <sup>3</sup>		1,0
Anhídrido sulfuroso total en mg/dm <sup>3</sup>		350

**Tabla 4.** (Continuación)

Ácido sórbico o sus sales de sodio o potasio en mg/dm <sup>3</sup> , expresado como ácido sórbico	150
Hierro expresado como Fe en mg/dm <sup>3</sup>	8,0
Cobre expresado como Cu en mg/dm <sup>3</sup>	1,0
pH	2,8      4,0
Colorantes artificiales	negativo

Fuente: Norma Técnica Colombiana (NTC) 708.2008. Vino de frutas

Se entiende como vino exclusivamente al producto obtenido por fermentación del jugo uva. Es decir, que a pesar de que se pueden elaborar vinos de diversas frutas, estos deberán tener la asignación correspondiente a la materia prima de la cual fueron elaborados, y esta nomenclatura se ha adoptado en forma universal dada la gran importancia del producto alcohólico de la uva (García *et al.*, 2004).

Para la elección de las frutas, lo primero que exige la fabricación de vinos es que deben escogerse sanas y carnosas, antes de sazón para que conserven cierta consistencia principalmente las que son blandas y fundentes por naturaleza, si la fruta está muy madura se impregna de aguardiente afectando su sabor lo cual no resulta luego muy agradable al paladar. También se deben rechazar las frutas muy verdes y las que estén algo podridas, marchitas, agusanadas, etc., en una palabra, cuando presenten algún defecto. No todas las frutas son aptas para este objetivo, son preferibles las más sabrosas y perfumadas (Xandri, 1958).

### 2.5.1 Composición Química

En cuanto a la composición química de los vinos de fruta, se establece que varía entre límites altos; depende considerablemente de la especie de fruta, de los factores climáticos, de la fertilización, del origen, de la edad, del momento en que se cosechó y, finalmente, de la situación de la región. La mayoría de los zumos de fruta, suelen presentar un contenido de azúcar que oscila entre 50 y 150 gramos por litro. Además de glucosa y fructosa, la mayoría de las frutas suelen contener cierta cantidad de sacarosa. Los ácidos predominantes son: ácido málico y ácido cítrico. Otros componentes importantes presentes en estas bebidas son las vitaminas, especialmente la vitamina C, de efecto antiescórbitico, y la vitamina A. Cabe mencionar además entre sus componentes muchos y variados componentes responsables del olor y sabor de cada vino (Vogt, 1972).

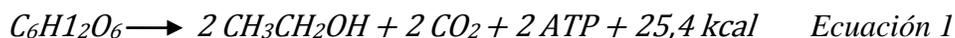
### 2.5.2 Fermentación

La fermentación alcohólica es una de las etapas principales que transforman el mosto o zumo azucarado, en un líquido con un determinado contenido de alcohol etílico, a través

de las levaduras en un ambiente anaerobio a temperatura de 20°C y se traduce por una disminución de la densidad del mosto.

En la fermentación alcohólica, el oxígeno necesario para oxidar carbono y obtener dióxido de carbono junto con etanol está contenido en la molécula de glucosa y esta conversión no requiere de oxígeno atmosférico. Al descomponerse la glucosa en alcohol etílico y dióxido de carbono, se desprende solo un 7,33% de la energía susceptible de recuperación. Desde el punto de vista energético este rendimiento es muy bajo, pero la compensa el hecho de que estas cortas cantidades de energía representan un verdadero capital productivo (Vincent *et al.* 2006).

Gracias a las levaduras presentes en el mosto, los azúcares son transformados mediante un cierto número de etapas en etanol y anhídrido carbónico, según la ecuación de Gay-Lussac:



La fermentación alcohólica va acompañada de la liberación de moléculas energéticas (ATP) – energía materialmente comprometida- puestas a disposición de las levaduras (Vincent *et al.* 2006).

Los seres humanos han aprovechado este proceso para elaborar diferentes alimentos como pan, cerveza, y vino. Las principales responsables de estas tres transformaciones son las levaduras, entre las que se destacan la especie *Saccharomyces cerevisiae* (Tempeh info, 2008). Aunque se han llevado a cabo investigaciones con la bacteria *Zymomonas mobilis*, una bacteria gram negativa utilizada para la fermentación alcohólica que presenta ventajas comparada con *S. cerevisiae*, tales como, su alto factor de conversión de sustrato a producto y la baja producción de células. Es una bacteria aislada inicialmente de vinos de palma, la cual crece en medios que contienen sacarosa, glucosa o fructosa (Caicedo, 2011).

Durante la Fermentación alcohólica, es necesario controlar el aumento de temperatura, ya que por encima de los 28 o 29°C, comienzan a producirse la volatilización de sustancias aromáticas; además las levaduras empiezan a morir, deteniéndose el proceso fermentativo (García, 2008). En la fermentación maloláctica (FML) una enzima media la descarboxilación de ácido L-málico en ácido L-láctico, esto se lleva a cabo por bacterias ácido lácticas pertenecientes principalmente a la especie *Oenococcus oeni*. Por lo general se produce después de la fermentación alcohólica (FA) y se sabe que mejora la calidad del vino a través de la desacidificación, además de la producción de sabores y aromas deseables y el aumento de la estabilidad bacteriana (Kunkee, 1984, 1991; Davis *et al.*, 1985, 1988).

Las levaduras necesitan inicialmente oxígeno, sin embargo, al final de la fermentación hay que conseguir su presencia sea pequeña, para evitar la pérdida de etanol y la aparición en su lugar de ácido acético.

La principal finalidad de una fermentación alcohólica, es la producción de energía de tipo anaeróbica (con ausencia de oxígeno) para microorganismos como las levaduras, en el caso de ver el proceso desde la perspectiva microbiana, y desde la perspectiva humana, el proceso es de tipo bioquímico, tiene la finalidad de producir etanol (Méndez, 2000).

### **2.5.2.1 Chaptalización**

El proceso de chaptalización de los vinos consiste en la adición de azúcares en alguna fase de la fermentación para reforzar el porcentaje de alcohol que contiene, cuando sea necesario. Cuando las uvas no llegan a madurar lo suficiente, o cuando la región en la que se cultiva no dispone de suficientes horas de sol como para que la uva abrigue buena cantidad de azúcar, es posible conseguir el grado óptimo de alcohol si se le añade azúcar procedente, por lo general, de la remolacha o de la caña (Folgado & Segura, 2009).

Es un proceso que no forma parte de las prácticas enológicas reconocidas por la OIV y que rechazan algunos países importantes, entre ellos Estados Unidos, Italia y España (en donde es una práctica prohibida), de uso común en países fríos como Alemania o el norte de Francia donde artificializa en exceso el ya complejo sistema de fermentación del vino y enmascara sabores, texturas y aromas (Clavel, 2007).

### **2.5.3 Factores que influyen en el proceso fermentativo**

Dentro de los factores que influyen están:

- Levaduras

Gracias a las levaduras presentes en el mosto, los azúcares son transformados mediante un cierto número de etapas en etanol y anhídrido carbónico. Las levaduras se sirven igualmente de las sustancias nitrogenadas (nitrógeno amoniacal y aminoácidos), presentes en el mosto, para la síntesis de proteínas (Vicent, *et al.* 2006).

Las levaduras, se pueden encontrar en la naturaleza en todas partes. Por eso se puede casi garantizar que el 90-95% de los zumos de frutas fermentarán sin que haya que añadirles ningún cultivo de levaduras, aunque sucede que con frecuencia este tipo de levaduras prolifera mal porque la composición del líquido no es la adecuada (Xandri,

1958). Son organismos heterótrofos, por lo tanto, requieren de carbono orgánico para obtener energía, sin embargo, los requerimientos nutricionales específicos de las levaduras pueden variar considerablemente entre las diferentes especies. Muchas pueden catabolizar la glucosa, ya sea en forma aerobia (respiración) o anaerobia (fermentación). La capacidad para utilizar diferentes compuestos nitrogenados es una de las características que se usa para distinguir entre las diferentes especies (García, 2004).

La mayor parte de las levaduras crecen mejor en medios en los que está disponible una buena cantidad de agua. Sin embargo, muchas de ellas pueden crecer en medios con relativamente poca cantidad de agua como en soluciones con una concentración elevada de solutos (sal o azúcar) (García, 2004).

El pH óptimo para el crecimiento de las levaduras es 3.8-5.6, con temperaturas óptimas entre los 22 y los 30°C, por lo que a la hora de fabricar vinos es recomendable mantener estas condiciones en el mosto (García, 2004).

Si se pretende alcanzar sólo un determinado rendimiento de fermentación, es decir, un contenido alcohólico bajo (5-7% vol.), puede emplearse el mosto y dejarlo fermentar sin añadir ningún cultivo seleccionado de levadura, es decir, usar las llamadas levaduras salvajes, las cuales pueden estar presentes en las diferentes frutas. Sin embargo, si por el contrario lo que se quiere conseguir es un vino con un contenido alcohólico del 13% vol. o más, el rendimiento de las levaduras salvajes no basta. En estos casos es siempre imprescindible usar cultivos seleccionados de levadura (Kolb, 2002).

Las levaduras que se utilizan en la actualidad para producir el vino, la cerveza, el whisky y el pan son casi siempre cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, según Madigan y colaboradores (2009) algunas empresas productoras de vino utilizan la especie cultivada específica para vino *Saccharomyces ellipsoideus*, que se añade al zumo para iniciar la fermentación, con previa eliminación de las levaduras silvestres con dióxido disulfuro (sulfitos).

Las del género *Schizosaccharomyces* pueden llegar a metabolizar en ocasiones hasta el 90% de ácido málico, con un rendimiento de 2.33 gramos de este ácido por 0.80 gramos de alcohol etílico, produciendo poca acidez volátil y sin embargo niveles altos de glicerina. El problema de utilizar estas levaduras en la fermentación alcohólica, viene dado por su mal rendimiento azúcar/alcohol, además de bajo poder alcoholígeno, y también de la dificultad de imponer en el medio fermentativo una población suficiente de esta levadura, ya que es muy poco competitiva frente a las cepas pertenecientes a la especie *Saccharomyces* (Hidalgo, 2002).

- pH

El pH es un factor importante de medir en un proceso de fermentación, inicialmente porque se busca proporcionar un medio idóneo para el crecimiento de los microorganismos presentes en dicho proceso. A medida que transcurre la fermentación dicho valor presenta variaciones debido a la actividad metabólica desarrollada por los microorganismos.

En química, el pH es una medida de la acidez o alcalinidad de una solución. El pH determina la concentración de iones hidrogeno el agua pura (en un ambiente libre de CO<sub>2</sub> y otros gases) tiene un pH de 7, las soluciones con un valor menor a 7 se dice que son acidas, mientras que las mayores a 7 se consideran básicas o alcalinas (Cabello, 2013).

La impresión organoléptica de la astringencia y acidez, es más dependiente del pH, que de la acidez total. La tonalidad y vivacidad de color de los vinos, depende de su pH. Los ataques bacterianos son posibles cuanto más levado es el pH (García, 1990).

En los mostos, el pH varía dependiendo de la maduración de las frutas, de la concentración de ácidos orgánicos al momento de la cosecha, en la presencia y metabolismo de microorganismos, en la temperatura de fermentación, etc. Por otro lado, existen prácticas enológicas que pueden modificar sustancialmente el pH del vino. Durante la fermentación maloláctica, por ejemplo, el pH del vino se puede incrementar en 0.1-0.3 unidades de pH; esto se debe a que las bacterias malolácticas transforman el ácido málico a ácido láctico (Cabello, 2013).

Además el pH es un factor decisivo para impedir la multiplicación de bacterias no deseadas. Generalmente se recomienda que cuando se utilizan frutas poco ácidas ajustar el valor del pH entre 3.4 y 4, que es el rango óptimo de trabajo para las levaduras utilizadas en la fermentación de los mostos de frutas (Kolb, 2002).

- Contenido de azúcar (°Brix)

Los azúcares predominantes en el zumo de las frutas son la glucosa y la fructosa; el primero de ellos con función química aldehídica y el segundo cetónica (García, 1990). El dulzor y el contenido de alcohol de los vinos están interrelacionados porque la fermentación convierte los azúcares de la uva en etanol. A medida que se va produciendo alcohol, el dulzor disminuye; cuando teóricamente todo el azúcar ha sido fermentado el vino no presenta dulzor, y se dice que es seco. Los vinos secos contienen

todo el alcohol que la variedad de uva es capaz de proporcionar bajo condiciones de fermentación, que generalmente oscila entre 12-14 % de alcohol en volumen (Potter y Hotchkiss, 1999).

Los valores de sólidos solubles dependen del pH, acidez total, y de la evolución del aroma en el mosto. En las últimas etapas del proceso, el contenido de azúcar varía muy poco mientras que el contenido aromático aumenta considerablemente. Un vino con un bajo contenido de azúcar, son poco alterados, es decir, se conserva mejor (Boulton, 1996).

- Acidez

El contenido ácido de un vino es importante desde el punto de vista del sabor e indirectamente, por sus efectos sobre el color, el pH y la estabilidad del producto. (Zoecklein, 1988).

Según Amerine, 1976, mientras más bajo es el pH mayor debe ser el aumento de la acidez para que el pH se vea afectado. Se debe indicar que no existen relaciones directas, o que permitan predicciones, entre el pH y la acidez valorable.

Un vino de consumo corriente es más agradable y digestivo si su acidez es algo elevada, estos vinos también toleran el agregado de agua. La acidez total de un vino constituye un importante elemento de sus características gustativas, interviene en mayor medida que el pH en el “verdor” o la “frescura”, teniendo también que ver en el mantenimiento de los vinos, sobre todo en su resistencia a las alteraciones bacterianas (Kolb, 2002).

- Temperatura

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, 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).

El margen de temperatura en el que las levaduras son capaces de provocar la fermentación alcohólica y crecer, oscila entre 0 y 45°C. Pero por regla general lo más adecuado para la multiplicación de las levaduras es mantener una temperatura entre 25 y 30°C (Kolb, 2002).

Una temperatura demasiado elevada es perjudicial para las levaduras y beneficiosa para las bacterias que estropean el vino. Puesto que la fermentación alcohólica es un proceso que produce calor por sí mismo, la temperatura de fermentación se ha de mantener lo más baja posible. Es importante que la fermentación no tarde más de tres días en empezarse, y que se mantenga sin interrupciones (Kolb, 2002).

- Aireación

La ausencia o abundancia de oxígeno permite una selección tanto de microorganismos como de productos metabólicos. Cuando el cultivo se produce en presencia de oxígeno molecular, la fermentación se denomina aeróbica y cuando se realiza en ausencia de oxígeno molecular se denomina anaeróbica. Si la fermentación es anaeróbica, la mayor parte del carbono se emplea solo como energía y solo el 2% se asimila como material celular.

## **2.6 ANÁLISIS SENSORIAL**

Es una disciplina científica mediante la cual se evalúan las propiedades organolépticas a través del uso de uno o más de los sentidos humanos (Espinosa, 2007).

Mediante esta evaluación se conoce el nivel de aceptación de un producto por parte del consumidor, indispensable para establecer correctivos tanto en la producción como en el mercadeo mismo. Los elementos necesarios para un análisis sensorial son: Los jueces, el área de pruebas y preparación, temperaturas de las muestras, horario para las pruebas, cantidad de muestra y vehículos (Vargas y Tapia, 2009).

Los vinos de fruta pueden evaluarse mediante un análisis organoléptico o cata. Se busca valorar el vino a través de los sentidos de una forma técnica, analítica y objetiva. Se califica las características más sobresalientes de los vinos tales como: aspecto, perfume y sabor. Una de las formas de realizar el análisis organoléptico es mediante el diseño de una ficha de evaluación, donde cada una de estas características esté asociada a varias cualidades que permiten evaluar mejor la calidad del vino (Cuinare, 2012).

## **2.6.2 Pruebas Afectivas**

Las pruebas afectivas son aquellas en las cuales el juez expresa su reacción subjetiva ante el producto, es decir (le gusta o disgusta, la acepta o lo rechaza) (Larmond, 1977).

Estas pruebas presentan mayor variabilidad en los resultados y son más difíciles de interpretar debido a que se trata de apreciaciones completamente personales. Por lo general se realizan con paneles inexpertos o con solamente consumidores (Amerine, 1965).

Para las pruebas afectivas es necesario contar con un número mínimo de 30 jueces no entrenados, y estos deben ser consumidores habituales o potenciales, y compradores de alimento en cuestión (Anzaldúa, 1994).

### **2.6.2.1 Prueba de Medición del grado de satisfacción**

Cuando se deben evaluar más de dos muestras a la vez, o cuando se desea obtener mayor información acerca de un producto, puede recurrirse a las pruebas de medición del grado de satisfacción. Estas son las respuestas de los jueces acerca de cuanto les gusta o disgusta un producto (Anzaldúa, 1994).

Para llevar a cabo esta prueba se utilizan las escalas hedónicas que son instrumentos de medición de las sensaciones placenteras o desagradables producidas por un alimento (Anzaldúa, 1994).

#### **2.6.2.2. Escalas Hedónicas verbales**

Estas escalas son las que se presentan a los jueces una descripción verbal de la sensación que les produce la muestra. Deben tener siempre un número impar de puntos, y se debe incluir siempre un punto central “ni me gusta ni me disgusta”. A este punto se le asigna generalmente la calificación de cero. A los puntos de la escala por encima de este valor se le asignan valores numéricos positivos, indicando que las muestras son agradables; en cambio, a los puntos que están por debajo se les asignan valores negativos, correspondiendo a calificaciones de disgusto (Anzaldúa, 1994).

## **2.6.3 Juez Consumidor**

Se trata de personas que no tienen que ver con las pruebas, ni trabajan con alimentos como investigadores o empleados de fábricas procesadoras de alimentos, ni han efectuado evaluaciones sensoriales periódicas. Por lo general son personas tomadas al azar, ya sea en la calle, o en una tienda, escuela, etc. (Ellis, 1961).

Los jueces de este tipo deben emplearse solamente para pruebas afectivas y nunca para descriptivas. Es importante escoger jueces que sean los consumidores habituales del producto a probar, o en el caso de productos completamente nuevos, que sean los consumidores potenciales de dicho alimento. El número de jueces tipo consumidor para que una prueba sea válida es de 30 personas (Anzaldúa, 1994).

## 2.7 ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Se trata de conocer el número total de microorganismos presentes en el alimento. Este número no guarda relación con el de microorganismos patógenos por lo que no puede usarse como índice de su presencia y sólo debe considerarse un indicador de las características higiénicas generales del alimento. Dependiendo de las características del medio utilizado (medio rico, medio limitado en nutrientes para medida de la flora no láctica de alimentos fermentados) y de las condiciones de incubación de los microorganismos (mesófilos, psicrófilos, termófilos) analizados, los cuales serán diferentes especies (Unavarra, 2011).

Con frecuencia, tanto en vinificación, como en las fases siguientes de la elaboración del vino, el enólogo se encuentra frente a problemas microbiológicos. Uno de los más importantes, puede ser, el del conteo del número de células presentes en un cierto volumen de líquido, aunque lo más preocupante es la presencia de microorganismos que puedan alterar el vino (De Rosa, 1997).

El número de microorganismos viables presentes en mostos y vinos se determina esparciendo un pequeño volumen conocido de muestra, en el caso de microorganismo aerobios la siembra se realiza en la superficie de un medio de cultivo apropiado para el microorganismo que se desea identificar y para microorganismos anaerobios la siembra puede hacerse en profundidad o en doble capa. Posteriormente las placas se incuban durante el tiempo necesario en las mejores condiciones posibles para el crecimiento. Cada célula o agrupamiento celular se divide, se agrupa y se hace visible como una colonia.

Según la Organización Internacional del Vino, 1979, el número de colonias encontradas en la superficie de una placa equivale a las células presentes en la muestra original, por lo que los resultados aparecen como UFC (unidades formadoras de colonias). Si se supone que el número de células de una muestra es elevado, se realizan diluciones decimales seriales hasta obtener colonias de 10 a 300 células por placa.

## 2.7.1 Crecimiento Microbiano

El crecimiento microbiano supone un incremento en el número de células más que en el tamaño de las células individuales. El crecimiento de la mayoría de los microorganismos ocurre por fisión binaria. La división celular y la replicación del cromosoma están reguladas de modo coordinado, y las proteínas Fts. son claves en estos procesos (Madigan *et al.*, 2009).

### 2.7.1.1 Curva de Crecimiento

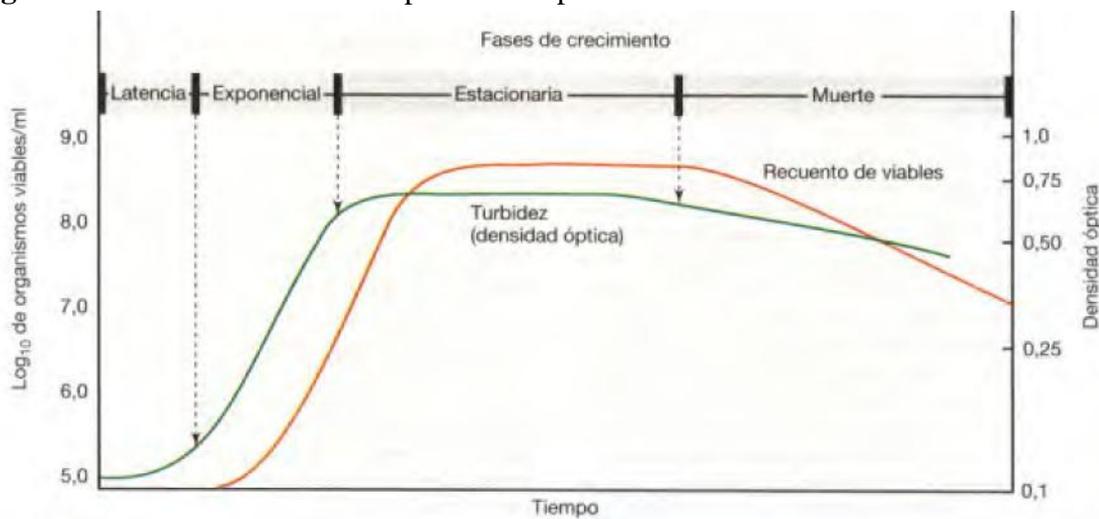
En un sistema cerrado o cultivo en medio no renovado, también conocido como cultivo monofásico, se obtiene una curva de crecimiento típica. Esta curva de crecimiento puede dividirse en distintas fases llamadas fase de latencia, fase exponencial, fase estacionaria y fase de muerte. Las fases de la curva de crecimiento, corresponden a sucesos que ocurren en una población de células, no en células individuales o aisladas (Figura 3).

- a) **Fase de latencia (*lag*)**, cuando se inocula una población microbiana en un medio fresco, por lo general el crecimiento no comienza inmediatamente sino sólo tras un periodo de tiempo que constituye la *fase de latencia*, la cual puede ser breve o larga dependiendo de la procedencia del cultivo y de las condiciones de crecimiento (Madigan *et al.*, 2009). Aunque la división celular no se produce inmediatamente y no hay un incremento neto de masa, es un proceso activo, la célula está sintetizando nuevos componentes (Prescott *et al.*, 2004). Además, es un tiempo en el que el microorganismo se está adaptando al medio de cultivo, ya que las células requieren de un equipamiento enzimático completo que permita la síntesis de metabolitos esenciales que no estén presentes en el medio. En el momento en el que cambian de medio, necesitan tiempo para la síntesis de nuevas enzimas.
- b) **Fase exponencial (*log*)**, también conocida como fase logarítmica, los microorganismos crecen y se dividen hasta el nivel máximo posible, en función de su potencial genético, el tipo de medio y las condiciones dadas. La velocidad de crecimiento es constante durante esta fase; esto es, los microorganismos se duplican en número a intervalos regulares. El crecimiento exponencial es un crecimiento equilibrado, es decir, todos los componentes celulares se producen a una velocidad constante, unos respecto de otros (Prescott *et al.*, 2004). Las células microbianas se encuentran en un estado fisiológico más sano, el cual es apropiado para estudios enzimáticos y estructurales.
- c) **Fase estacionaria**, esta fase el número total de microorganismos viables permanece constante. Este hecho puede ser el resultado del equilibrio entre la división y la muerte

de las células, o que la población deja de dividirse aunque siga metabólicamente activa (Prescott *et al.*, 2004). En un sistema de cultivo cerrado monofásico, el crecimiento exponencial no se puede prolongar indefinidamente, ya que el medio de cultivo se agota, en el medio se acumulan productos de desecho hasta niveles inhibitorios y con estas condiciones el crecimiento de la población cesa, así la curva de crecimiento se hace horizontal debido a que el número total de microorganismos viables permanece constante. El tamaño final de la población depende, de la disposición de nutrientes y otros factores, así como del tipo de microorganismo que se cultive.

- d) **Fase de muerte**, si la incubación continúa después de que la población haya alcanzado la fase estacionaria, las células pueden continuar vivas y metabólicamente activas, pero también pueden morir. Si ocurre esto último, se dice que la población está en fase de muerte. La curva de crecimiento muestra que la fase de muerte también es exponencial, no obstante, en la mayoría de los casos la velocidad de muerte celular es mucho más lenta que la de crecimiento exponencial (Madigan *et al.*, 2009).

**Figura 3.** Curva de crecimiento típica de una población bacteriana



Fuente: Madigan *et al.*, 2009.

El crecimiento se define como un aumento en el número de células microbianas de una población; también puede medirse como un incremento de la masa celular. La velocidad de crecimiento es el cambio en el número de células o en la masa celular experimentado por unidad de tiempo. El intervalo para la formación de dos células a partir de una supone una generación, y el tiempo transcurrido para que esto ocurra se llama tiempo de generación (Madigan *et al.* 2009).

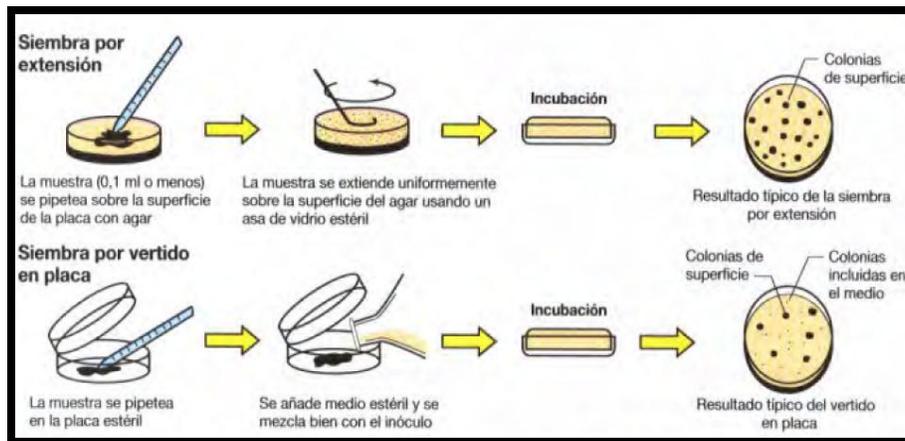
### 2.7.1.2 Recuento de células viables

Una célula viable se define como aquella que es capaz de dividirse y dar lugar a una descendencia, y el método usual para realizar una determinación de células viables se basa en contar el número de células de la muestra que es capaz de formar colonias sobre un medio sólido adecuado. Por esta razón, el recuento de células viables también se llama recuento en placa o recuento de colonias. En este procedimiento se supone que cada célula puede formar una colonia (Madigan *et al.* 2009).

Hay dos maneras de realizar un recuento en placa para viables: el método de extensión en placa y el método de vertido en placa (Figura 4), o siembra en profundidad. En el método de extensión en placa un cierto volumen de cultivo diluido (normalmente 0,1 ml), se extiende por la superficie de una placa con medio sólido utilizando un asa estéril de extensión. La placa se incuba después hasta que aparecen las colonias y se cuenta su número. El exceso de líquido origina problemas en el recuento al favorecer la extensión.

En el método de vertido en placa o siembra en profundidad se pipetea un volumen conocido (normalmente 0,1-1,0 ml) de cultivo en una placa Petri estéril sobre la que se añade el medio con agar fundido y se mezcla todo con suaves movimientos circulares antes de que se solidifique, con este método el organismo que se cuenta debe ser capaz de resistir la temperatura del agar fundido a 45°C (Madigan *et al.* 2009).

**Figura 4.** Dos métodos para una determinación de células viables

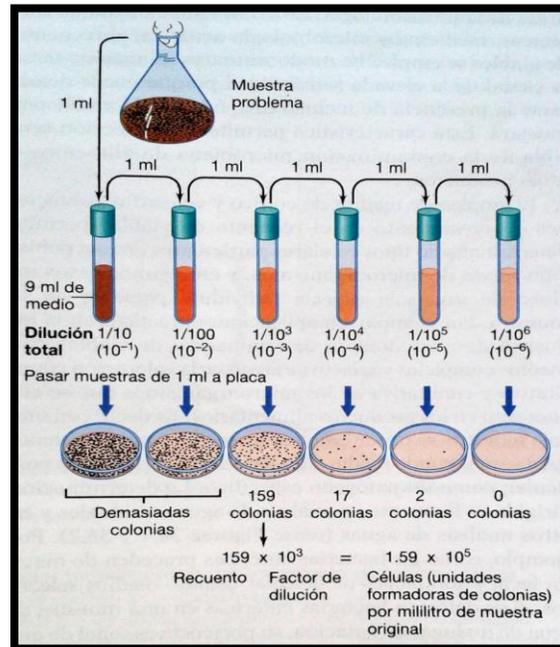


Fuente: Madigan *et al.* 2009

Para obtener el número apropiado de colonias casi siempre se diluye la muestra, normalmente se hace más de una dilución. Por ejemplo, si se requiere una dilución de  $10^{-6}$

se puede lograr haciendo tres diluciones sucesivas de  $10^{-2}$  o seis sucesivas de  $10^{-1}$  (Figura 5).

**Figura 5.** Determinación de células viables por diluciones seriadas y vertimiento en placa



Fuente: Madigan *et al.* 2009.

### 2.7.1.3 Turbidez

Un método muy rápido y útil de obtener estimaciones del número de células son las medidas de turbidez. Una suspensión celular aparece turbia a la vista porque las células dispersan la luz que atraviesa la suspensión. Cuantas más células estén presentes mayor será la luz dispersada y, por tanto, mayor la turbidez. La turbidez puede medirse con aparatos como el fotómetro o espectrofotómetro que hacen pasar la luz a través de suspensiones celulares y detectan la cantidad de luz emergente no dispersada.

Las longitudes de onda más comúnmente usadas para medir la turbidez bacteriana son 540 nm (verde), 600 nm (naranja) y 660 nm (rojo). Las medidas de turbidez se usan con frecuencia para seguir la velocidad de crecimiento en los cultivos microbianos; la misma muestra puede medirse repetidamente, y usarse para calcular el tiempo de generación de un cultivo en crecimiento (Madigan *et al.* 2009).

### 3. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1 Caracterización de la materia prima

En el laboratorio de Procesos Agroindustriales de la Universidad Surcolombiana, se realizó la caracterización de la materia prima, pulpa de maracuyá (*Passiflora edulis*) y cholupa (*Passiflora maliformis*), tomando tres muestras de forma aleatoria con la misma característica en grado de madurez, determinando: pH con el potenciómetro digital (WTW-330), por el método del potenciómetro (AOAC-981.12), °Brix con el refractómetro digital (Atago Pocket 0-85, pal-A (alfa)), por el método del refractómetro (AOAC-932.12) y la acidez, en porcentaje de ácido cítrico utilizando el método AOAC-942.15. Los procedimientos de los métodos mencionados anteriormente se encuentran descritos en el apartado 3.3.

#### 3.2 Preparación de bebidas fermentadas de Maracuyá y Cholupa

Para la elaboración de un producto innovador que se pueda comercializar, teniendo en cuenta las características físico-químicas y la disponibilidad de las frutas, buscando también que fueran autóctonas de la región, se decidió fabricar bebidas fermentadas a partir de la pulpa y la cáscara del maracuyá y la cholupa, siguiendo los pasos descritos en la figura 6, empleando la indumentaria habitual en laboratorios de alimentos.

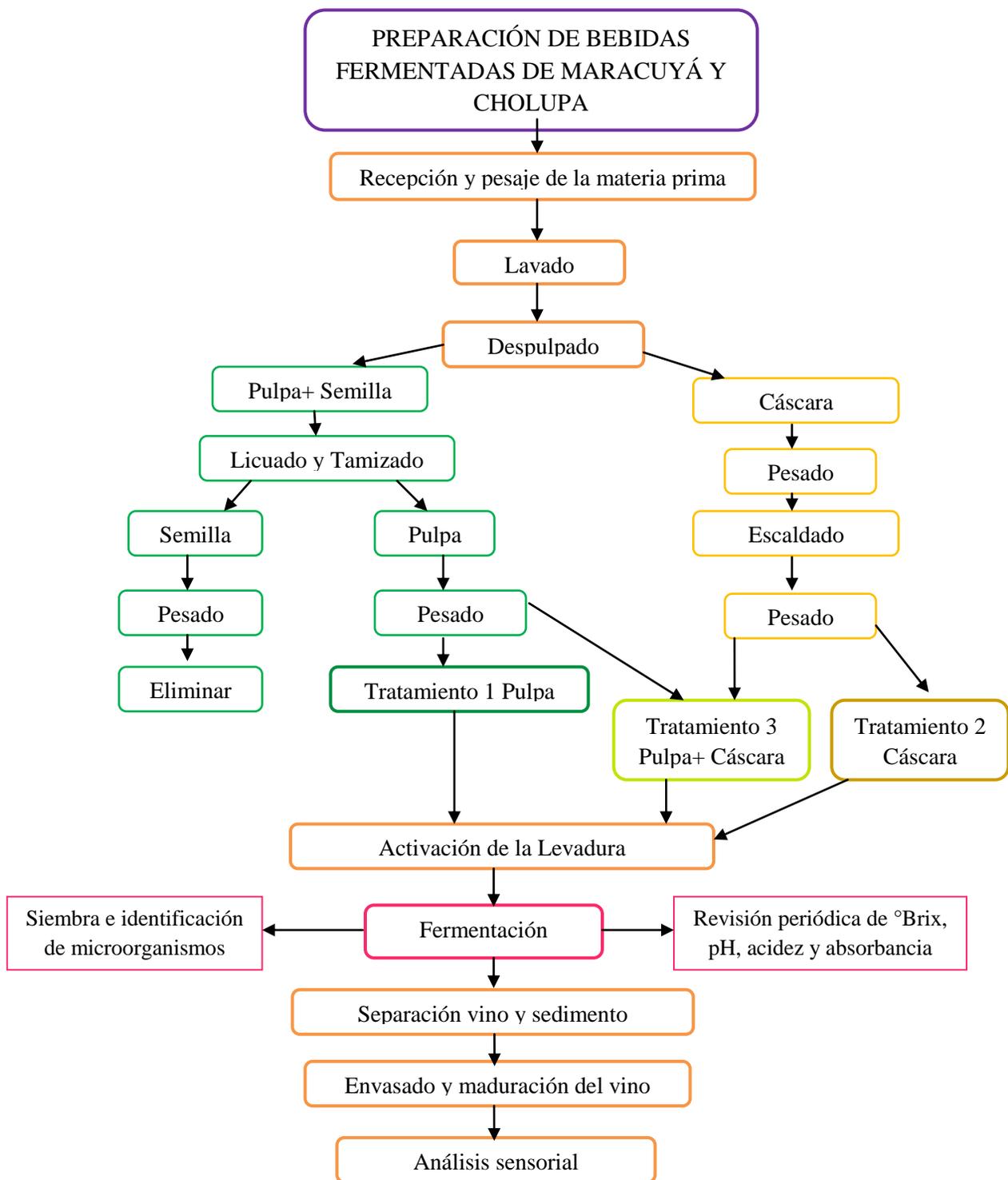
##### ➤ **Recepción y pesaje de la materia prima**

La materia prima fue adquirida en el centro de abastos de la ciudad de Neiva “Surabastos”, seleccionando frutos maduros, sanos y uniformes. La medición de la cantidad de fruta se realizó en una balanza analítica con capacidad de 2000 gr, marca OHAUS.

##### ➤ **Lavado**

Las frutas fueron lavadas con agua corriente potable para eliminar tierra u otros materiales que puedan contaminar la pulpa al momento del cortado. Adicional a esto, se sumergieron en una solución de agua con 0,1% de hipoclorito de sodio, para minimizar la acción de cualquier patógeno presente en la cascara.

**Figura 6.** Diagrama de flujo del proceso de fabricación de las bebidas fermentadas.



### ➤ **Despulpado**

En esta operación se separó la pulpa de la fruta, la cáscara y la semilla, la cual se realizó utilizando cuchillos para abrir el fruto y cucharas para obtener la pulpa, con la indumentaria adecuada para mantener la salubridad. El pesaje permitió determinar el peso neto de la pulpa y la cáscara que se procesó (Figura 7).

**Figura 7.** Despulpado



### ➤ **Escaldado**

Las cáscaras de las frutas se escaldaron en agua por un tiempo de 15 minutos aproximadamente para el maracuyá y 40 minutos para la cholupa a una temperatura aproximada a los 90°, siguiendo lo realizado por Rodríguez (2012) esto con el fin de hacer más sencilla su manipulación e inactivar enzimas.

#### ○ Licuada y Tamizado

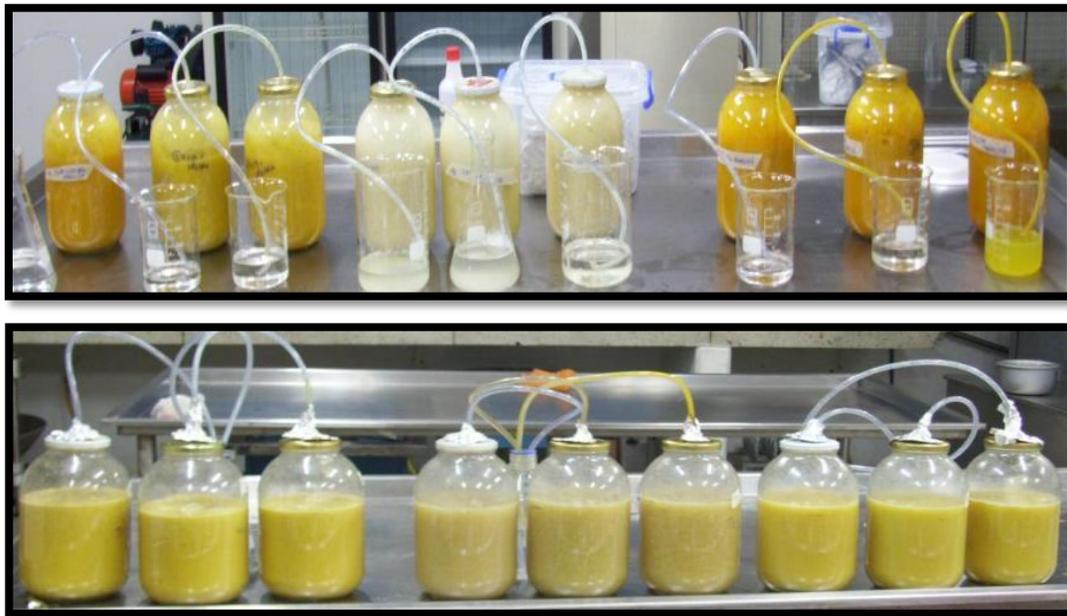
Para liberar el color, sabor y otros componentes se fraccionó la fruta en una licuadora marca Oster con capacidad de 2 litros, la cáscara se homogenizó por 9 minutos aproximadamente, posteriormente se tamizó en un colador sencillo, con el propósito de obtener un mosto fluido sin partículas en suspensión.

### ➤ **Preparación de los Mostos**

Se utilizaron 2500 ml de mosto concentrado para 3 tratamientos: T1 pulpa, T2 cáscara y T3 pulpa y cáscara (50-50), se hicieron 3 repeticiones para cada tratamiento.

En cada uno de los tratamientos se realizó un proceso de chaptalización, ajustando °Brix a un valor de  $20 \pm 2$  y se vertieron en los respectivos recipientes de vidrio con capacidad de 5000 ml, los cuales tienen tapa en la que se adaptó en la parte superior una manguera para facilitar la salida de  $\text{CO}_2$  (Figura 8).

**Figura 8.** Montajes de bebidas fermentadas de Maracuyá (arriba) y Cholupa (abajo).



#### ➤ **Activación de la levadura**

Se pesaron 25 gramos de levadura seca (Fleischmann®), en una balanza analítica con capacidad de 2000 gr, marca OHAUS, se hidrató y luego, se adicionó 30 ml del mosto que se encontraba a temperatura ambiente de  $27^\circ\text{C}$  y a  $20 \pm 2$  °Brix agitándolo con espátula metálica en un vaso de precipitado de 500 ml, esto se hizo para cada uno de los tratamientos.

#### ➤ **Fermentación**

El proceso de fermentación inicia con la adición de la levadura. Este proceso permite transformar el azúcar contenido en alcohol. Para iniciar el proceso fermentativo se tapó el recipiente que contiene el mosto inoculado, en la tapa se tuvo una trampa de aire, con el extremo exterior sumergido en agua para evitar la entrada de oxígeno, el cual puede alterar las condiciones de fermentación. Este proceso se llevó a cabo durante 30 días (720 horas) a temperatura ambiente ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ), tiempo en el cual se realizó seguimiento al crecimiento de

las levaduras, sólidos solubles, pH, acidez y absorbancia dos veces por semana para ello cada vez que se tomó muestra se realizó trasiego que consistió en abrir el montaje que era anaerobio y homogenizar el tratamiento, con ello se logró la incorporación de una cantidad mínima de oxígeno que favoreció el crecimiento de las levaduras presentes en el medio.

### ➤ **Envasado y maduración**

Transcurrido el tiempo de fermentación, se procedió a realizar la separación del vino de los sedimentos de fruta y los desechos de la fermentación también denominados conchos, para ello se utilizó una manguera y se llevó a cabo por diferencias de altura (Figura 9). Posteriormente se procedió al envasado en botellas de 750 ml de color verde oscuro (Figura 10). El vino envasado se dejó en reposo. El tiempo de maduración fue de un mes.

**Figura 9.** Separación del vino y el sedimento



**Figura 10.** Envasado



### **3.3 Determinación de las características químicas**

La medición de las siguientes variables se realizó para los tratamientos del proceso de fermentación de maracuyá y cholupa.

#### ○ Determinación de los sólidos solubles

En la elaboración de vino es la variable más importante, debido a que las levaduras metabolizan los azúcares presentes en el mosto transformándolo en alcohol que es la característica más determinante en una bebida fermentada. Este parámetro se determinó mediante medición directa colocando una pequeña muestra de mosto en el refractómetro

digital (Atago Pocket 0-85, pal-A (alfa)) previamente calibrado con agua destilada, se efectuó la lectura de los °Brix por triplicado para cada uno de los tratamientos, esta medición se realizó en los días 0, 4, 7, 10, 15, 22 y 28. Método del refractómetro (AOAC-932.12) (Figura 11).

**Figura 11.** Medición de °Brix con refractómetro digital.



#### ❖ Variación de pH

Para la medición del pH se usó un potenciómetro digital (WTW -330), previa calibración del potenciómetro, se enjuagó con agua destilada y se calibró con buffer pH 7 y buffer pH 4, se tomó en un vaso de precipitado una cantidad de 5 ml de mosto donde se introdujo el electrodo y se leyó por triplicado en los diferentes tratamientos. Esta medición se hizo para los días 0, 4, 7, 10, 15, 22 y 28 Método potenciómetro (AOAC-981.12) (Figura 12).

**Figura 12.** Medición del pH con el Potenciómetro



### ❖ Variación de la Acidez

Se determina los cambios de acidez expresados en porcentaje de ácido cítrico el cual es el ácido predominante en estas pasifloras. La determinación se hizo por titulación con una solución valorada de hidróxido de sodio 0.1N, se depositaron 5 ml del mosto en un vaso de precipitado y se adicionaron 3 gotas de solución de fenolftaleína. Posteriormente se tituló la muestra hasta obtener un pH de 8,2 que se mantuvo, se registró el volumen gastado en la bureta y se calculó el porcentaje de ácido expresado como ácido cítrico (AOAC-942.15) a partir de la ecuación 1 (Anexo A y figura 13). Esta variable se midió en los días 0, 4, 7, 10, 15, 22 y 28.

**Figura 13.** Determinación de acidez.



### ❖ Determinación de Absorbancia

La absorbancia es la cualidad de una sustancia para absorber la radiación electromagnética de un haz de luz. Se utilizó un espectrofotómetro (Único 1200), con una longitud de onda de 620 nm, cabe destacar que se encuentra dentro del rango de longitudes de onda comúnmente utilizado, 600 y 660 nm (Madigan *et. al*, 2009).

El equipo se enciende durante 15 minutos con el fin de que el emisor de luz se caliente, después de esto se tomó un tubo de ensayo con agua destilada, el cual se utilizó como blanco o punto de referencia, se depositó en el espectrofotómetro (Figura 14), después se seleccionó el modo absorbancia y se ajustó el cero, luego de esto se tomó un tubo de ensayo

con 6 ml de la muestra de cada uno de los tratamientos y se leyó el respectivo valor de absorbancia.

**Figura 14.** Medición de la absorbancia con el espectrofotómetro.



### **3.4 Análisis microbiológicos**

#### **3.4.1 Preparación de medios de cultivo**

##### ❖ Diluciones seriadas.

Para las diluciones seriadas se empleó agua de peptona según ISO 6579 de laboratorios MERCK (Anexo B). Se pesó en una balanza la cantidad de medio requerido, y se depositó en un vaso de precipitado luego se adiciono la cantidad de agua destilada necesaria y se homogenizo. Con el uso de una bureta se adiciono a cada tubo de ensayo una cantidad de 9 ml, se tapó con papel aluminio y se llevaron a autoclave a 121°C, durante 15 minutos, transcurrido este proceso se dejó enfriar y se realizó las diluciones correspondientes para la siembra.

##### ❖ Medio de cultivo

En la siembra en placa se empleó medio selectivo para levaduras YGC-AGAR (agar extracto de levadura-glucosa-clorafenicol) (Anexo B), se pesó en una balanza la cantidad de medio requerido y se adiciono en un Erlenmeyer con la cantidad de agua destilada correspondiente y se agito manualmente hasta homogenizar, se llevó a autoclave a 121°C durante 15 minutos, después se dejó atemperar a 50°C.

### 3.4.2 Siembra de Levaduras (*Saccharomyces cerevisiae*)

La siembra se realizó en una cámara de flujo. Para cada uno de los procesos de fermentación de maracuyá y cholupa, se tomó una muestra de 1 ml de cada uno de los tratamientos, se realizaron diluciones seriadas, posteriormente se hizo la siembra depositando 1 ml en cada caja de Petri esterilizada y luego, se vertió el medio YGC, sembrando en profundidad. Las muestras se tomaron a los días 0, 4, 7, 10, 15, 22 y 28 (Figura 15 y 16). Para lograr una correcta homogenización del medio con el inculo se movió de forma circular hacia la derecha e izquierda y se dejó solidificar, y se incubaron las placas a temperatura ambiente  $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  durante 48 horas en la incubadora de precisión digital modelo (10W temperatura 2005) marca VWR. Luego se realizó recuento de colonias a las 24 y 48 horas.

**Figura 15.** Diluciones seriadas



**Figura 16.** Siembra de levaduras



### 3.4.3 Identificación

Para la observación de levaduras presentes en los procesos de fermentación de maracuyá y cholupa se realizó tinción Gram para su identificación, seleccionando previamente colonias de levaduras aisladas y superficiales.

#### ❖ Tinción

En la cámara de flujo y con ayuda de una pinza se sostuvo el porta objeto, depositando una gota de agua destilada en cada lado del porta objeto, con una asa de platino previamente

flameada se tomó una pequeña muestra de una colonia aislada superficial y se depositó en las gotas de agua (Figura 17).

Luego, se extendió la muestra de levadura (Figura 18), y después de desecar, se fijó cada una de las muestras pasándolas tres veces y lentamente por la llama del mechero, posteriormente se tiñó con violeta de genciana LABSAR (violeta de Gram-Ref. 22011000) y se dejó actuar durante 30 segundos, sin lavar se reemplazó el colorante por el reactivo lugol LABSAR (lugol de Gram-Ref.12030500) dejándolo actuar por 1 minuto. Se lavó con agua destilada y se tiñó con fucsina básica LABSAR (fucsina de Gram-Ref.06040500) durante 3 minutos (Figura 19), se lavó y se dejó secar a temperatura ambiente, posteriormente se realizó la observación a través del microscopio electrónico (Figura 20) (Sanbria & Acevedo, 2011) (Anexo C).

**Figura 17.** Extensión



**Figura 18.** Fijación



**Figura 19.** Tinción



**Figura 20.** Observación.



### 3.5 Destilación del Alcohol

La destilación es un procedimiento que se realiza con el objetivo de conocer el volumen de alcohol que hay presente en una muestra. El proceso de extracción de alcohol se efectuó en un destilador Soxhlet, para ello se depositaron 250 ml de muestra de vino en un balón de fondo plano que se colocó en el montaje respectivo, manteniendo una temperatura entre (70-80°C.) que es el punto de ebullición del alcohol. El tiempo de destilación fue aproximadamente de 4 horas (Anexo D y figura 21).

**Figura 21.** Destilación con el Soxhlet.



#### 3.5.1 Determinación de la densidad del Alcohol

La determinación de la densidad del alcohol se efectuó por el método del picnómetro, para ello se empleó un picnómetro de 50 ml. Antes de realizar el proceso, se lavó y se secó con papel secador, luego se depositó en un desecador durante 24 horas, una vez seco se pesó en una balanza analítica (OHAUS- PA313), luego con la muestra aforada se pesó nuevamente y por diferencia de pesos se halló la densidad (Anexo E y figura 22).

**Figura 22.** Determinación de la densidad con el picnómetro



### **3.5.2 Determinación del grado de Alcohol**

La determinación del grado de alcohol fue realizada utilizando la ecuación de Gay Lussac (Anexo F), que es la medida de alcohol contenida en volumen, es decir, la concentración de alcohol contenida en una bebida.

### **3.6 Evaluación Sensorial**

Se realizó una prueba hedónica que mide el grado de aceptación, para establecer el gusto y disgusto de cada uno de los tratamientos de maracuyá y cholupa. Las botellas fueron etiquetadas como se observa en el Anexo G y las muestras se presentaron en copas de vidrio, tomando 10 ml para cada uno de los tratamientos tanto para maracuyá como cholupa. Esta prueba se llevó a cabo en el Centro Surcolombiano de Investigación en Café “Cesurcafe”, donde 30 jueces consumidores no entrenados, probaron y calificaron cada una de las muestras según una escala hedónica verbal de 7 puntos (Anzaldúa Morales, 1994) (Figura 23). Con esto se determinó el grado de aceptación de cada una de los tratamientos propuestos, cada juez contó con el formato elaborado para la prueba presente en el Anexo H.

**Figura 23.** Prueba hedónica.



### **3.7 Análisis Estadístico**

Se empleó el programa informático Statgraphics Centurion XV.II para realizar el análisis estadístico. Se hizo un análisis de varianza simple (ANOVA) para acidez, pH, °Brix, absorbancia en función del tiempo en la fermentación de maracuyá y cholupa. El t-test ANOVA comprueba si existe alguna diferencia significativa entre medias. En caso afirmativo, el test de rangos múltiples de HSD Tukey muestran las medias que son significativamente diferentes. Las diferencias entre medias fueron consideradas significativas cuando  $P < 0.05$ .

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Mientras se llevó a cabo el proceso de fermentación de maracuyá y cholupa, se realizaron diversos análisis, con el fin de conocer la variación de las características químicas y microbiológicas de cada uno de los tratamientos propuestos hasta la obtención del producto final.

### 4.1 Caracterización materia prima

Se obtuvo un valor promedio de pH de  $6.89 \pm 0,12$  y contenido de sólidos solubles de  $16.3 \pm 0,46$  para el zumo de maracuyá y un promedio de pH de  $6.85 \pm 0,07$  y contenido de sólidos solubles de  $11.5 \pm 2,57$  para cholupa.

Según publicaciones de la FAO (2006) para el maracuyá los valores de sólidos solubles se encuentra entre 13-16, y de pH 4-6, que al compararlos con los valores obtenidos en la caracterización de la materia prima utilizada para este proyecto, se observa que los valores de pH y sólidos solubles se encuentran unas décimas sobre el límite superior del rango establecido, y no representa una diferencia significativa, por lo que se puede decir que se encuentra dentro de los estándares mencionados por la FAO (2006).

Los valores de pH y sólidos solubles obtenidos para la cholupa 6.85 de pH y un contenido de sólidos solubles de 11.5, están por encima de los estándares presentados por el documento publicado por la Gobernación de Huila, quienes mencionan valores de pH de 3, y contenido de sólidos solubles de 3.18, esto debido probablemente a la variedad de la fruta y a las condiciones climáticas y edáficas de la zona de producción.

En la tabla 5, se muestran los valores promedios de pH, sólidos solubles y porcentaje de acidez de la pulpa de maracuyá y cholupa en estado fresco.

**Tabla 5.** Caracterización de la pulpa de maracuyá y cholupa

Maracuyá	pH	sólidos soluble	Acidez titulable (% A.C)
1	6,87	16,2	2,56
2	7,02	15,9	2,69
3	6,78	16,8	3,07
<b>Promedio</b>	<b>6,89</b>	<b>16,3</b>	<b>2,77</b>
<b>Desviación estándar</b>	<b>0,12</b>	<b>0,46</b>	<b>0,27</b>

**Tabla 5.** (Continuación)

<b>Cholupa</b>			
<b>1</b>	6,88	8,6	1,43
<b>2</b>	6,89	12,6	1,19
<b>3</b>	6,77	13,4	1,39
<b>Promedio</b>	<b>6,85</b>	<b>11,5</b>	<b>1,34</b>
<b>Desviación estándar</b>	<b>0,07</b>	<b>2,57</b>	<b>0,13</b>

## 4.2 Tratamientos

En la tabla 6 se presentan las proporciones de materia prima y el volumen de agua utilizado para los tratamientos de las bebidas fermentadas de maracuyá y cholupa; se observa la poca diferencia presente entre las proporciones, aunque el tratamiento 2, el cual corresponde al de cáscara, es el que menor cantidad se utilizó, debido a que es una materia prima de difícil manejo por su dureza, por ello se diluyó en una mayor cantidad de agua para poder obtener el mosto deseado.

**Tabla 6.** Proporciones de los tratamientos utilizados para 2.5 litros de mosto.

<b>TRATAMIENTO</b>	<b>PESO UTILIZADO (gr)</b>	<b>AZÚCAR (gr)</b>	<b>VOLUMEN DE AGUA UTILIZADO (ml)</b>
<b>MARACUYÁ</b>			
T1 Pulpa	2830	300	300
T2 Cáscara	1395	470	1000
T3 Cáscara + Pulpa	698 C + 1415 P	270	650
<b>CHOLUPA</b>			
T1 Pulpa	2970	350	300
T2 Cáscara	1455	540	1000
T3 Cáscara + Pulpa	728 C+1485 P	420	650

C: Cáscara; P: Pulpa

## 4.3 Caracterización química durante el proceso fermentativo

La fermentación alcohólica se realizó a temperaturas en rango de 22°C a 27°C, que es el rango de temperatura óptima que favorece la proliferación de levaduras.

### 4.3.1 Sólidos Solubles (°Brix)

El valor promedio de sólidos solubles con el que se inició la fermentación de los diferentes tratamientos de maracuyá fue de 20.95±0.66 y el tiempo de fermentación fue de 720 horas (30 días), en los productos finales se obtuvo una concentración de sólidos solubles de

8.4±0.21 para T1 (Pulpa); 5.5±0.44 para T2 (Cáscara) y 7.5±0.36 para T3 (Pulpa y Cáscara).

En el caso de la cholupa se inició con un valor promedio de sólidos solubles de 20.24±0.12°Brix, y se finalizó con valores promedios de 6.93±0.35°Brix para T1 (Pulpa), 1.33±0.15°Brix para T2 (Cáscara) y 4.47±0.31°Brix para T3 (Pulpa y Cáscara).

La tabla 7 y 8 muestra los valores de los sólidos solubles obtenidos para cada uno de los tratamientos de maracuyá y de cholupa, durante el proceso de fermentación.

**Tabla 7.** Variación de los sólidos solubles en Maracuyá durante el tiempo de fermentación

MARACUYÁ			
Sólidos solubles (°Brix)			
Tratamiento	T1	T2	T3
Tiempo	Media±D.E	Media±D.E	Media±D.E
0	21,23±0,06 <sup>a</sup>	20,20±0,10 <sup>a</sup>	21,43±0,12 <sup>a</sup>
4	8,53±0,06 <sup>b</sup>	7,50±2,6 <sup>b</sup>	6,33±1,72 <sup>b</sup>
7	9,13±1,59 <sup>b</sup>	5,63±0,71 <sup>bc</sup>	6,50±1,67 <sup>b</sup>
10	8,60±0,10 <sup>b</sup>	5,87±0,68 <sup>bc</sup>	7,43±0,29 <sup>b</sup>
15	8,20±0,44 <sup>b</sup>	6,13±0,64 <sup>bc</sup>	7,83±0,23 <sup>b</sup>
22	8,90±0,26 <sup>b</sup>	6,13±0,47 <sup>bc</sup>	7,70±0,36 <sup>b</sup>
28	8,43±0,21 <sup>b</sup>	5,50±0,44 <sup>c</sup>	7,50±0,36 <sup>b</sup>

D.E.: Desviación Estándar; a, b, c, d. Letras diferentes en la misma columna indican cambios estadísticamente significativos entre sí (P<0,05);  $\bar{x}\pm 5$ .

Se observa en la tabla 7 que en todos los tratamientos de maracuyá hubo diferencias estadísticamente significativas entre el día 0 y los demás días, teniendo en cuenta el descenso marcado de los sólidos solubles entre el día 0 y 4, lo que se relaciona con la alta actividad metabólica de las levaduras en los primeros 4 días, los sólidos solubles después del día 4 se mantienen sin diferencias significativas hasta el final de la fermentación para los tres tratamientos. En T2 se observa que el día 28 presenta diferencias con los demás días, esto posiblemente por los componentes presentes en la cáscara de maracuyá, por otro lado el T1 y T3 tienen comportamientos similares.

**Tabla 8.** variación de los sólidos solubles en Cholupa durante el tiempo de fermentación

CHOLUPA			
Sólidos solubles (°Brix)			
Tratamiento	T1	T2	T3
Tiempo	Media±D.E	Media±D.E	Media±D.E
0	20,37±0,12 <sup>a</sup>	20,23±0,25 <sup>a</sup>	20,13±0,12 <sup>a</sup>
4	8,03±0,49 <sup>b</sup>	6,17±0,12 <sup>b</sup>	6,70±0,20 <sup>b</sup>
7	7,73±0,32 <sup>bc</sup>	6,13±0,06 <sup>b</sup>	6,50±0,17 <sup>bc</sup>
10	7,67±0,21 <sup>bc</sup>	5,80±0,00 <sup>c</sup>	6,27±0,06 <sup>cd</sup>
15	7,60±0,10 <sup>bc</sup>	5,73±0,12 <sup>cd</sup>	6,23±0,06 <sup>cd</sup>

**Tabla 8** (Continuación)

<b>22</b>	7,43±0,06 <sup>c</sup>	5,53±0,12 <sup>d</sup>	6,07±0,15 <sup>d</sup>
<b>28</b>	6,93±0,35 <sup>d</sup>	1,33±0,15 <sup>e</sup>	4,47±0,31 <sup>e</sup>

D.E.: Desviación Estándar; a, b, c, d, e. Letras diferentes en la misma columna indican cambios estadísticamente significativos entre sí ( $P < 0,05$ );  $\bar{x} \pm 5$ .

Para los tres tratamientos de cholupa se encontró diferencias significativas en los sólidos solubles entre el día 0 y los demás días. Además, en T1 hay diferencias significativas entre los días 4-22, 4-28, 7-28, 10-28, 15-28 y 22-28, lo cual significa que la actividad metabólica de las levaduras mantiene una tendencia constante del día 4 al día 15, teniendo variaciones entre los días 22 y 28. Para T2, las diferencias significativas estuvieron presentes entre los días 4-10, 4-15, 4-22, 4-28, 7-10, 7-15, 7-22, 7-28, 10-22, 10-28, 15-28 y 22-28. Finalmente, en T3 se tuvo que entre los días 4-10, 4-15, 4-22, 4-28, 7-22, 7-28, 10-28, 15-28, 22-28 existieron diferencias, esto quiere decir que la actividad de las levaduras tuvo alto consumo de azúcares los primeros 4 días, después de los cuales se mantuvo un comportamiento constante en los tres tratamientos (Tabla 8).

Se observa que tanto para maracuyá como para cholupa se tienen comportamientos similares observados claramente en las figuras 24 y 25, donde es notorio el descenso de carbohidratos (azúcares) al iniciar el proceso de fermentación, esto se debe a que las levaduras se encuentran en un hábitat idóneo para su crecimiento y desarrollo, haciendo disminuir la cantidad de sólidos solubles representados por los diferentes carbohidratos presentes en la materia prima y el azúcar adicionada para ajustar la cantidad de sólidos solubles iniciales.

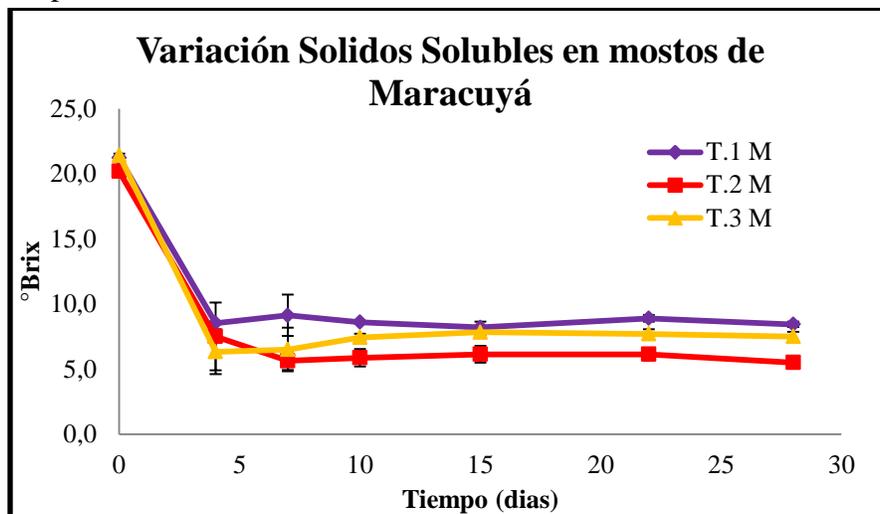
Se destaca el comportamiento de T2, ya que dicho mosto presenta valores de sólidos solubles por debajo de los otros tratamientos, a pesar de iniciar con 20°Brix aproximadamente, esto muestra que el consumo de carbohidratos por parte de las levaduras fue más acelerado, debido probablemente a la presencia de monosacáridos identificados en el pericarpio del maracuyá se encuentran ramnosa, fructosa, arabinosa, xilosa, manosa, galactosa, glucosa (Rodríguez 2012), posiblemente la presencia de éstos favorece el crecimiento de la cepa de levadura empleada en este proyecto.

Además, T2 durante la fermentación tanto de maracuyá como de cholupa en los primeros 2 días se observó un activo burbujeo que se apreció en el recipiente de vidrio y en la trampa adaptada evidenciando que la producción de CO<sub>2</sub> fue inmediata.

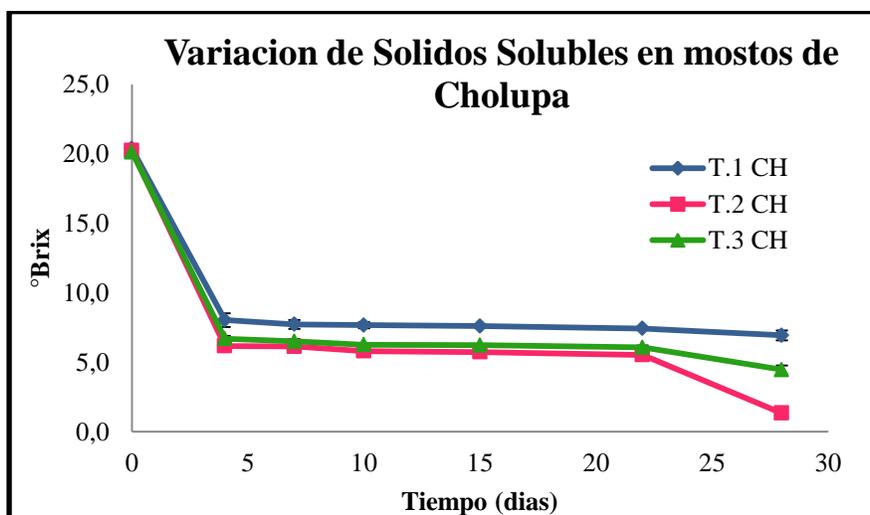
Madigan *Et al.* (2009) afirman que en el proceso de fermentación de frutas, la glucosa y fructosa presente en el medio se transforma en CO<sub>2</sub> y alcohol y como resultado disminuye los sólidos solubles. Luego del descenso presentado se observó una tendencia constante sin

variaciones significativas, debido posiblemente por la acción antiséptica que genera el alcohol producido, limitando así el crecimiento de la población de levaduras (López 2012). Aunque según Blouin (2003), esto es un comportamiento normal, debido a que en las últimas etapas del proceso, el contenido de azúcar varía muy poco mientras que el contenido aromático aumenta considerablemente.

**Figura 24.** Variación de los Sólidos solubles (°Brix) en los tratamientos de Maracuyá a través del tiempo



**Figura 25.** Variación de los sólidos solubles en tratamientos de Cholupa durante la fermentación



### 4.3.2 pH

El pH inicial para los tratamientos de maracuyá fue  $2.75 \pm 0.04$  para T1 (Pulpa),  $4.71 \pm 0.07$  para T2 (Cáscara) y  $2.92 \pm 0.08$  para T3 (Pulpa+ Cáscara), los valores de pH más bajo presentado son los de los tratamientos que contienen cáscara.

Para la cholupa se tuvieron valores de  $3.45 \pm 0.06$  para T1,  $5.17 \pm 0.03$  para T2 y  $3.61 \pm 0.03$  para T3; el valor de pH más alto lo presentó el tratamiento que contenía solo cáscara.

A continuación en la tabla 9 y 10 se reportan los valores de pH de los tratamientos de maracuyá y cholupa durante el tiempo de fermentación;

**Tabla 9.** Variación de pH en los tratamientos de Maracuyá.

MARACUYÁ		pH		
Tratamiento	T1	T2	T3	
Tiempo	Media±D.E	Media±D.E	Media±D.E	
0	$2,75 \pm 0,04^a$	$4,71 \pm 0,07^a$	$2,92 \pm 0,08^a$	
4	$3,03 \pm 0,06^b$	$3,40 \pm 0,18^b$	$3,27 \pm 0,03^b$	
7	$2,94 \pm 0,03^c$	$3,50 \pm 0,07^{bc}$	$3,29 \pm 0,04^b$	
10	$3,14 \pm 0,03^{de}$	$3,53 \pm 0,07^{bc}$	$3,37 \pm 0,01^c$	
15	$3,12 \pm 0,03^d$	$3,57 \pm 0,07^{bcd}$	$3,30 \pm 0,01^b$	
22	$3,16 \pm 0,03^{de}$	$3,67 \pm 0,10^{cd}$	$3,41 \pm 0,02^c$	
28	$3,20 \pm 0,03^e$	$3,71 \pm 0,09^d$	$3,39 \pm 0,02^c$	

D.E.: Desviación Estándar; a, b, c, d, e. Letras diferentes en la misma columna indican cambios estadísticamente significativos entre sí ( $P < 0,05$ );  $\bar{x} \pm 5$ .

Los valores de pH de los tratamientos de maracuyá al ser analizados estadísticamente mostraron los siguientes resultados; se tuvo diferencias estadísticamente significativas entre el día 0 y los demás días para los tres tratamientos, estas variaciones están correlacionadas con el comportamiento de los sólidos solubles a través del tiempo, las cuales son más notorios los primeros 4 días.

En T1 se encontraron diferencias entre los días 4-7, 4-10, 4-15, 4-22, 4-28, 7-10 7-15, 7-22, 7-28 y 15-28. Para T2 las diferencias estuvieron entre los días 4-22, 4-28, 7-28 y 10-28. El T3 mostró que los días 4, 7 y 15 se identificaban como un grupo homogéneo y presentaban diferencias significativas con los días 10, 22 y 28 (Tabla 9).

Con base en estos resultados se concluye que en T1 y T3 la acidez fue disminuyendo a medida que transcurría la fermentación, pero en T2 esta fue aumentando, aun así los tres tratamientos se mantienen ligeramente ácidos con valores de pH menores a 4.

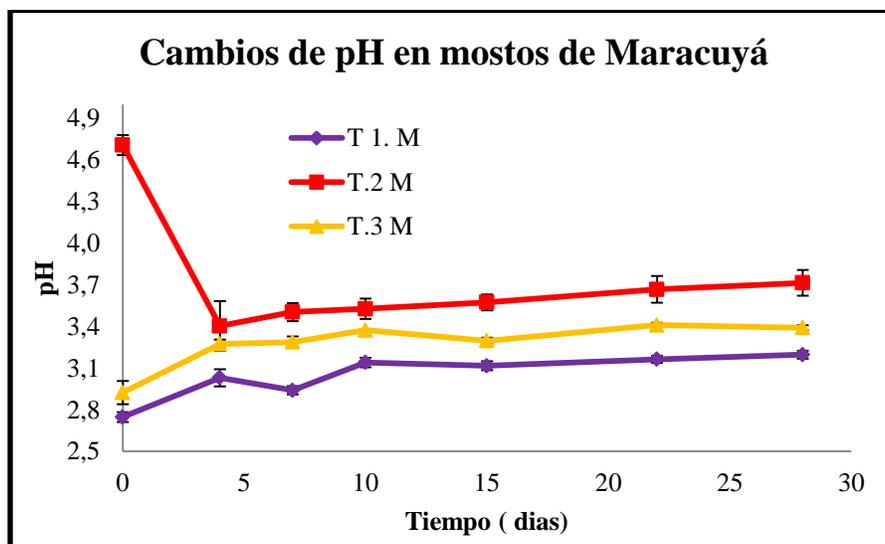
**Tabla 10.** Variación de pH en tratamientos de Cholupa

CHOLUPA		pH		
Tratamiento	T1	T2	T3	
Tiempo	Media±D.E	Media±D.E	Media±D.E	
0	3,45±0,06 <sup>a</sup>	5,17±0,03 <sup>a</sup>	3,61±0,03 <sup>a</sup>	
4	3,39±0,05 <sup>ab</sup>	3,86±0,02 <sup>b</sup>	3,58±0,02 <sup>b</sup>	
7	3,38±0,05 <sup>ab</sup>	3,81±0,02 <sup>bc</sup>	3,57±0,02 <sup>b</sup>	
10	3,34±0,03 <sup>bc</sup>	3,78±0,03 <sup>cd</sup>	3,56±0,02 <sup>b</sup>	
15	3,32±0,05 <sup>bc</sup>	3,76±0,02 <sup>d</sup>	3,55±0,01 <sup>b</sup>	
22	3,30±0,05 <sup>c</sup>	3,70±0,04 <sup>e</sup>	3,47±0,02 <sup>c</sup>	
28	3,09±0,02 <sup>d</sup>	3,66±0,05 <sup>e</sup>	3,24±0,03 <sup>d</sup>	

D.E.: Desviación Estándar; a, b, c, d, e. Letras diferentes en la misma columna indican cambios estadísticamente significativos entre sí ( $P < 0,05$ );  $\bar{x} \pm 5$ .

Para los tratamientos de cholupa se observa que en T2 y T3, existen diferencias entre el día 0 y los demás días teniendo un comportamiento similar, pero en T1 los que días 0, 4 y 7 no presentan diferencias, con los demás días si existe variación. En los tres tratamientos de cholupa los valores de pH van descendiendo sin diferencias significativas durante los días de fermentación aumentando su ligeramente la acidez, aunque al igual que los tratamientos de maracuyá se mantienen con valores finales de pH menores a 4 (Tabla 10).

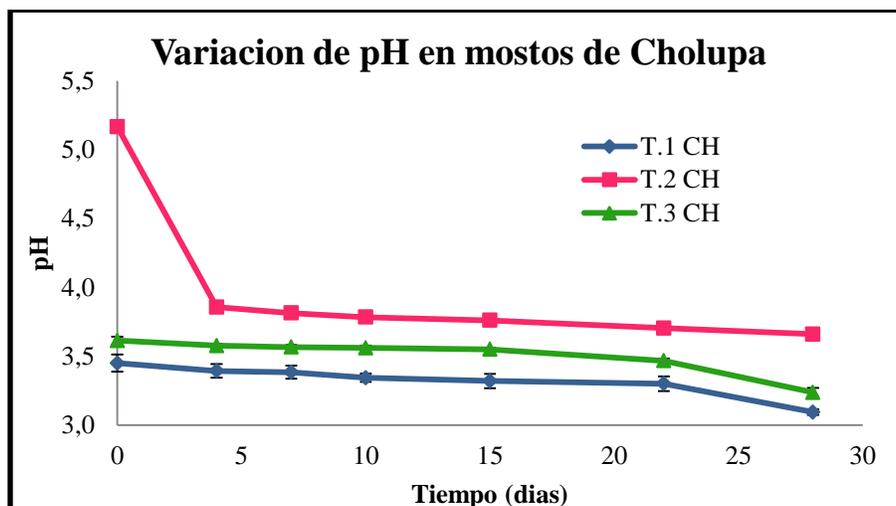
**Figura 26.** Variación de pH en tratamientos de Maracuyá durante la fermentación



En la figura 26, se puede observar que el pH disminuye para T2 entre el tiempo 0 a los 4 días y después se aprecia un incremento. Para T1 y T3 se observa un aumento constante,

teniendo fluctuaciones no significativas durante los 30 días de fermentación, esto debido probablemente a la naturaleza ácida de la fruta.

**Figura 27.** Variación del pH en los tratamientos de Cholupa



En el caso de la cholupa, figura 27, el comportamiento del pH es opuesto al del maracuyá, ya que tiene una tendencia a disminuir en los 3 tratamientos, aun así los valores registrados durante los días de fermentación son más altos que los obtenidos en el maracuyá; mostrando que el maracuyá es más ácido que la cholupa, pero según las figuras 26 y 27, los T1 de pulpa tiene valores por debajo de T2 y T3 que contienen cáscara, lo que supone que la pulpa de las pasifloras tiene un componente ácido.

Comparando los valores obtenidos de pH con los establecidos por la NTC-708 (2.8-4.0), se observa que tanto para los tratamientos de maracuyá como de cholupa, T1 y T3 se encuentran dentro de la norma; por otro lado el tratamiento 2 está por encima del rango máximo establecido, especialmente en la cholupa, por lo que se tendría que modificar el pH de T2, para que fuera apto y estuviera dentro de la normatividad.

### 4.3.3 Acidez Titulable

En la Tabla 11 y 12, se observan los valores promedios de Acidez Titulable registrados durante los 30 días de fermentación de maracuyá y cholupa:

**Tabla 11.** Variación de la Acidez Titulable en tratamientos de Maracuyá.

<b>MARACUYÁ Acidez titulable (%Ácido Cítrico)</b>			
<b>Tratamiento</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>
<b>Tiempo</b>	<b>Media±D.E</b>	<b>Media±D.E</b>	<b>Media±D.E</b>
<b>0</b>	3,14±0,33 <sup>a</sup>	0,03±0,01 <sup>a</sup>	1,63±0,14 <sup>a</sup>
<b>4</b>	2,50±0,07 <sup>b</sup>	0,41±0,07 <sup>b</sup>	1,46±0,16 <sup>ab</sup>
<b>7</b>	2,24±0,13 <sup>b</sup>	0,27±0,01 <sup>c</sup>	1,50±0,07 <sup>ab</sup>
<b>10</b>	2,53±0,21 <sup>bc</sup>	0,24±0,04 <sup>c</sup>	1,49±0,09 <sup>ab</sup>
<b>15</b>	3,01±0,22 <sup>a</sup>	0,45±0,08 <sup>b</sup>	2,21±0,03 <sup>b</sup>
<b>22</b>	2,93±0,39 <sup>ac</sup>	0,29±0,04 <sup>c</sup>	1,49±0,15 <sup>ab</sup>
<b>28</b>	2,26±0,09 <sup>c</sup>	0,32±0,04 <sup>c</sup>	1,36±0,20 <sup>c</sup>

D.E.: Desviación Estándar; a, b, c, d. Letras diferentes en la misma columna indican cambios estadísticamente significativos entre sí ( $P < 0,05$ );  $\bar{x} \pm 5$ .

El comportamiento de la acidez titulable analizado estadísticamente dio como resultado que T1 de maracuyá presentó diferencias significativas entre los días 0-4, 0-7, 0-10 y 0-28. Para T2 se tuvieron diferencias entre el día 0 y los otros días, además entre los días 4 y 7. El T3 presentó variaciones significativas entre los días 0-15, 0-28 y 15-28 (Tabla 11). Los valores de acidez titulable están correlacionados con los valores de pH obtenidos, con base a esto se observa que para T1 y T3 la acidez va disminuyendo a medida que el pH aumenta y para T2 el pH disminuye mientras la acidez aumenta (Tabla 8), esto se debe posiblemente a la acción metabólica de las levaduras, en su acción de transformar carbohidratos en alcohol durante la fermentación.

**Tabla 12.** Variación de acidez titulable en tratamientos de Cholupa.

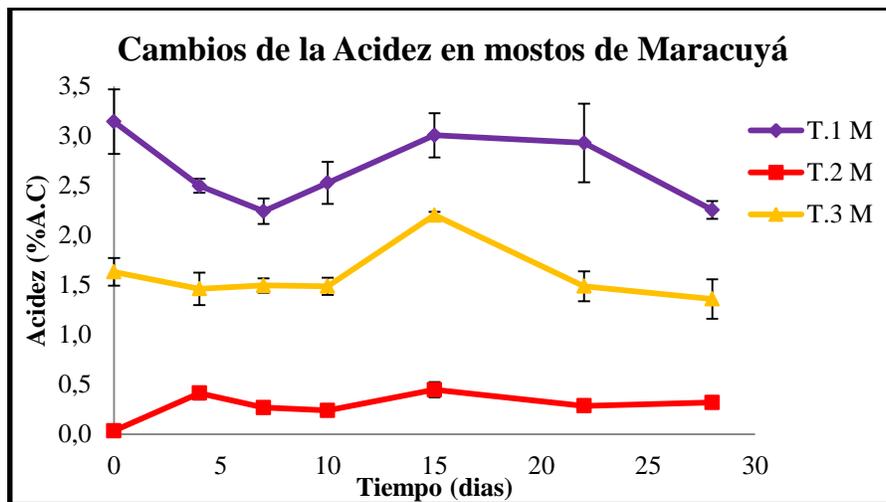
<b>CHOLUPA Acidez titulable (% Acido Cítrico)</b>			
<b>Tratamiento</b>	<b>T1</b>	<b>T2</b>	<b>T3</b>
<b>Tiempo</b>	<b>Media±D.E</b>	<b>Media±D.E</b>	<b>Media±D.E</b>
<b>0</b>	1,68±0,13 <sup>a</sup>	0,08±0,10 <sup>a</sup>	0,78±0,05 <sup>a</sup>
<b>4</b>	1,41±0,13 <sup>c</sup>	0,44±0,03 <sup>b</sup>	1,09±0,14 <sup>cd</sup>
<b>7</b>	1,37±0,12 <sup>c</sup>	0,33±0,07 <sup>c</sup>	0,92±0,11 <sup>abcd</sup>
<b>10</b>	1,60±0,15 <sup>ab</sup>	0,39±0,04 <sup>bc</sup>	0,84±0,16 <sup>ab</sup>
<b>15</b>	1,77±0,03 <sup>a</sup>	0,41±0,07 <sup>bc</sup>	1,00±0,00 <sup>bcd</sup>
<b>22</b>	1,46±0,05 <sup>bc</sup>	0,33±0,01 <sup>c</sup>	0,89±0,05 <sup>abc</sup>
<b>28</b>	1,66±0,07 <sup>a</sup>	0,38±0,06 <sup>bc</sup>	1,10±0,17 <sup>d</sup>

D.E.: Desviación Estándar; a, b, c, d. Letras diferentes en la misma columna indican cambios estadísticamente significativos entre sí ( $P < 0,05$ );  $\bar{x} \pm 5$ .

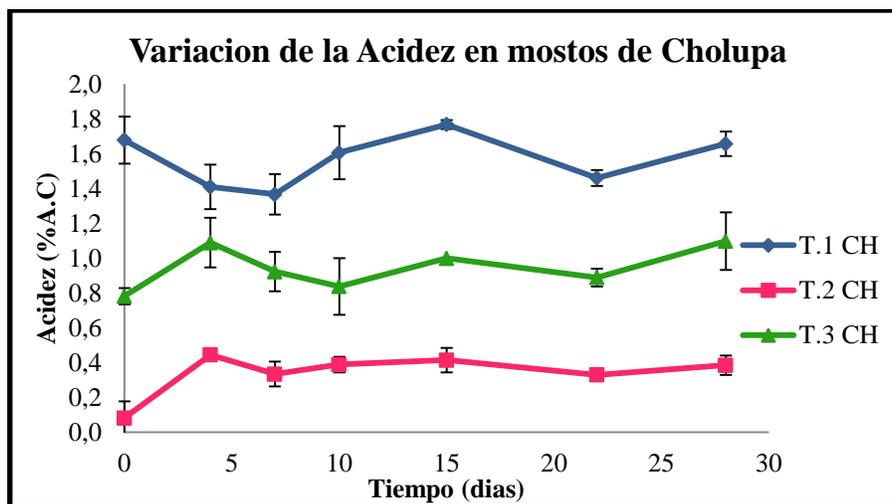
La tabla 12 muestra las diferencias significativas presentes en los tratamientos de cholupa, T1 presentó diferencias los días 0-4, 0-7 y 0-22. En T2 hubo diferencias entre los días 0-4, 0-

7 y 4-22; por ultimo en T3 se tuvo variaciones significativas entre los días 0-4, 0-15, 0-28 y 4-10.

**Figura 28.** Cambio de acidez titulable en tratamientos de Maracuyá



**Figura 29.** Cambio de acidez titulable en tratamientos de Cholupa



En las figuras 28 y 29 se puede observar que para los ensayos de maracuyá se da un descenso de acidez, mientras que los de cholupa tienen tendencia a aumentar; según Suarez (2003), la tendencia a disminuir se da como resultado de la fermentación maloláctica, en la que el ácido málico se transforma en ácido láctico y carbónico; de esta interacción resulta una pérdida en la acidez fija, ya que el ácido málico contiene dos funciones ácidas mientras que el ácido láctico contiene solo una, esto quiere decir que una parte de la acidez se transforma en gas carbónico el cual se desprende y se elimina.

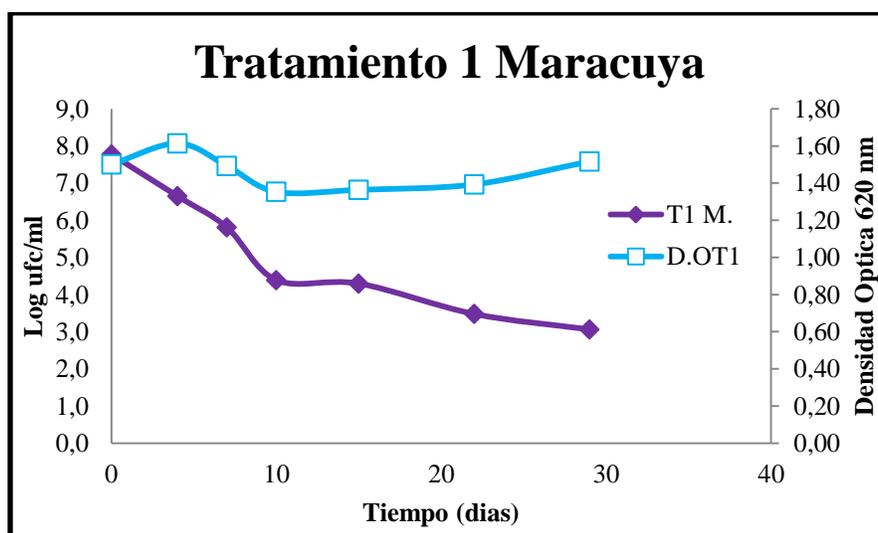
El incremento de la acidez en los días 7, 10 y 15 en el tratamiento 1 de maracuyá y cholupa se puede haber ocasionado por la formación de subproductos ácidos durante esta etapa de la fermentación.

Se muestra que T2 de cáscara, tanto para el maracuyá como la cholupa tiene una acidez por debajo de los otros tratamientos, lo cual es consecuente con los valores de pH obtenidos, ya que según Amerine, (1976) mientras más bajo es el pH mayor debe ser el aumento de la acidez. Cabe resaltar que un vino de consumo corriente es más agradable y digestivo si su acidez es algo elevada (Ribereau-Gayón *et al.*, 1976).

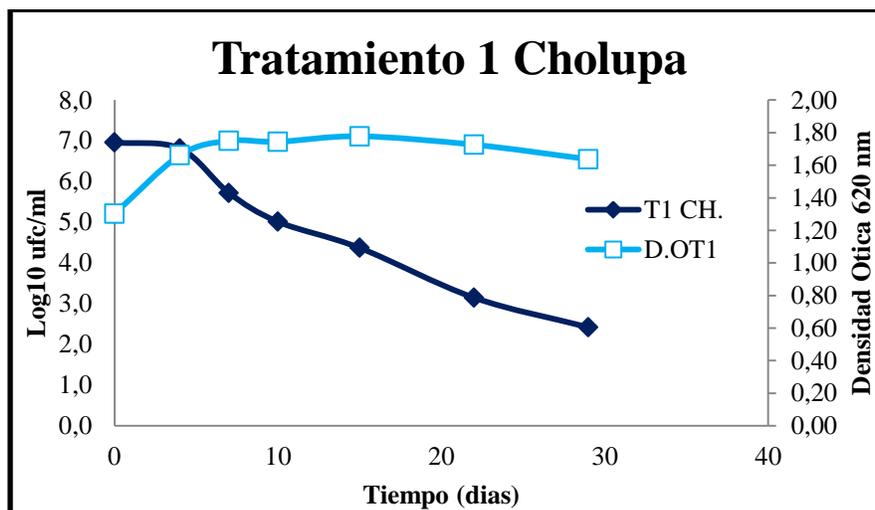
#### 4.4 Crecimiento microbiano

A partir del seguimiento de la actividad de las levaduras a lo largo del proceso de fermentación (Anexo I), se encontró el siguiente comportamiento medido en Logaritmo en base 10 unidades formadoras de colonias por mililitro ( $\text{Log}_{10}$  ufc/ml) y Densidad óptica (D.O).

**Figura 30.** Curva de crecimiento de levaduras y densidad óptica en T 1 de Maracuyá.



**Figura 31.** Curva de crecimiento de levaduras y densidad óptica en T1 de Cholupa.



En la figura 30, se observa el crecimiento de las levaduras en pulpa de maracuyá (tratamiento 1), durante el proceso se visualizó un recuento en el tiempo 0 fue de 7,9 Log UFC/ml y descendió hasta finalizar la fermentación en el día 30 a un valor de 3.1 Log UFC/ml, mostrando que las células viables de esta cepa empleada normalmente en procesos de panificación no presenta la curva característica de cinética microbiana por la técnica de recuento en placa planteada por Madigan *et al.* 2009, lo cual muestra que esta cepa de levadura *S. cerevisiae* no presenta el mejor desarrollo en los tratamientos realizadas con las pasifloras.

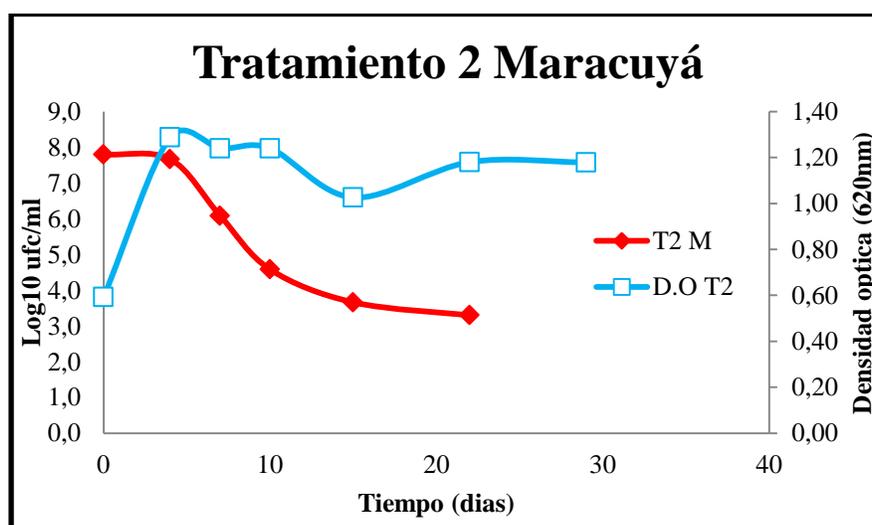
Al realizar la medición de absorbancia de este tratamiento, se aprecia que entre el tiempo 0 y 4 días se presenta crecimiento exponencial de las levaduras y a partir de allí hasta el tiempo 30 se da la muerte de las levaduras, mostrando la tendencia de crecimiento microbiano. A partir de la medición de la densidad óptica, se encuentra que la cepa de levadura marca fleischman empleada en la fermentación de alimentos como el pan a los 4 días alcanza el valor máximo de su población; a partir de este momento la población decrece debido a los metabolitos generados, entre ellos el etanol.

En la gráfica 31, de cholupa podemos identificar parte de la fase estacionaria de una curva típica de crecimiento microbiano, que va desde el día 0 hasta el día 4, a partir de este día se aprecia un descenso hasta el día 30; mostrando que la levadura empleada en este tratamiento solo logra mantener la población de células viables constante durante 4 días y a partir de este día se observa la fase de muerte. Midiendo la absorbancia en este tratamiento, se muestra que la fase de crecimiento exponencial alcanza el valor máximo el día 7, la fase estacionaria se mantiene entre los días 7 y 22, la fase de muerte se aprecia del día 22 al 30.

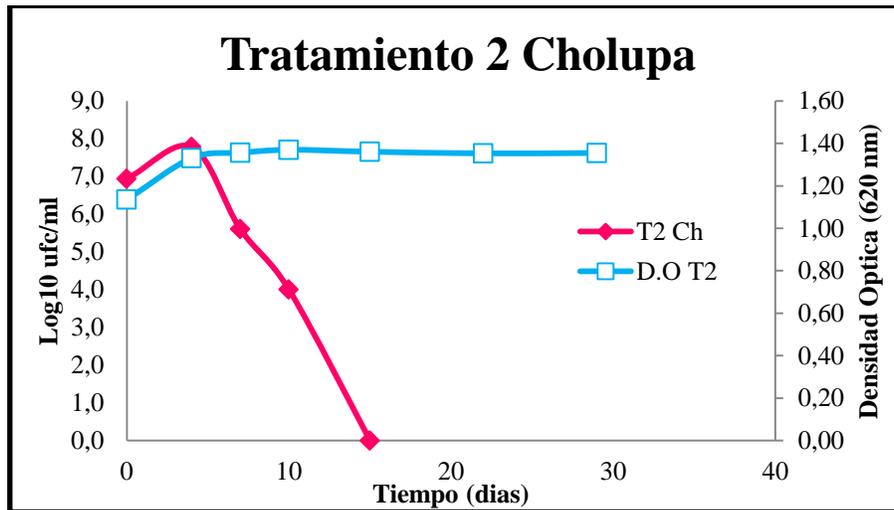
En este tratamiento, la producción de etanol afectó la población de levadura después de 22 días.

Al comparar las curvas obtenidas por la técnica de recuento en placa y la medida de absorbancia, se considera que la primera técnica muestra el crecimiento de levaduras viables y por medio de la medida de absorbancia se cuantifica tanto las levaduras viables cultivables como las viables no cultivables. Se considera que los componentes de maracuyá y cholupa como la producción de etanol afecta la cultivabilidad de este tipo de levadura. Es de destacar la variación del comportamiento de las levaduras en función del medio de cultivo empleado, en el caso del presente estudio se hizo evidente entre los tratamientos de pulpa para maracuyá y cholupa.

**Figura 32.** Curva de crecimiento de levaduras y densidad óptica en T2 de Maracuyá.



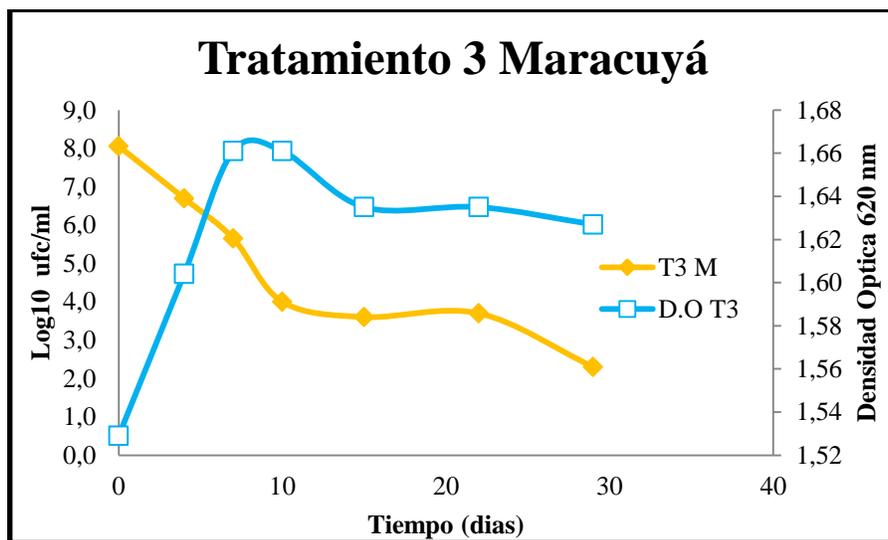
**Figura 33.** Curva de crecimiento de levaduras y densidad óptica en T2 de Cholupa.



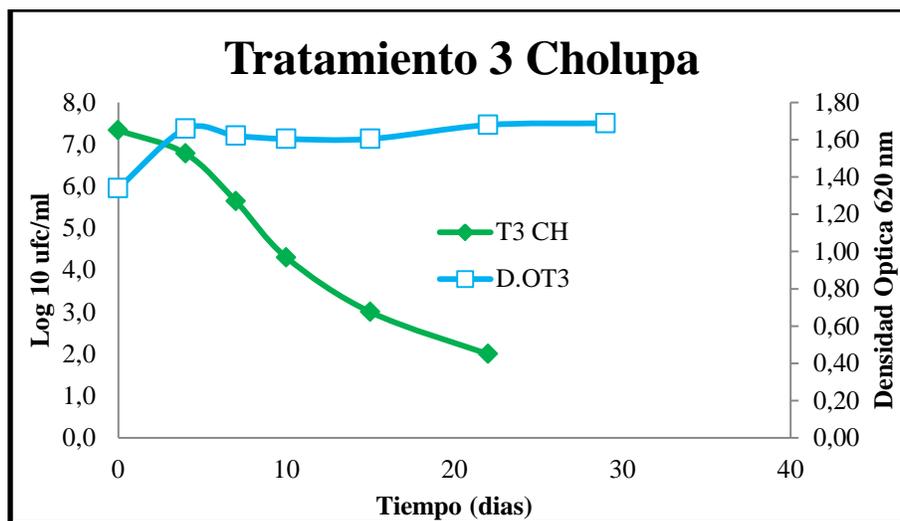
En la figura 32, a partir de la técnica de recuento en placa, se observa una fase estacionaria desde día 0 hasta día 4, allí la población de levaduras viables cultivables disminuyen su metabolismo ya sea por la limitación de nutrientes por parte del medio donde se desarrollan, o posiblemente por presentar un alto nivel de alcohol que limitara su velocidad de multiplicación, en pocas palabras los microorganismos del sistema entran en un estrés nutricional; entrando a la fase de muerte explicada anteriormente, a partir del día 22 no hay presencia de levaduras viables cultivables. Al medir la absorbancia, se aprecia la fase exponencial hasta el día 4; la fase estacionaria se da hasta el día 10 y después se observa la fase de muerte.

En T2 de la cholupa, en la figura 33, los resultados encontrados por medio de la técnica de recuento en placa, la fase exponencial llega a su máximo el día 4 y a partir de ese día se aprecia la fase de muerte. En cuanto que, con la medida de absorbancia la fase exponencial se aprecia la máxima población de levaduras viables cultivables y no cultivables el día 10; manteniéndose la fase estacionaria hasta el día 30.

**Figura 34.** Curva de crecimiento de levaduras y densidad óptica en T3 de Maracuyá.



**Figura 35.** Curva de crecimiento de levaduras y densidad óptica en T3 de Cholupa.



En las figuras 34 y 35, en los tratamientos de maracuyá y cholupa se puede definir claramente que las levaduras perdieron capacidad de duplicarse, cabe resaltar que las células viables cultivables para maracuyá estuvieron presentes hasta la finalización del proceso fermentativo, mientras que para la cholupa crecieron en placa solo hasta un tiempo de 22 días luego se perdió esta facultad.

Por otro lado la absorbancia, observada en la figura 34, presenta un incremento desde día 0 hasta un día 7, luego de esto se ve una caída que representa una notable transparencia del vino, posiblemente porque el día 15 se tomó la muestra sin realizar previa homogenización

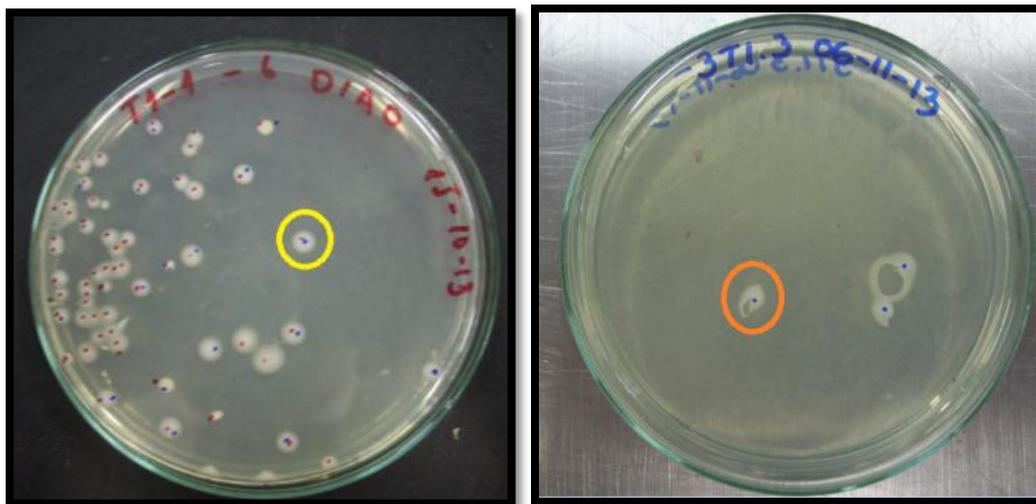
del sobrenadante y la fracción sedimentada, mostrando un comportamiento atípico; después de este tiempo la turbidez incrementa por el proceso del trasiego, que hace que las levaduras que se encuentran en el fondo del montaje se homogenicen con el medio.

En la figura 35, para el tratamiento 3 de cholupa el máximo crecimiento se aprecia el día 4, entre los días 4 y 30 se observa una fase estacionaria.

#### 4.4.1 Descripción morfológica de levaduras en placa.

En las muestras tomadas en todos los tratamientos de maracuyá y cholupa, después de la siembra realizada en el agar YGC y transcurrido el tiempo de incubación, se observó colonias de entre 1-5 mm de diámetro, con una coloración lechosa o blanquecina y tiene formas elíptica y redonda característica de la especie *Saccharomyces cerevisiae*; de acuerdo a García (2004) la mayoría de las colonias jóvenes de levaduras son redondas con diámetros de 2-3 mm, color blancuzco y consistencia cremosa, igual a las observadas en la investigación (Figura 36).

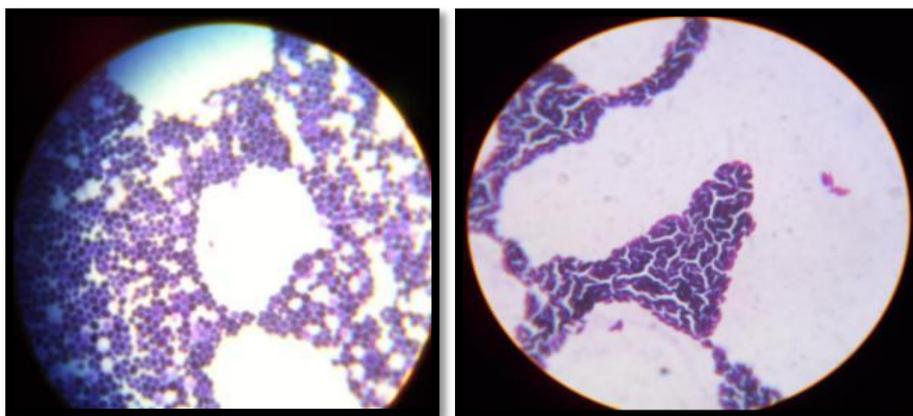
**Figura 36.** Crecimiento de Levaduras Fleischman aisladas de bebidas fermentadas de maracuyá y cholupa en agar YGC.



#### 4.4.2 Tinción de Gram

Con el fin de describir las características microscópicas de las levaduras empleadas en el proceso de fermentación de las bebidas fermentadas de maracuyá y cholupa, se tomaron muestras aisladas y superficiales de las colonias sembradas a partir de los tratamientos planteados para realizar la tinción Gram y se observó en microscopio electrónico que las levaduras obtenidas son gram positivas (Figura 37). En todos los tratamientos, se encontró las características antes mencionadas, mostrando que se trata de la levadura inoculada desde el principio del proceso de fermentación.

**Figura 37.** Tinción de levaduras.



#### 4.5 Destilación

En la tabla 13, se observa los volúmenes obtenidos luego de la destilación realizada en el equipo Soxhlet a una muestra de 750 ml de vino de maracuyá y cholupa;

**Tabla 13.** Volumen obtenido en la destilación.

TRATAMIENTO	VOLUMEN DE MUESTRA (ml)	VOLUMEN DE ALCOHOL DESTILADO (ml)
<b>MARACUYÁ</b>		
T1 Pulpa	750	74 (9,9%)
T2 Cáscara	750	80 (10,7%)
T3 Cáscara + Pulpa	750	76 (10,1%)
<b>CHOLUPA</b>		
T1 Pulpa	750	80 (10,7%)
T2 Cáscara	750	95 (12,7%)
T3 Cáscara + Pulpa	750	110 (14,7%)

Se observa que de los tres tratamientos de maracuyá, T2 de cáscara es en el que se obtuvo la mayor cantidad de alcohol, representando el 10,7% del volumen total, aunque los otros dos tratamientos tuvieron porcentajes cercanos, el T1 con el 9,9% y el T3 con 10,1%.

En los tratamientos de cholupa se obtuvo porcentajes más altos de alcohol comparados con el maracuyá, siendo T3 que contenía cáscara y pulpa, el que mayor cantidad de alcohol se obtuvo, con un porcentaje del 14,7%; T1 con un 10,7% y T2 un 12,7%. Siendo porcentajes aceptables, según la NTC 708 para vinos de frutas, la cual estipula un rango mínimo de 8, pero sin rango máximo para este tipo de bebidas alcohólicas.

#### 4.5.1 Densidad del Alcohol

En la tabla 14 se tienen los valores obtenidos de la densidad del alcohol destilado de los vinos de maracuyá y cholupa, calculado por el método del picnómetro que se encuentra en el Anexo E;

**Tabla 14.** Densidad del Alcohol

Tratamiento	Peso Picnómetro vacío P <sub>v</sub> (gr)	Peso Picnómetro lleno P (gr)	Volumen Picnómetro (ml)	Densidad $\delta$ (gr/cm <sup>3</sup> )
<b>Maracuyá</b>				
T1	27,715	72,260	50	0,890
T2	27,715	72,292	50	0,891
T3	27,715	72,262	50	0,890
<b>Cholupa</b>				
T1	27,715	72,293	50	0,891
T2	27,715	72,292	50	0,891
T3	27,715	72,292	50	0,891

Se observa que los valores de densidades de las bebidas son cercanos, y en la mayoría de los tratamientos iguales, esto debido posiblemente a que se utilizó la misma marca de levadura, azúcar y frutas de la misma familia.

Comparando estos valores con la densidad del etanol (0.793), se puede decir que el alcohol obtenido no presenta riesgos para la salud, es apto para consumo humano y con algunas mejoras, puede ser comercializado. Se recomienda en posteriores investigaciones realizar pruebas para la caracterización del tipo de alcohol obtenido.

#### 4.5.2 Grado de Alcohol

Utilizando la ecuación de Gay Lussac (Anexo F), se obtuvo los grados de alcohol promedio de las bebidas fermentadas de maracuyá y cholupa los cuales se encuentran a continuación en la tabla 15;

**Tabla 15.** Grados alcohólicos

Tratamiento	Grados Gay Lussac
<b>Maracuyá</b>	
T1	10°
T2	11°
T3	11°
<b>Cholupa</b>	
T1	11°
T2	13°
T3	15°

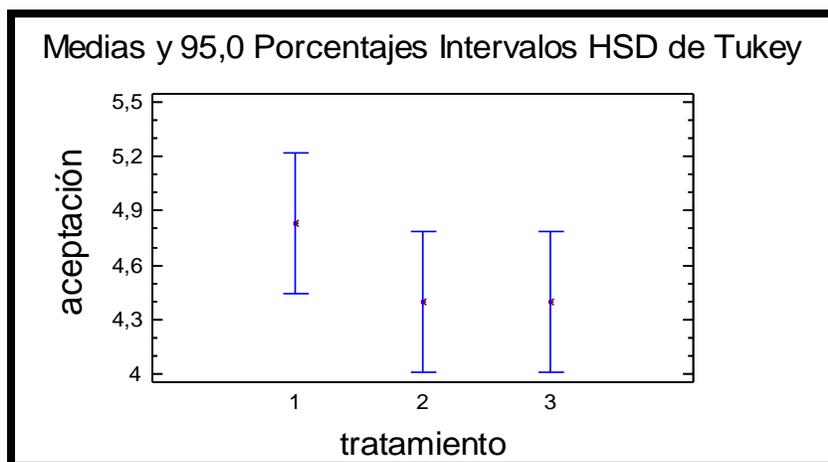
Los grados de alcohol obtenidos se encuentran dentro del rango establecido por la NTC 708 que tiene como mínimo 6. Se puede decir que se obtuvo una bebida fuerte con alto grado de alcohol, específicamente T3 de cholupa, lo cual daría otra alternativa de utilización de este alcohol como biocombustible.

#### 4.6 Análisis sensorial

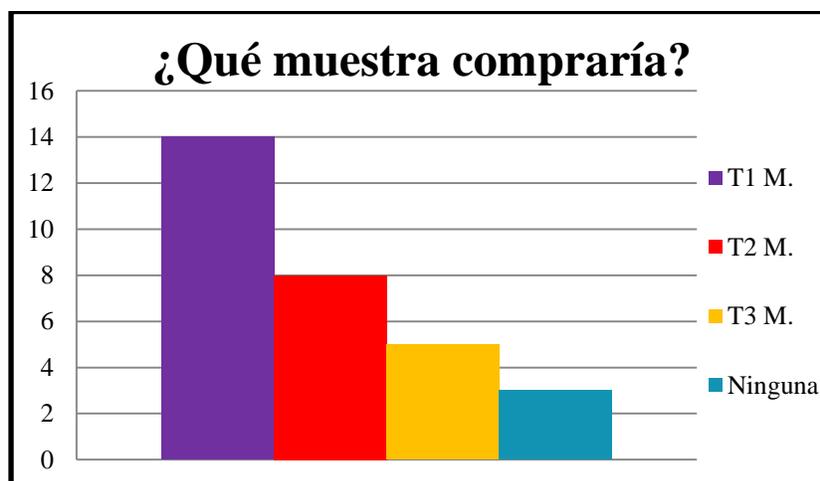
El tiempo de maduración hace que se desarrollen y acentúen aromas y sabores especiales a la hora de catar el vino. La prueba afectiva se llevó a cabo con 30 jueces no entrenados presentándose en un día las tres bebidas fermentadas de maracuyá y en otro las tres de cholupa.

Se observa en la figura 38 (Anexo J) que los tres tratamientos de maracuyá no presentan diferencias estadísticamente significativas entre medias de las muestras en cuanto a aceptación, aunque cabe destacar que T1 (pulpa) fue el que mayor gusto generó en los jueces y mejores comentarios por parte de ellos.

**Figura 38.** Prueba sensorial de las bebidas fermentadas de Maracuyá.



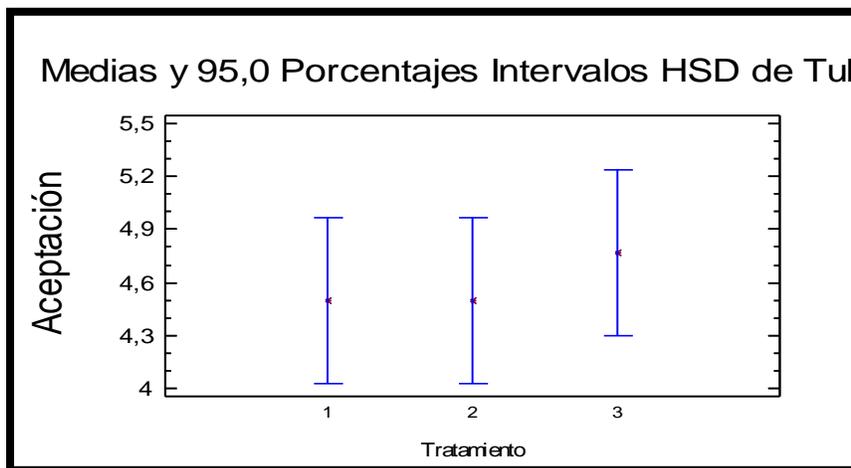
**Figura 39.** Decisión de compra de las bebidas de maracuyá según los jueces.



La figura 39 (Anexo J) confirma que T1, fue el que mayor aceptación generó en los jueces y por ende es el que se podría comercializar, teniendo en cuenta los comentarios. Para los evaluadores el color de T1, fue el más llamativo y el sabor más agradable comparado con los otros tratamientos.

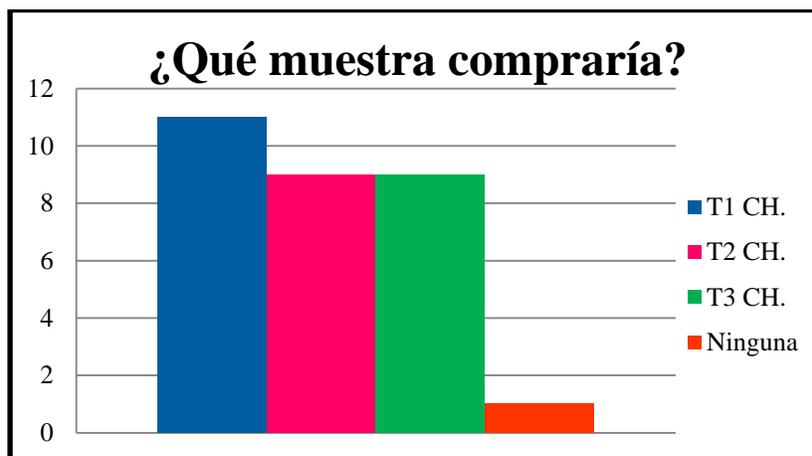
Adicionalmente, Rodríguez (2012) dice que el exocarpio de maracuyá puede aportar sabores extraños y posee una característica de impermeabilidad para protección del fruto, que puede dar colores indeseables al producto final.

**Figura 40.** Prueba sensorial de las bebidas fermentadas de Cholupa



Los tratamientos de cholupa tuvieron un comportamiento similar en la prueba sensorial de maracuyá, ya que entre tratamientos no se presenta diferencias significativas, aunque al observar la figura 40, T3 (pulpa y cáscara) presenta una mayor aceptación por encima de los otros.

**Figura 41.** Decisión de compra de las bebidas de cholupa de los jueces.



La figura 41 muestra claramente que los jueces tuvieron una inclinación de compra similar en los tres tratamientos, al igual que la aceptación y que T2 y T3 tuvieron el mismo número de jueces que estarían dispuestos a comprarlo, T1 fue el que tuvo mayor intención de compra, siendo contradictorio con la aceptación presentada ya que no fue el que tuvo

mayor nivel de aceptación. Según los comentarios de los jueces esta muestra fue la que tuvo mejor color, sabor y olor, característico de la cholupa.

#### 4.7 Rendimientos y Costos de producción

El cálculo del rendimiento permite definir si es rentable y económicamente viable la producción de vinos a partir de las frutas escogidas, en la tabla 16 se muestra el resumen del rendimiento obtenido;

**Tabla 16.** Rendimientos del vino de las frutas utilizadas.

<b>RENDIMIENTOS OBTENIDOS</b>			
<b>Tratamiento</b>	<b>Mosto Inicial (ml)</b>	<b>Vino Final (ml)</b>	<b>Rendimiento (%)</b>
<b>Maracuyá</b>			
<b>T1 pulpa</b>	7500	6250	83,33
<b>T2 cáscara</b>	7500	4200	56
<b>T3 cáscara + pulpa</b>	7500	4410	58,8
<b>Cholupa</b>			
<b>T1 pulpa</b>	7500	5600	74,66
<b>T2 cáscara</b>	7500	3010	40,13
<b>T3 cáscara + pulpa</b>	7500	4100	54,66

Se observa en la tabla 16, que el rendimiento más alto se obtuvo en los tratamientos que contenían solo pulpa, tanto en maracuyá como en cholupa siendo el primero de mejor rendimiento. Los tratamientos que contenían cáscara tuvieron rendimientos aceptables considerando que es un subproducto que no representa ningún valor, lo que muestra que es viable para ser utilizado en este tipo de bebidas.

La tabla 17 muestra a continuación el costo neto aproximado por botella/tratamiento, que se encuentra descrito en el Anexo L;

**Tabla 17.** Costo neto por botella/tratamiento

<b>V. NETO (\$)</b>	
<b>MARACUYÁ</b>	
<b>T1</b>	\$ 5.489
<b>T2</b>	\$ 5.500
<b>T3</b>	\$ 6.203
<b>CHOLUPA</b>	
<b>T1</b>	\$ 5.692
<b>T2</b>	\$ 8.433
<b>T3</b>	\$ 6.568

Se observa que los tratamientos con mejores rendimientos (Tabla 16) presentaron menores costos, la botella más costosa de bebida fermentada de maracuyá fue la del tratamiento 3, que a pesar de tener mejor rendimiento que el tratamiento 2, utilizó mayor cantidad de fruta lo que aumentó su costo (Anexo L). En el caso de la cholupa el tratamiento 2 presentó el costo más elevado, ya que su rendimiento fue relativamente bajo comparado con los tratamientos 1 y 3, esto se debe a que se necesitó de mayor cantidad de azúcar para obtener los sólidos solubles iniciales requeridos aumentando el costo neto.

A continuación en la tabla 18 se tienen los costos totales de producción de las 37 botellas de bebidas fermentadas de maracuyá y cholupa;

**Tabla 18.** Costos totales de producción de vinos de maracuyá y cholupa

<b>COSTOS TOTALES DE PRODUCCIÓN</b>	
<b>COSTOS DIRECTOS E INDIRECTOS</b>	\$ 232.807
<b>COSTOS MANO DE OBRA</b>	\$ 1.000.000
<b>COSTOS DE SERVICIOS ESTIMADO (Agua-Energía)</b>	\$ 30.000
<b>TOTAL</b>	<b>\$ 1.262.807</b>

La mano de obra representó el mayor gasto a la hora de producir las bebidas fermentadas, debido al tiempo empleado (Anexo L). Cabe resaltar que al aumentar el volumen de producción los costos se reducen y hacen más rentable la iniciativa.

## 5. CONCLUSIONES

- ◆ A partir de la presente investigación se fabricó y caracterizó bebidas fermentadas de maracuyá y cholupa, para el maracuyá, se obtiene tres tipos de bebidas fermentadas, la primera realizada con mosto de pulpa con  $3,2 \pm 0,03$  de pH;  $2,3 \pm 0,09$  de acidez titulable y 8,4% de sólidos solubles, la segunda con mosto de cáscara con  $3,7 \pm 0,09$  de pH;  $0,3 \pm 0,04$  de acidez titulable y 5,5% de sólidos solubles y una tercera desarrollada con mosto de 50% pulpa y 50% cáscara con las siguientes características,  $3,4 \pm 0,02$  de pH;  $1,4 \pm 0,20$  de acidez titulable y 7,5% de sólidos solubles. Cada uno de los tratamientos presentaron las características aromáticas típicas del maracuyá.
- ◆ Para la cholupa se utilizó las mismas proporciones de los mostos para desarrollar las bebidas fermentadas, teniendo como resultado una primera bebida con  $3,1 \pm 0,02$  de pH; acidez titulable de  $1,7 \pm 0,10$  y 6,9% de sólidos solubles, la segunda con  $3,7 \pm 0,05$  de pH; acidez titulable de  $0,4 \pm 0,06$  y 1,3% de sólidos solubles y una tercera con  $3,2 \pm 0,03$  de pH; acidez titulable de  $1,1 \pm 0,17$  y 4,5% de sólidos solubles, cada uno de los vinos con las características aromáticas propias de la cholupa.
- ◆ El volumen de alcohol obtenido en las bebidas fermentadas de maracuyá fue 74 ml tratamiento 1, 80 ml tratamiento 2 y 76 ml tratamiento 3; en el caso de la cholupa se obtuvo volúmenes mayores, 80 ml en el tratamiento 1, 95 ml en el tratamiento 2 y 110 ml en el tratamiento 3; indicando que al variar la composición de los tratamientos se influye directamente en el volumen de alcohol final.
- ◆ Los altos volúmenes de alcohol producidos por las cáscaras de maracuyá y cholupa sugieren que dichos subproductos pueden ser utilizados como materia prima para la producción de etanol, brindando así una alternativa a los productores de éstas frutas en el manejo de estos residuos y dando un valor agregado a la producción de pasifloras.
- ◆ El crecimiento de las levaduras viables cultivables disminuye notoriamente a la tercera semana debido posiblemente al alto contenido de alcohol que las inhibe, por lo que se infiere que la fermentación se podría finalizar en la tercera semana.
- ◆ Las bebidas fermentadas de maracuyá y cholupa no presentaron diferencias estadísticamente significativas para la variable aceptación, es decir que las distintas

formulaciones fueron acogidas de forma similar por los evaluadores, siendo estos diferentes para cada una de las pruebas.

- ◆ El rendimiento fue más alto para los tratamiento 1 tanto de maracuyá como de cholupa, 83% y 74,6% respectivamente, comparados con los otros tratamientos, esto debido a la presencia de azúcares en la pulpa, que en el caso del maracuyá también están presentes en la cáscara en menor concentración. A su vez el costo por botella neto dependió del rendimiento que se obtuvo de la fruta siendo los tratamientos de maracuyá los de mayor rendimiento por ende los que menores costos tuvieron. La botella más económica fue la del tratamiento 1 de maracuyá \$5.489 y la de mayor costo fue la del tratamiento 2 de cholupa \$ 8.433.

## 6. RECOMENDACIONES

- ♣ Teniendo en cuenta el marcado descenso de sólidos solubles, pH y acidez titulable los primero 4 días de fermentación, se recomienda realizar un monitoreo cada 24 horas para apreciar mejor la variación
- ♣ Es necesario realizar más repeticiones de las variables implicadas en la fermentación, como lo son los contenidos de sólidos solubles, pH y acidez.
- ♣ Se recomienda para futuras investigaciones emplear levadura apropiada para elaboración de bebidas alcohólicas, específicas para vinos ya que en este trabajo se empleó una levadura de panificación que no está diseñada para este tipo de fermentación.
- ♣ Realizar una caracterización más avanzada a nivel de especie y cepa de bacterias, hongos y levaduras, presentes en los mostos de maracuyá y cholupa, con el propósito de conocer la flora bacteriana implicada durante este tipo de fermentación. Mediante los respectivos medios selectivos y aplicando técnicas de identificación de biología molecular.
- ♣ Evaluar el proceso de fermentación con mostos pasteurizados de zumos de maracuyá, cholupa y otras frutas de interés para obtener un producto más inocuo y así, evaluar cómo influye la pasteurización en las características organolépticas y cómo se comportan los microorganismos fermentadores después de este tratamiento térmico.
- ♣ Para próximas investigaciones de fermentación desarrolladas con subproductos, se recomienda realizar un análisis detallado de la composición química de éstos, con el fin de entender mejor su comportamiento e interacción con las levaduras en la fermentación y buscar mejores alternativas de uso.
- ♣ Evaluar diferentes porcentajes de azúcar, tiempos de fermentación y maduración con el fin de mejorar las características organolépticas y la aceptación del producto final.
- ♣ Realizar más repeticiones de cada uno de los tratamientos evaluando diferentes proporciones de fruta, levadura y azúcar con el fin de mejorar la metodología y desarrollar un vino de mayor atractivo.

- ♣ Se recomienda experimentar diferentes proporciones de pulpa y cáscara de maracuyá y cholupa, además de la mezcla de dichas pasifloras con el propósito de crear bebidas autóctonas e innovadoras que logren tener una buena aceptación.
- ♣ Como el costo de producción fue relativamente alto, se recomienda aumentar el volumen de producción para reducir costos y como alternativa para productores o sociedades.
- ♣ De acuerdo con los requisitos presentados en la tabla 4, en donde se muestra los requisitos que debe tener un vino de frutas, en esta tesis solo fue posible medir el contenido de alcohol y pH debido a que en la Universidad no se encontraron los equipos necesarios para poder evaluar los otros requisitos. Se sugiere inversión por parte de la institución para realizar las pruebas requeridas en posteriores investigaciones.
- ♣ Realizar una investigación detallada sobre la producción de alcohol a partir de cáscara de pasifloras como alternativa de biocombustible.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aguilar Morales, Afonso O. Hernández Henríquez, David R. 2006. Elaboración a nivel de laboratorio de vino a partir de fruta: manzana, naranja, papaya, pera y sandía. Tesis de pregrado en Ingeniería Química. Facultad de Ingeniería y Arquitectura. Universidad Centroamericana “José Simeón Cañas”. San Salvador. 108 p.

Alfaro, Daniel. 2011. Grados Gay. En: Scribd. <http://es.scribd.com/doc/105774919/Grados-Gay>; consultado: Mayo 2014

Amerine M.A. y Ought C.S. 1980. Methods For Analysis of Must and Wines. Wiley-Interscience Publication. E.E.U.U.

Amerine, M.A., Pangborn, R.M. y Roessler, E.B. 1965. Principles of sensory evaluation of foods. Academic press. New York.

Anzaldúa-Morales, Antonio. 1994. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Editorial Acribia S.A. Zaragoza. España. Págs. 70-77

Bedoya, D., Gomez, E., Luján, D., Salcedo, J. 2005. Producción de vino de naranja dulce (*Citrus sinensis* Osbeck) por fermentación inducida comparando dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. Temas Agrarios 10(2):26-34

Bello, O. 2011. Pectinas extraídas de cáscara de Maracuyá (*Passiflora Edulis*). En: <http://maracuyeahpectinas.blogspot.com/>; consultado: Noviembre 2013.

Blouin, Jacques. 2003. Enología Práctica, Conocimiento y elaboración del vino. Cuarta Edición. Editorial Mundi-Prensa. España. 353 p.

Boulton, B. R., V.L. Singleton, L.F. Bisson and R.E. Kunkee. 1996. Principles and Practices of Winemaking. Chapman y Hall, New York, 604pp.

Cabello P., Alejandro. 2013. Influencia del pH sobre el vino. En: <http://urbinavinos.blogspot.com/2013/04/influencia-del-ph-sobre-el-vino.html>; consultado: Febrero 2014.

Caicedo M. Luis A. 2011. Estudio comparativo de la generación de CO<sub>2</sub> en fermentaciones con células libres e inmovilizadas de *Zymomonas mobilis*. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. En: Revista Universidad Nacional. Ingeniería e Investigación; <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/ingevinv/article/view/24816/25363>; consultado: Julio 2014.

Calvo, M. 2009. Bioquímica de los Alimentos. En: <http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/programasbio.html>; consultado: Agosto 2013.

Camacho, A., Giles, A. Ortegón, M. Palao, B. Serrano y O. Velázquez. 2009. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. 2ª ed. Facultad de Química, UNAM. México.

Camacho, O. Guillermo. 2002. Procesamiento y conservación de frutas. En: Pagina Universidad Nacional de Colombia. Sede Bogotá. <http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/agronomia/2006228/teoria/obpulpfru/p6.htm>, consultado: Junio 2014.

Casa Luker. 2010. Agroindustria y Mercadeo del Maracuyá. En: Asohofrucol. [http://www.asohofrucol.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca\\_160\\_AGROINDUSTRIA\\_MERCADEO\\_MARACUYA.pdf](http://www.asohofrucol.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca_160_AGROINDUSTRIA_MERCADEO_MARACUYA.pdf); consultado: Enero 2014.

Cassano, A., E. Drioli, G. Galaverna, R. Marchelli, G. Di Silvestre y P. Cagnasso. 2003. Clarification and concentration of citrus and carrot juices by integrated membrane processes. *J. of Food Engineering*, 57: 153-163.

Clavel, Jean. 2007. Historia de la chaptalización. En: El mundo vino.com; [http://elmundovino.elmundo.es/elmundovino/noticia.html?vi\\_seccion=4&vs\\_fecha=200707&vs\\_noticia=1185447147](http://elmundovino.elmundo.es/elmundovino/noticia.html?vi_seccion=4&vs_fecha=200707&vs_noticia=1185447147); consultado: Junio 2014.

Córdoba, S. Luisa F., 2011. Exportación de la Pulpa de Cholupa para Cánada. En: <http://blogluisa1982.blogspot.com/2011/11/encuentro-7-exportacion-de-la-pulpa-de.html>; consultado: Febrero 2014.

Cuinare. Cata: sus fases y el análisis sensorial cuantitativo y cualitativo En: [http://cuinare.com/index.php?option=com\\_content&view=article&id=25%3Acata-sus-fases-y-el-analisis-sensorial-cuantitativo-y-cualitativo&catid=8%3Aanalisis-sensorial&Itemid=26&lang=es](http://cuinare.com/index.php?option=com_content&view=article&id=25%3Acata-sus-fases-y-el-analisis-sensorial-cuantitativo-y-cualitativo&catid=8%3Aanalisis-sensorial&Itemid=26&lang=es); consultado: Febrero 2014.

Davis, C.R., Wibowo, D., Eschenbruch, R., Lee, T.H., Fleet, G.H., 1985. Practical implications of malolactic fermentation: a review. *Am. J. Enol. Vitic* 36, 290–301.

Davis, C.R., Wibowo, D., Fleet, G.H., Lee, T.H., 1988. Properties of wine lactic acid bacteria: their potential enological significance. *Am. J. Enol. Vitic* 39, 137–142.

De Rosa, Tullio.1997. Tecnología de los Vinos Blancos. Grupo Mundi-Prensa. 525 p. p. 160.

Durán H., Juan D., y Méndez A., Gerardo A. 2008. Plan de Negocios para exportar Maracuyá y Cholupa como fruta fresca y/o en pulpa hacia Canadá. Tesis Pregrado en Ingeniería Industrial. Facultad de Ingeniería. Pontificia Universidad Javeriana. Colombia. Bogotá. En: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ingenieria/Tesis256.pdf>; consultado: Enero 2014.

Ellis, B. 1961. Guidebook for sensory testing. Continental Can Company. Chicago. 3-4 pp.

Erazo, J. 2010. Elaboración de salsas congeladas de Maracuyá, Mango, Durazno y Champiñones para acompañar el género cárnico en un plato. Tesis pregrado en Administrador Gastronómico. Facultad Turismo Preservación Ambiental, Hotelería Y Gastronomía. Universidad Tecnológica Equinoccial. Ecuador. 174 p.

Espinosa, M., Julia. 2007. Evaluación sensorial de los alimentos química de los alimentos. Editorial Universitaria. La Habana. 14 pp.

Fajardo, E. y Sarmiento, 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. Microbiología Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. En: sitio Web de Pontificia Universidad Javeriana. <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis26.pdf>; consultado: Enero 2014.

FAO (Food and Agriculture Organization). 2006. Ficha técnica de Maracuyá, [http://www.fao.org/inpho\\_archive/content/documents/vlibrary/AE620s/Pfrescos/MARACUYA.HTM](http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/AE620s/Pfrescos/MARACUYA.HTM); consultado: Julio 2013.

Folgado Luis y Segura Kepa. 2009. El proceso de chaptalización. En: vinos y más vinos.com; [http://www.vinos-y-mas-vino.com/la\\_vinificacion/la\\_chaptalizacion.htm](http://www.vinos-y-mas-vino.com/la_vinificacion/la_chaptalizacion.htm); consultado: Junio 2014.

Fundacion Eroski. 2010. Frutas, Guía práctica: Maracuyá o fruta de la pasión, En: Eroski consumer, <http://frutas.consumer.es>, consultado: Enero 2014.

García B., Juan. Técnicas Analíticas para Vinos. <http://shop.gabsystem.com/data/descargas/Capitulo%201-6.pdf> 1990; consultado: Febrero 2014.

García G., Jesús. 2008. Maridaje, enología y cata de vinos. <http://books.google.com.co/books?id=x1pVoCIfREYC&printsec=frontcover&hl=es&so>

urce=gbs\_ge\_summary\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false; 410 pags. Consultado: Enero 2014.

García G., Mariano; Quintero R., Rodolfo y López M., Agustín. 2004. Biotecnología alimentaria. Editorial Limusa. 636 p. En: [http://books.google.es/books?id=2ctdvBnTa18C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs\\_ge\\_summary\\_r&cad=0#v=onepage&q&f=false](http://books.google.es/books?id=2ctdvBnTa18C&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false); consultado: Febrero 2014.

García T., Mario A. 2002. Guía Técnica Cultivo de Maracuyá Amarillo. En: Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal (El Salvador), <http://www.centa.gob.sv/docs/guias/frutales/Guia%20Maracuya.pdf>; consultado: Enero 2014.

García, Vera. 2004. Introducción a la Microbiología. Editorial Universidad estatal a distancia Costa Rica. 256 p. En: [http://books.google.com.co/books?id=K\\_ETVnqnMZIC&pg=PA113&dq=CONDICIONES+DE+CRECIMIENTO+PARA+LEVADURAS&hl=es-419&sa=X&ei=EEfJU5DcLejLsQTm6IDADg&ved=0CB0Q6AEwAQ#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.co/books?id=K_ETVnqnMZIC&pg=PA113&dq=CONDICIONES+DE+CRECIMIENTO+PARA+LEVADURAS&hl=es-419&sa=X&ei=EEfJU5DcLejLsQTm6IDADg&ved=0CB0Q6AEwAQ#v=onepage&q&f=false); consultado: Junio de 2014

GEFOR. 2011. Tinción de Gram. En: GEFOR. <http://www.gefor.4t.com/bacteriologia/tinciondegram.html>; consultado: Noviembre 2013.

Gem Network. Práctica 5: Velocidad límite. Viscosidad de un fluido. Física en Ciencias Ambientales. En: [http://www.uhu.es/gem/docencia/fisicaccaa/practicas/5/5\\_pagina2.php](http://www.uhu.es/gem/docencia/fisicaccaa/practicas/5/5_pagina2.php); consultado: Mayo 2014.

Gerencia Nacional Agraria La Libertad Perú. 2010. [http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/MANUAL%20DEL%20CULTIVO%20DE%20MARACUYA\\_0.pdf](http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/MANUAL%20DEL%20CULTIVO%20DE%20MARACUYA_0.pdf); consultado: Enero 2014.

Gobernación del Huila. 2012. Anuario Estadístico Agropecuario 2012. Departamento del Huila. En: Gobernación del Huila. [http://www.huila.gov.co/documentos/agricultura/OBSERVATORIO%20DE%20TERRITORIOS%20RURALES/ANUARIO\\_ESTADISTICO\\_AGROPECUARIO\\_HUILA\\_2012.pdf](http://www.huila.gov.co/documentos/agricultura/OBSERVATORIO%20DE%20TERRITORIOS%20RURALES/ANUARIO_ESTADISTICO_AGROPECUARIO_HUILA_2012.pdf); consultado: Enero 2014.

Gobernación del Huila. 2011. Anuario estadístico del Huila 2011. En: Gobernación del Huila. Secretaria de agricultura y minería, <http://www.huila.gov.co/documentos/agricultura/OBSERVATORIO%20DE%20TERRITORIOS%20RURALES/ANUARIO%20ESTADISTICO%20AGROPECUARIO%20DEL%20HUILA%20A%20C3%91O%202011.pdf>; consultado: Diciembre 2013.

Gobernación del Huila. 2010. Análisis comparativo entre cholupa y gulupa. Boletín informativo. En: Gobernación del Huila <http://www.huila.gov.co/documentos/A/ANALISIS%20COMPARATIVO%20CHOLUPA-GULUPA.pdf>; consultado: Diciembre 2013.

Gobernación del Huila. 2007. Protección de denominación de origen de cholupa del huila. En: Gobernación del Huila. <http://www.huila.gov.co/documentos/P/Protecci%C3%B3n%20de%20denominaci%C3%B3n%20de%20origen%20de%20cholupa%20del%20Huila.pdf>; consultado: Diciembre 2013.

Gondim JAM, Moura MFV, Dantas AS, Medeiros RLS, Santos KM. 2005. Composição centesimal e de minerais em cascas de frutas. Cien Tecnol Aliment 25: 825-827.

Hidalgo, José. 2002. Tratado de Enología. Tomo I. Editorial Mundi-Prensa. Barcelona, España. 1423 p.

Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura. 2005. Contexto mundial del Maracuyá. En: [www.iica-ecuador.org](http://www.iica-ecuador.org); consultado: Enero 2014.

Knight, Jr. 2010. La Maracuyá o Parchita. En: <http://miami-dade.ifas.ufl.edu>; consultado: Enero 2014.

Kolb, Erich, 2002. Vino de frutas: elaboración artesanal e industrial. Editorial Zaragoza Acribia S.A. España. 232 p.

Kunkee, R., 1984. Selection and modification of yeasts and lactic acid bacteria for wine fermentation. *Food Microbiol.* 1, 315–332. Kunkee, R., 1991. Some roles of malic acid in the malolactic fermentation in wine- making. *FEMS Microbiol. Rev.* 88, 55–72.

Larmond, E. 1977. Laboratory methods for sensory evaluation of foods. Can. Dept. Agr., publ. 1637 p.

Lastra, Jorge y Arias, Edison. 2008 Tecnología Enzimática. En: Monografías, <http://www.monografias.com/trabajos10/09teceenz/09teceenz.shtml>; consulta: Febrero 2014.

Leonel S, Leonel M, Duarte-Filho J 2000. Principais produtos e subprodutos obtidos do maracujazeiro. Informe Agropecuario 21: 86-88.

López, Julio. 2012. Hablando de vinos. En *Industria Alimenticia*, <http://www.industriaalimenticia.com/articles/hablando-de-vinos>; consulta: Febrero 2014

López, Viviana N.; Vélez, Ana K. Ácido Cítrico y Clorhídrico en las características físico-químicas de pectina obtenida de albedo de Maracuyá (*Passiflora Edulis*). Tesis de pregrado en Ingeniería Agroindustrial. Escuela Superior Politécnica Agropecuaria de Manabí Manuel Félix López. <http://repositorio.espam.edu.ec/bitstream/123456789/541/1/ESPAM-AI-PE-TE-IF-00040.pdf>; consultado: Enero 2014.

Madigan M.T., Martinko J.M., Dunlap P.V., Clark D.P. 2009. Brock Biología de los microorganismos. Editorial Pearson Prentice Hall. 144-147 p.

Méndez, Ángeles. 2000. Fermentación alcohólica. En: la Guía de Química, <http://quimica.laguia2000.com/general/fermentacion-alcoholica#ixzz2vmz4GmYm>; consultado: Febrero 2014.

Norma Técnica Colombiana (NTC) 708. 2008. Bebidas alcohólicas. Vino de frutas. Quinta actualización. Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación. ICONTEC. Bogotá. Colombia.

Official methods of Analysis of AOAC International. Fruits and products chapter 37 p 10. 16th edition vol II. Food composition additives natural contaminants.

Oficina Internacional de la Viña y del Vino (O.I.V). 1979. Recopilación de los Métodos de Internacionales de Análisis de Vinos. En: Página oficial de la OIV. <http://www.abc.com.uy/acmv/>; consultado: Febrero 2014.

Oliveira LF, Nascimento MRF, Borges SV, Ribeiro, PCN, Ruback VR. 2002. Aproveitamento alternativo da casca do maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* F. Flavicarpa) para produção de doce em calda. *Cien Tecnol Aliment* 22: 259-262.

Paiva R 1998. Leite com maracujá. Título. *Rev Globo Rural* 152: 9-15.

Plaza, Néstor L., Tarira, María F., Terán, Lucia. 2010. Proyecto de producción y comercialización de la harina de cáscara de maracujá “HARICUYÁ”. Tesis pregrado en Economista con mención en Gestión Empresarial. Facultad de Economía y Negocios. Escuela Superior Politécnica del Litoral. <http://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/10461/1/TESIS%20HARICUYA%20FINAL2.pdf>.; consultado: Agosto 2013.

Potter, N. y Hotchliss, J. 1999. Ciencia de los alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza. España. 667p.

Prescott Lansing M., Harley Jhon P., y Klein Donald A. 2004. Microbiología. Editorial McGraw-Hill Interamericana. 118-123 pp.

Prieto, Oscar I., García, Carlos J. 2006. Estudio de factibilidad y plan exportador para la cholupa.  
<http://intellectum.unisabana.edu.co:8080/jspui/bitstream/10818/4845/1/130408.pdf>  
Primero congreso latinoamericano de pasifloras. 2010. Memorias. Pag.117.  
Caracterización de frutos de granadilla (*Passiflora ligularis juss*) maracuyá y cholupa  
[http://www.frutasyhortalizas.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca\\_57\\_varios.pdf#page=117](http://www.frutasyhortalizas.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca_57_varios.pdf#page=117); consultado: Enero 2014.

Ramos, F.R.R. 2004. O uso de pasiflora sp no controle do diabetes mellitus: estudo qualitativo preliminar. Centro universitario de Maringá.

Ribereau-Gayon, J., Peynaud, E., Ribereau-Gayon, P., Sudraud, P. 1976. Tratado de Enología. Ciencia y Tecnología del vino. Tomo III. Editorial Dunod. Paris.

Rodríguez, Edwin M. 2012. Evaluación de la características espesantes del mesocarpio de Maracuyá (*Passiflora edulis var. Flavicarpa*) en la producción de conservas. Tesis pregrado en Ingeniería Agroindustrial Alimentaria. Departamento de Agroindustria Alimentaria. Zamorano, Honduras. En:  
<http://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/1255/1/T3276.pdf>; consultado: Julio 2013

Sabaá-Srur, F. y Junqueira S. 2003. Maracujá para diabéticos. Ciencia Hoje, 198, 2003. Disponible en <http://www2.uoal.com.br/cianciahoje/ch/ch198/emdia2.htm>; consultado: Enero 2014.

Salinas A., Helbert. 2010. Guía técnica para el cultivo de Maracuyá amarillo. En: [http://www.intep.edu.co/Es/Usuarios/Institucional/file/CIPS/Revista\\_Investigacion/Gu%C3%ADa%20Maracuy%C3%A1-INTEP-2011.pdf](http://www.intep.edu.co/Es/Usuarios/Institucional/file/CIPS/Revista_Investigacion/Gu%C3%ADa%20Maracuy%C3%A1-INTEP-2011.pdf); consultado: Enero 2014.

Sanabria G., Janeth, Acevedo, Danny M. 2011. Manual de laboratorio Microbiología. En: Scribd. <http://es.scribd.com/doc/395622/Manual-de-laboratorio>; consultado: Abril 2014.

Sandoval, Angélica, Forero L., Freddy, Zapata, Yessica y Parra Marisol. 2010. Caracterización de frutos de granadilla (*Passiflora ligularis juss*) maracuyá y cholupa. Memorias Primer congreso latinoamericano de pasifloras. Pag.117. [http://www.frutasyhortalizas.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca\\_57\\_varios.pdf#page=117](http://www.frutasyhortalizas.com.co/archivos/biblioteca/biblioteca_57_varios.pdf#page=117); consultado: Enero 2014.

Schieber, A., Stintzing, F. y Carle, R. 2001. By-products of plant food processing as a source of functional compounds-recent developments. Trends in Food Science and Technology 12. 401-413 p.

Secretaria de Agricultura y Minería del Huila. Acuerdo de productividad de la cadena frutícola del Huila. 2006. En: [www.huila.gov.co/documentos/A/acuerdo\\_regional\\_fruticola\\_2008.pdf](http://www.huila.gov.co/documentos/A/acuerdo_regional_fruticola_2008.pdf); consultado: Noviembre 2013.

Suarez, J. 2003. Sensory profile of wine after malolactic fermentation. En: Centro de recursos sobre percepción y ciencias sensoriales, [http://www.percepnet.com/cien11\\_03.htm](http://www.percepnet.com/cien11_03.htm); consulta: Febrero 2014.

Tacú, Rodrigo. Galletas de Maracuyá: una alternativa nutricional, 2004. <http://www.cirsociales.uady.mx/revUADY/pdf/235/ru23512.pdf>; consultado: Agosto 2013

Tempeh Info. 2008. Fermentación Alcohólica. <http://www.tempeh.info/es/fermentacion-alcoholica.php>; consultado: Febrero 2014.

Torija, María J. 2002. Ecología de levaduras: Selección y adaptación a fermentaciones vínicas. Tesis de doctorado en Bioquímica. Departamento de Bioquímica y Biotecnología. Universidad de Rovira I Virgili. Tarragona, España. 260p

Universidad Navarra. Microbiología de alimentos. Métodos generales de análisis microbiológico de los alimentos. En: <http://www.unavarra.es/genmic/recuento%20microorganismos.htm>; consultado, Febrero 2014.

Urtis G., Marco A. 2011. Tinción de Gram. En: [http://www.geocities.ws/urtis\\_micro/sesiones/Gram.htm](http://www.geocities.ws/urtis_micro/sesiones/Gram.htm); consultado: Mayo 2014.

Vargas R., Nancy. Tapia, U., Leidy G. 2009 Caracterización fisicoquímica y fisiológica del pomarroso (*syzygium malaccense* L, Merr y Perry). Tesis pregrado en Ingeniería Agrícola. Facultad de Ingeniería. Universidad Surcolombiana. Neiva. 87 p.

Vélez, L.M., P. Gañan, D.J. Severiche, G.A. Hincapié y M.C. Restrepo. 2009. Aprovechamiento de la fibra dietaria de frutas y/o residuos de su transformación en la elaboración de productos de panificación y de maíz. <http://www.scielo.org.co/pdf/bsaa/v7n2/v7n2a14.pdf>; consultado: Agosto 2013

Vicent, M., Álvarez S. y Zaragoza, J. 2006. Química Industrial Orgánica. Editorial Universidad Politécnica de Valencia. En: Google Books [http://books.google.com.co/books?id=00\\_6Q134GzYC&pg=PA230&lpg=PA230&dq=VICENT,+Mar%C3%ADa+Qu%C3%ADmica+Industrial+Org%C3%A1nica&source=bl&ots=fQtZwdo44w&sig=zxmt9Huz8J24m5b8xdFqRZbwPU&hl=es&sa=X&ei=w655UrtWkpCQB4v\\_geAL&ved=0CDoQ6AEwAg#v=onepage&q&f=false](http://books.google.com.co/books?id=00_6Q134GzYC&pg=PA230&lpg=PA230&dq=VICENT,+Mar%C3%ADa+Qu%C3%ADmica+Industrial+Org%C3%A1nica&source=bl&ots=fQtZwdo44w&sig=zxmt9Huz8J24m5b8xdFqRZbwPU&hl=es&sa=X&ei=w655UrtWkpCQB4v_geAL&ved=0CDoQ6AEwAg#v=onepage&q&f=false) ; consultado: Octubre 2013.

Vogt, Ernst. La Fabricación de vinos. 1972. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 292 p

Xandri T., José M. 1958. Elaboración de Aguardientes Simples, Compuestos y Licores. Salvat Editores S.A. España.

Zoecklein, B. 1988. Enologist Department of Horticulture Virginia Polytechnic Institute & State University. Bentonite fining of juice and wine. Publication. 463-014.

# ANEXOS

## ANEXO A. Determinación de la Acidez Titulable

Para la determinación de la acidez del mosto se utiliza una pipeta graduada, un vaso de precipitado y potenciómetro.

- ❖ Tomar 5 ml de muestra y colóquelos en un vaso de precipitado.
- ❖ Adicionar 3 gotas de fenolftaleína
- ❖ Adicionar hidróxido de sodio 0,1N y lleve hasta un pH de 8,2.
- ❖ Realizar los cálculos utilizando la siguiente formula

$$\%Acidez = \frac{V NaOH * N * meq \text{ acido citrico} * 100}{V \text{ volumen de la muestra}}$$

Dónde:

VNaOH= volumen de NaOH gastado en la titulación

N= Normalidad del NaOH: (0,1 eq/litro)

PMA= Peso molecular del ácido predominante (peso molecular del ácido cítrico = 0,064)

V= volumen de la muestra.

- Muestra de cálculo:

$$\%Acidez = \frac{27,5ml * 0,1N * 0,064 * 100}{5 ml} = 3,52\% A.C$$

## ANEXO B. Medios de cultivo utilizados

### ➤ Medio líquido.

**Nombre:** Agua de Peptona

**Descripción y uso:** Medio de enriquecimiento no selectivo que proporciona los nutrientes necesarios para el desarrollo microbiano.

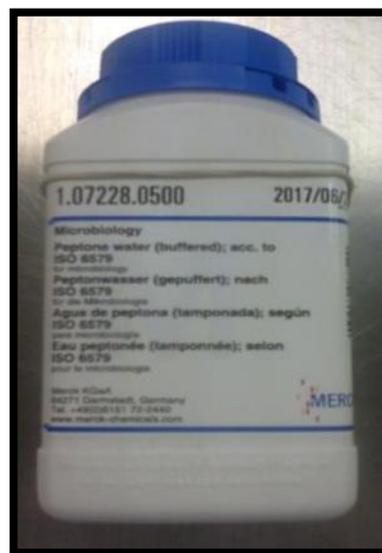
**Preparación:** Suspender 15 g de polvo en 1 litro de agua destilada. Mezclar bien y distribuir. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

#### **Composición (g/l):**

Peptona de carne 10.0;

Cloruro de sodio 5.0;

pH 7.2 ± 0.2.



### ➤ Medio Sólido

**Nombre:** YGC (Agar extracto de levadura-glucosa-cloranfenicol)

**Descripción y uso:** Medio de cultivo selectivo y enriquecido para el crecimiento de levaduras, con este medio se realizó una siembra a profundidad.

**Preparación:** Disolver 40 gr en 1 litro de agua destilada. Mezclar bien y distribuir. Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.

**Composición (g/l):** Extracto de levadura 5.0; D (+); glucosa 20.0; cloranfenicol 0.1; agar-agar 14.9. pH 6.6±2 a 25°C.



## ANEXO C. Tinción de Gram

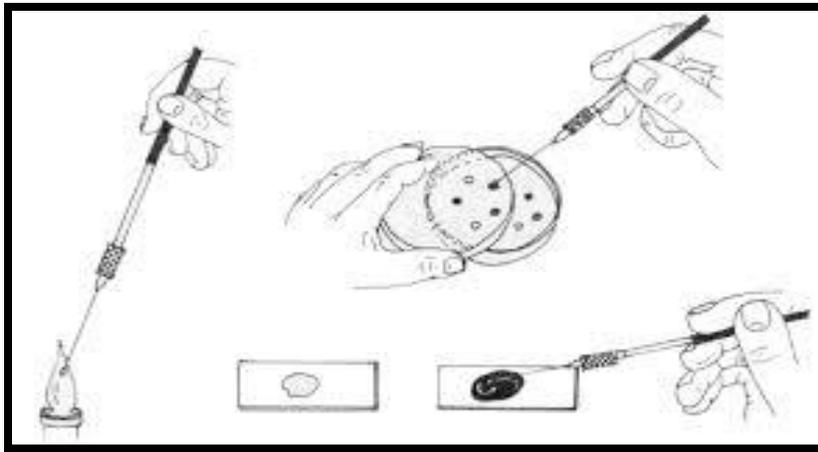
Guía utilizada para realizar la tinción de las levaduras (Amorocho, 2013)

### Tinción de Gram

#### Materiales

- Asa de platino
- Mechero
- Portaobjeto
- Cristalizador
- Pinzas
- Violeta de genciana
- Fuchsin básica
- Azul de metileno
- Reactivo lugol
- Microscopio
- Alcohol 96°

1. Se toma la muestra de la unidad formadora de colonia superficial de la placa que se va a teñir así como se observa en la figura 36:



**FIGURA 25.** Toma y extensión de muestra.

Fuente: Urtis, 2011

2. La muestra a observar se extiende, deseca y se fija.
3. Se tiñe con violeta de genciana durante 30 segundos.
4. Sin lavar, se reemplaza el colorante por el reactivo del lugol, dejando que arrastre el primero y dejándolo actuar durante 1 minuto.
5. Se lava con agua.
6. Luego, se tiñe con fuchsin básica durante 3 minutos.
7. Lavar, secar y observar al microscopio con el objetivo de inmersión.

## ANEXO D. Extracción Soxhlet

### Procedimiento modificado para destilar alcohol.

La extracción Soxhlet se fundamenta en las siguientes etapas:

- 1) Colocación del solvente en un balón.
- 2) Ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador a reflujo.
- 3) El condensado cae sobre un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior.
- 4) Ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho hasta un punto en que se produce el reflujo que vuelve el solvente con el material extraído al balón.
- 5) Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces necesaria para que la muestra quede agotada. Lo extraído se va concentrando en el balón del solvente (Figura 37)

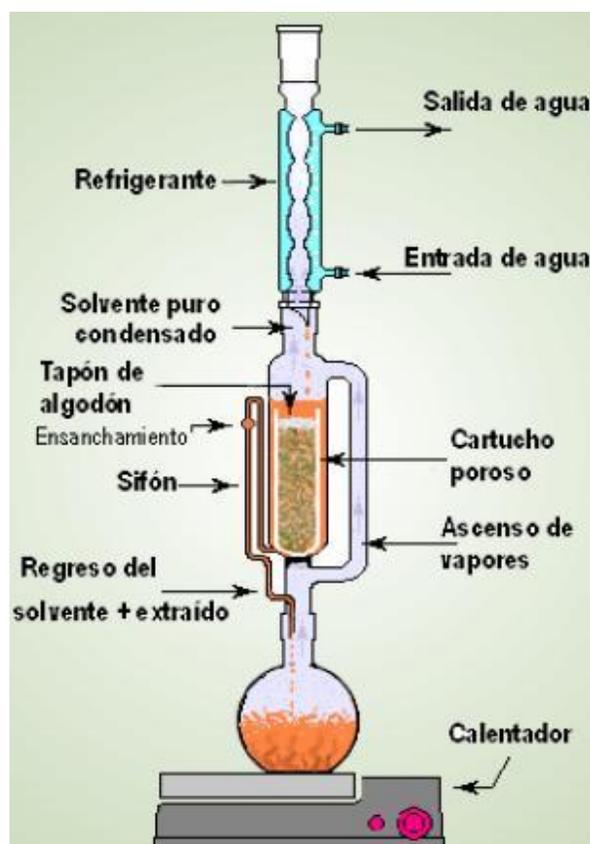


FIGURA 26. Extracción Soxhlet

Fuente: Núñez, 2008

**ANEXO E.** Guía utilizada para la determinación densidad del alcohol. Método del picnómetro (Atarés, UPV)

Para determinar la densidad de un líquido con el método del picnómetro, solamente se necesita la masa del mismo en tres situaciones diferentes. Todas las masas deben determinarse en balanza analítica y con la tapa.

1. Pesarse el picnómetro vacío y anotar su masa ( $m_p$ )
2. Enrasarse el picnómetro con agua (fluido de referencia) y anotar su masa ( $m_{p+w}$ ). Enrasarse el picnómetro significa llenarlo completamente, evitando la formación de burbujas en su interior. Al cerrarlo, el nivel de agua subirá por el capilar y ésta rebosará, quedando el capilar también lleno de agua. Una vez el agua haya rebosado, habrá que secar el picnómetro por fuera antes de pesarlo.
3. Enrasarse el picnómetro con disolución (líquido cuya densidad se va a hallar) y anotar su masa ( $m_{p+d}$ ). Se seguirá el mismo procedimiento y se tendrán las mismas precauciones que al enrasarse el picnómetro con agua.



**Figura.** Picnómetro



**Figura.** Peso  $P_v$ .



**Figura.** Peso  $P_l$ .

- Muestra de cálculo

Masa del picnómetro vacío  $P_v = 27,715$  gr

Masa del picnómetro lleno  $P_l = 72,292$

Volumen total del picnómetro  $V = 50$  ml

$$\delta = \frac{P_l - P_v}{V} = \frac{72,292 - 27,715}{50 \text{ ml}} = 0,891 \text{ gr/cm}^3$$

## ANEXO F. Determinación del grado de alcohol Formula de Gay Lussac.

Los grados Gay-Lussac es la medida de alcohol contenida en volumen, es decir, la concentración de alcohol contenida en una bebida. Los grados Gay-Lussac sirven para indicar el contenido de alcohol en una sustancia expresado en volumen, utilizando la siguiente ecuación:

$$\text{Volumen total de alcohol} = \frac{\text{volumen total de vino} * \text{grados Gay lussac}}{100}$$

- Muestra de calculo

$$\text{Volumen total de alcohol} = \frac{\text{volumen total de vino} * \text{grados Gay lussac}}{100}$$

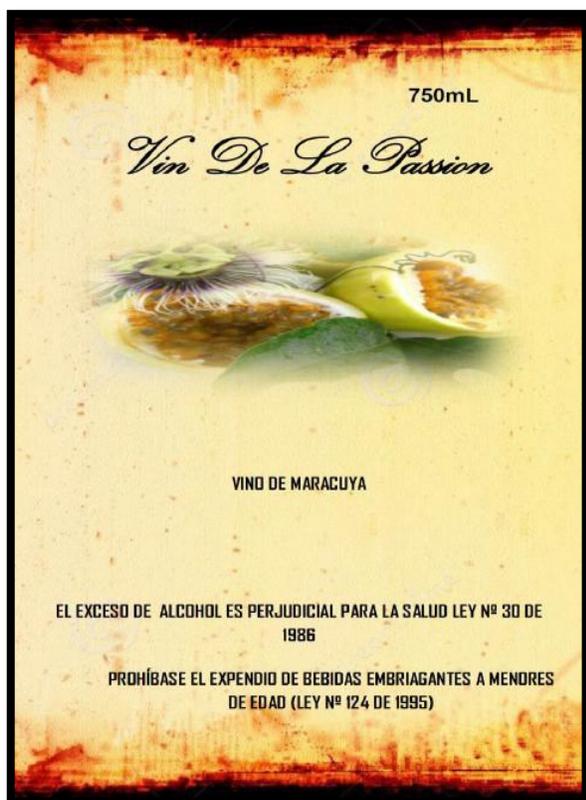
De esta ecuación se despejó los grados Gay Lussac:

$$^{\circ}GL = \frac{\text{volumen de alcohol} * 100}{\text{volumen de vino}}$$

$$^{\circ}GL = \frac{80ml * 100}{750ml} = 10,66$$

$$^{\circ}GL \sim 11^{\circ}$$

## ANEXO G. Etiquetas y fotos del Vino de Maracuyá



ANEXO H. Continuación Vino de Cholupa



**ANEXO I.** Formato para el análisis sensorial a nivel de consumidor para Maracuyá y Cholupa

**UNIVERSIDAD SURCOLOMBIANA**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA**  
**PROGRAMA DE INGENIERÍA AGRÍCOLA**  
**ANÁLISIS SENSORIAL BEBIDA FERMENTADA**

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

Frente a usted hay 3 muestras distintas de una bebida fermentada  
Marque con una **X** en el lugar que indique su opinión acerca de cada muestra

ESCALA	328	816	710
Me gusta mucho	_____	_____	_____
Me gusta	_____	_____	_____
Me gusta ligeramente	_____	_____	_____
Ni me gusta ni me disgusta	_____	_____	_____
Me disgusta ligeramente	_____	_____	_____
Me disgusta	_____	_____	_____
Me disgusta mucho	_____	_____	_____

De acuerdo a su sensación durante los anteriores procesos. ¿Cuál de las 3 muestras analizadas es de su mayor agrado? \_\_\_\_\_ ¿Lo compraría Si \_\_\_\_\_ o No \_\_\_\_\_

Observaciones \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Nota:** enjuáguese la boca con agua antes de probar cada muestra

**GRACIAS POR SU TIEMPO**

ANEXO J. Tablas de conteo en placa y absorbancia para maracuyá y cholupa.

◆ MARACUYÁ

Conteo en placa			
	T1	T2	T3
D.	Log ufc/ml Media ±D.E	Log ufc/ml Media ±D.E	Log ufc/ml Media ±D.E
0	7,8±0,09	7,8±0,16	8,1±0,12
4	6,7±0,16	7,7±0,17	6,7
7	5,8±0,13	6,1±0,72	5,7±0,16
10	4,4±0,13	4,6±0,27	4,0±0,00
15	4,3±0,21	3,7±0,26	3,6
22	3,5±1,00	3,3	3,7±1,00
29	3,1±0,82		2,3±0,52

D: día.

Absorbancia			
	T1	T2	T3
D.	D.O 620 nm Media±D.E	D.O 620 nm Media±D.E	D.O 620 nm Media±D.E
0	1,501±0,02 <sup>a</sup>	0,593±0,08 <sup>a</sup>	1,529±0,07 <sup>ab</sup>
4	1,614±0,09 <sup>a</sup>	1,288±0,05 <sup>c</sup>	1,604±0,04 <sup>bc</sup>
7	1,493±0,28 <sup>a</sup>	1,24±0,03 <sup>de</sup>	1,661±0,07 <sup>c</sup>
10	1,353±0,17 <sup>a</sup>	1,24±0,03 <sup>de</sup>	1,661±0,07 <sup>c</sup>
15	1,364±0,09 <sup>a</sup>	1,026±0,03 <sup>b</sup>	1,435±0,03 <sup>a</sup>
22	1,393±0,22 <sup>a</sup>	1,18±0,01 <sup>c</sup>	1,665±0,07 <sup>c</sup>
28	1,517±0,05 <sup>a</sup>	1,179±0,03 <sup>cd</sup>	1,627±0,02 <sup>bc</sup>

D. O: Densidad Óptica; D.E.: Desviación Estándar;  
a, b, c, d. Letras diferentes en la misma columna indican cambios estadísticamente significativos entre sí (P<0,05);  $\bar{x} \pm 5$ .

◆ CHOLUPA

Conteo en placa			
	T1	T2	T3
D.	Log ufc/ml Media ±D.E	Log ufc/ml Media ±D.E	Log ufc/ml Media ±D.E
0	7,0±0,76	6,9±0,38	7,3±0,18
4	6,8±0,21	7,8±0,56	6,8±1,00
7	5,7±0,10	5,6±1,00	5,6±0,30
10	5,0±0,15	4,0±1,00	4,3±1,00
15	4,4±0,36	0	3,0±1,00
22	3,1±1,00		2,0±1,00
29	2,4±0,49		

D: día

Absorbancia			
	T1	T2	T3
D.	D.O 620 nm Media±D.E	D.O 620 nm Media±D.E	D.O 620 nm Media±D.E
0	1,303±0,12 <sup>a</sup>	1,135±0,04 <sup>a</sup>	1,34±0,07 <sup>a</sup>
4	1,661±0,10 <sup>b</sup>	1,331±0,04 <sup>d</sup>	1,658±0,08 <sup>bc</sup>
7	1,75±0,05 <sup>b</sup>	1,356±0,01 <sup>cd</sup>	1,621±0,01 <sup>bc</sup>
10	1,744±0,07 <sup>b</sup>	1,37±0,03 <sup>cd</sup>	1,604±0,04 <sup>b</sup>
15	1,778±0,01 <sup>b</sup>	1,361±0,05 <sup>b</sup>	1,604±0,00 <sup>b</sup>
22	1,726±0,17 <sup>b</sup>	1,353±0,04 <sup>c</sup>	1,679±0,02 <sup>bc</sup>
28	1,637±0,37 <sup>b</sup>	1,355±0,05 <sup>c</sup>	1,688±0,03 <sup>c</sup>

D. O: Densidad Óptica; D.E.: Desviación Estándar;  
a, b, c, d. Letras diferentes en la misma columna indican cambios estadísticamente significativos entre sí (P<0,05);  $\bar{x} \pm 5$ .

**ANEXO K. Resultados obtenidos del programa estadístico Statgraphic prueba sensorial.**

• **Maracuyá**

—

Resumen del Procedimiento

Variable dependiente: aceptación

Factores:

Jueces

Tratamiento

Número de casos completos: 90

Análisis de la Varianza para aceptación - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A:Jueces	102,322	29	3,52835	2,27	0,0040
B:tratamiento	3,75556	2	1,87778	1,21	0,3065
RESIDUOS	90,2444	58	1,55594		
TOTAL (CORREGIDO)	196,322	89			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Tabla de Medias por mínimos cuadrados para aceptación con 95,0 Intervalos de confianza

Nivel	Frecuencia	Media	Error Estándar	Límite Inferior	Límite Superior
Media Total	90	4,54444			
Jueces					
1	3	2,66667	0,720171	1,22508	4,10825
2	3	5,66667	0,720171	4,22508	7,10825
3	3	2,66667	0,720171	1,22508	4,10825
4	3	7,0	0,720171	5,55842	8,44158
5	3	3,66667	0,720171	2,22508	5,10825
6	3	4,66667	0,720171	3,22508	6,10825
7	3	6,33333	0,720171	4,89175	7,77492
8	3	5,33333	0,720171	3,89175	6,77492
9	3	5,66667	0,720171	4,22508	7,10825
10	3	5,0	0,720171	3,55842	6,44158
11	3	5,33333	0,720171	3,89175	6,77492
12	3	4,66667	0,720171	3,22508	6,10825
13	3	4,0	0,720171	2,55842	5,44158
14	3	3,33333	0,720171	1,89175	4,77492
15	3	3,33333	0,720171	1,89175	4,77492
16	3	5,66667	0,720171	4,22508	7,10825
17	3	5,0	0,720171	3,55842	6,44158

18	3	4,0	0,720171	2,55842	5,44158
19	3	3,33333	0,720171	1,89175	4,77492
20	3	4,0	0,720171	2,55842	5,44158
21	3	4,66667	0,720171	3,22508	6,10825
22	3	5,33333	0,720171	3,89175	6,77492
23	3	3,33333	0,720171	1,89175	4,77492
24	3	5,0	0,720171	3,55842	6,44158
25	3	4,33333	0,720171	2,89175	5,77492
26	3	4,66667	0,720171	3,22508	6,10825
27	3	6,0	0,720171	4,55842	7,44158
28	3	4,33333	0,720171	2,89175	5,77492
29	3	3,33333	0,720171	1,89175	4,77492
30	3	4,0	0,720171	2,55842	5,44158
tratamiento					
1	30	4,83333	0,227738	4,37747	5,2892
2	30	4,4	0,227738	3,94413	4,85587
3	30	4,4	0,227738	3,94413	4,85587

---

#### ◆ Cholupa

Análisis de la Varianza para Aceptación - Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Cociente-F	P-Valor
EFFECTOS PRINCIPALES					
A: Jueces	101,789	29	3,50996	1,56	0,0753
B: Tratamiento	1,42222	2	0,711111	0,32	0,7304
RESIDUOS	130,578	58	2,25134		
TOTAL (CORREGIDO)	233,789	89			

Los cocientes F están basados en el error cuadrático medio residual.

Tabla de Medias por mínimos cuadrados para Aceptación  
con 95,0 Intervalos de confianza

Nivel	Frecuencia	Media	Error Estándar	Límite Inferior	Límite Superior
Media Total	90	4,58889			
Jueces					
1	3	4,33333	0,866283	2,59928	6,06739
2	3	4,33333	0,866283	2,59928	6,06739
3	3	6,0	0,866283	4,26594	7,73406
4	3	7,0	0,866283	5,26594	8,73406
5	3	4,33333	0,866283	2,59928	6,06739
6	3	4,0	0,866283	2,26594	5,73406
7	3	3,66667	0,866283	1,93261	5,40072
8	3	5,33333	0,866283	3,59928	7,06739
9	3	3,66667	0,866283	1,93261	5,40072
10	3	2,33333	0,866283	0,599275	4,06739
11	3	6,0	0,866283	4,26594	7,73406
12	3	4,0	0,866283	2,26594	5,73406
13	3	5,66667	0,866283	3,93261	7,40072
14	3	6,0	0,866283	4,26594	7,73406
15	3	4,66667	0,866283	2,93261	6,40072
16	3	5,33333	0,866283	3,59928	7,06739
17	3	4,66667	0,866283	2,93261	6,40072
18	3	4,33333	0,866283	2,59928	6,06739
19	3	5,0	0,866283	3,26594	6,73406
20	3	5,33333	0,866283	3,59928	7,06739
21	3	5,66667	0,866283	3,93261	7,40072
22	3	4,66667	0,866283	2,93261	6,40072
23	3	4,0	0,866283	2,26594	5,73406
24	3	2,33333	0,866283	0,599275	4,06739
25	3	3,33333	0,866283	1,59928	5,06739
26	3	4,33333	0,866283	2,59928	6,06739
27	3	5,66667	0,866283	3,93261	7,40072
28	3	4,33333	0,866283	2,59928	6,06739
29	3	3,33333	0,866283	1,59928	5,06739
30	3	4,0	0,866283	2,26594	5,73406
Tratamiento					
1	30	4,5	0,273943	3,95164	5,04836
2	30	4,5	0,273943	3,95164	5,04836
3	30	4,76667	0,273943	4,21831	5,31502

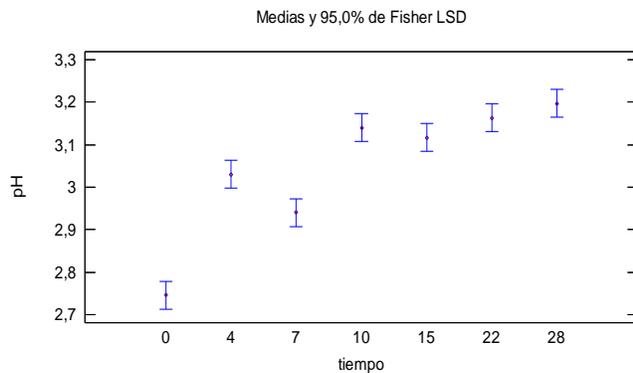
**ANEXO L. Resultados obtenidos del programa estadístico Statgraphic evaluación de parámetros.**

**MARACUYÁ TRATAMIENTO 1.**

**♦ pH**

**Pruebas de Múltiple Rangos para pH por tiempo**  
Método: 95,0 porcentaje LSD

tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	2,74667	X
7	3	2,94	X
4	3	3,03	X
15	3	3,11667	X
10	3	3,14	XX
22	3	3,16333	XX
28	3	3,19667	X



Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	-0,283333	0,0653012
0 - 7	*	-0,193333	0,0653012
0 - 10	*	-0,393333	0,0653012
0 - 15	*	-0,37	0,0653012
0 - 22	*	-0,416667	0,0653012
0 - 28	*	-0,45	0,0653012
4 - 7	*	0,09	0,0653012
4 - 10	*	-0,11	0,0653012
4 - 15	*	-0,0866667	0,0653012
4 - 22	*	-0,133333	0,0653012
4 - 28	*	-0,166667	0,0653012
7 - 10	*	-0,2	0,0653012
7 - 15	*	-0,176667	0,0653012
7 - 22	*	-0,223333	0,0653012
7 - 28	*	-0,256667	0,0653012
10 - 15		0,0233333	0,0653012
10 - 22		-0,0233333	0,0653012
10 - 28		-0,0566667	0,0653012
15 - 22		-0,0466667	0,0653012
15 - 28	*	-0,08	0,0653012
22 - 28		-0,0333333	0,0653012

\* indica una diferencia significativa.

**♦ Acidez**

**Pruebas de Múltiple Rangos para ACIDEZ por tiempo**  
Método: 95,0 porcentaje LSD

tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
7	3	17,5333	X
28	3	17,6333	X
4	3	19,5333	X
10	3	19,7667	XX
22	3	22,9	XX
15	3	23,5	X
0	3	24,5667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	5,03333	3,20912
0 - 7	*	7,03333	3,20912
0 - 10	*	4,8	3,20912
0 - 15		1,06667	3,20912
0 - 22		1,66667	3,20912
0 - 28	*	6,93333	3,20912
4 - 7		2,0	3,20912
4 - 10		-0,233333	3,20912
4 - 15	*	-3,96667	3,20912
4 - 22	*	-3,36667	3,20912
4 - 28		1,9	3,20912
7 - 10		-2,23333	3,20912
7 - 15	*	-5,96667	3,20912
7 - 22	*	-5,36667	3,20912
7 - 28		-0,1	3,20912
10 - 15	*	-3,73333	3,20912
10 - 22		-3,13333	3,20912
10 - 28		2,13333	3,20912
15 - 22		0,6	3,20912
15 - 28	*	5,86667	3,20912
22 - 28	*	5,26667	3,20912

\* indica una diferencia significativa

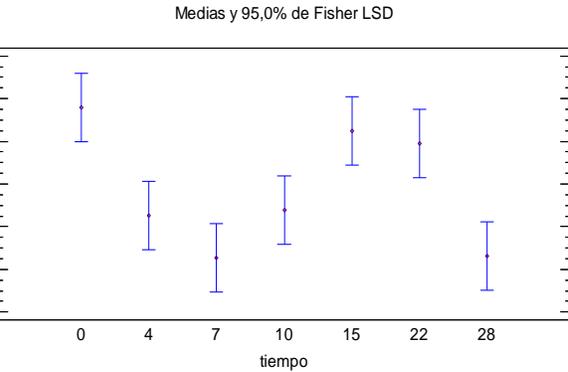
### ♦ °Brix

#### Pruebas de Múltiple Rangos para BRIX por tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

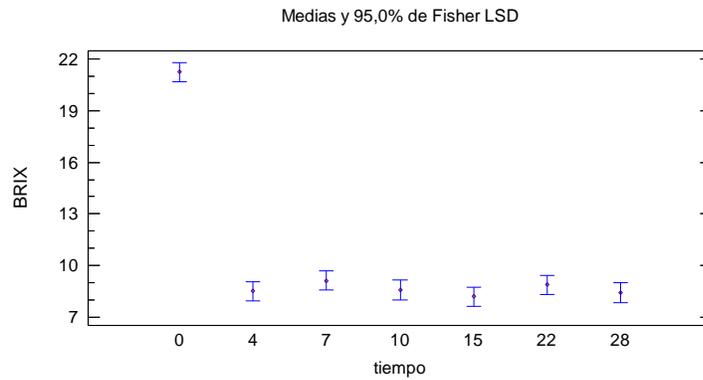
tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
15	3	8,2	X
28	3	8,43333	X
4	3	8,53333	X
10	3	8,6	X
22	3	8,9	X
7	3	9,13333	X
0	3	21,2333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	12,7	1,12002
0 - 7	*	12,1	1,12002
0 - 10	*	12,6333	1,12002
0 - 15	*	13,0333	1,12002
0 - 22	*	12,3333	1,12002
0 - 28	*	12,8	1,12002
4 - 7		-0,6	1,12002
4 - 10		-0,0666667	1,12002
4 - 15		0,333333	1,12002
4 - 22		-0,366667	1,12002



4 - 28	0,1	1,12002
7 - 10	0,533333	1,12002
7 - 15	0,933333	1,12002
7 - 22	0,233333	1,12002
7 - 28	0,7	1,12002
10 - 15	0,4	1,12002
10 - 22	-0,3	1,12002
10 - 28	0,166667	1,12002
15 - 22	-0,7	1,12002
15 - 28	-0,233333	1,12002
22 - 28	0,466667	1,12002

\* indica una diferencia significativa.



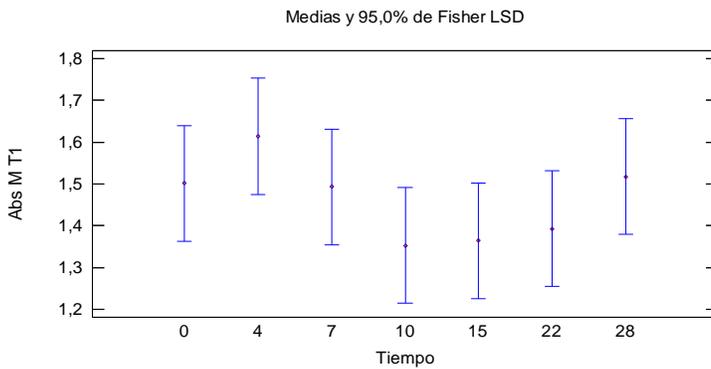
◆ **Absorbancia**

**Pruebas de Múltiple Rangos para Abs M T1 por Tiempo**

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
10	3	1,35333	X
15	3	1,36433	X
22	3	1,39333	X
7	3	1,493	X
0	3	1,50133	X
28	3	1,51733	X
4	3	1,614	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4		-0,112667	0,277071
0 - 7		0,00833333	0,277071
0 - 10		0,148	0,277071
0 - 15		0,137	0,277071
0 - 22		0,108	0,277071
0 - 28		-0,016	0,277071
4 - 7		0,121	0,277071
4 - 10		0,260667	0,277071
4 - 15		0,249667	0,277071
4 - 22		0,220667	0,277071
4 - 28		0,0966667	0,277071
7 - 10		0,139667	0,277071
7 - 15		0,128667	0,277071
7 - 22		0,0996667	0,277071
7 - 28		-0,0243333	0,277071
10 - 15		-0,011	0,277071
10 - 22		-0,04	0,277071
10 - 28		-0,164	0,277071
15 - 22		-0,029	0,277071
15 - 28		-0,153	0,277071
22 - 28		-0,124	0,277071



\* indica una diferencia significativa.

## TRATAMIENTO 2 MARACUYÁ.

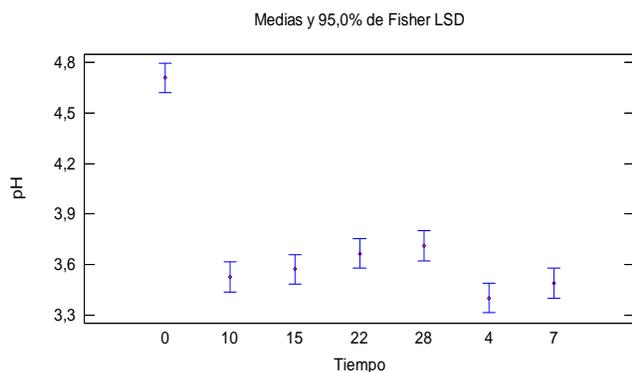
### ◆ pH

#### Pruebas de Múltiple Rangos para pH por Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
4	3	3,40333	X
7	3	3,49	XX
10	3	3,52667	XX
15	3	3,57333	XXX
22	3	3,66667	XX
28	3	3,71333	X
0	3	4,70667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 10	*	1,18	0,17674
0 - 15	*	1,13333	0,17674
0 - 22	*	1,04	0,17674
0 - 28	*	0,993333	0,17674
0 - 4	*	1,30333	0,17674
0 - 7	*	1,21667	0,17674
10 - 15		-0,0466667	0,17674
10 - 22		-0,14	0,17674
10 - 28	*	-0,186667	0,17674
10 - 4		0,123333	0,17674
10 - 7		0,0366667	0,17674
15 - 22		-0,0933333	0,17674
15 - 28		-0,14	0,17674
15 - 4		0,17	0,17674
15 - 7		0,0833333	0,17674
22 - 28		-0,0466667	0,17674
22 - 4	*	0,263333	0,17674
22 - 7		0,176667	0,17674
28 - 4	*	0,31	0,17674
28 - 7	*	0,223333	0,17674
4 - 7		-0,0866667	0,17674



\* indica una diferencia significativa

### ◆ Acidez

#### Pruebas de Múltiple Rangos para Acidez Maracuya T2 por Tiempo

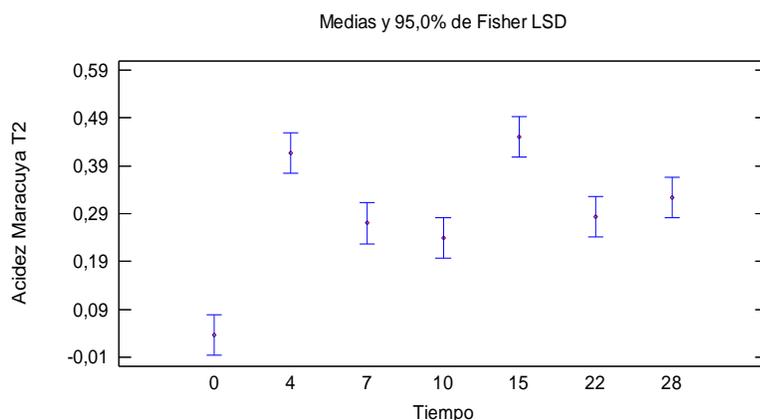
Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	0,0366667	X
10	3	0,24	X
7	3	0,27	X
22	3	0,283333	X
28	3	0,323333	X
4	3	0,416667	X
15	3	0,45	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	-0,38	0,0845917
0 - 7	*	-0,233333	0,0845917
0 - 10	*	-0,203333	0,0845917
0 - 15	*	-0,413333	0,0845917
0 - 22	*	-0,246667	0,0845917
0 - 28	*	-0,286667	0,0845917
4 - 7	*	0,146667	0,0845917
4 - 10	*	0,176667	0,0845917
4 - 15		-0,0333333	0,0845917
4 - 22	*	0,133333	0,0845917

4 - 28	*	0,0933333	0,0845917
7 - 10		0,03	0,0845917
7 - 15	*	-0,18	0,0845917
7 - 22		-0,0133333	0,0845917
7 - 28		-0,0533333	0,0845917
10 - 15	*	-0,21	0,0845917
10 - 22		-0,0433333	0,0845917
10 - 28		-0,0833333	0,0845917
15 - 22	*	0,166667	0,0845917
15 - 28	*	0,126667	0,0845917
22 - 28		-0,04	0,0845917

\* indica una diferencia significativa.



### ◆ °Brix

#### Pruebas de Múltiple Rangos para Brix Maracuya T2 por Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

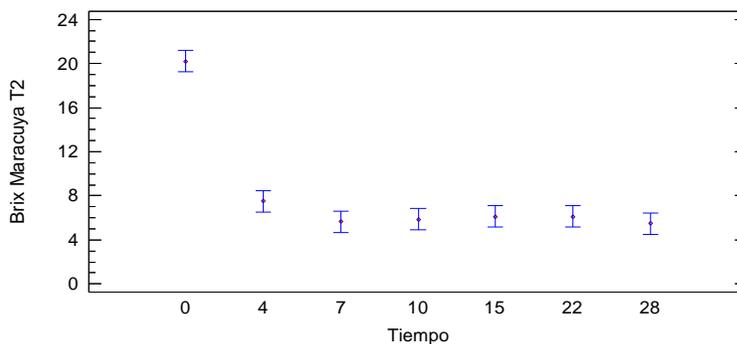
Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
28	3	5,5	X
7	3	5,63333	XX
10	3	5,86667	XX
22	3	6,13333	XX
15	3	6,13333	XX
4	3	7,5	X
0	3	20,2	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	12,7	1,94031
0 - 7	*	14,5667	1,94031
0 - 10	*	14,3333	1,94031
0 - 15	*	14,0667	1,94031
0 - 22	*	14,0667	1,94031
0 - 28	*	14,7	1,94031
4 - 7		1,86667	1,94031
4 - 10		1,63333	1,94031
4 - 15		1,36667	1,94031
4 - 22		1,36667	1,94031

4 - 28	*	2,0	1,94031
7 - 10		-0,233333	1,94031
7 - 15		-0,5	1,94031
7 - 22		-0,5	1,94031
7 - 28		0,133333	1,94031
10 - 15		-0,266667	1,94031
10 - 22		-0,266667	1,94031
10 - 28		0,366667	1,94031
15 - 22		0,0	1,94031
15 - 28		0,633333	1,94031
22 - 28		0,633333	1,94031

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



◆ **Absorbancia**

**Pruebas de Múltiple Rangos para Abs Maracuya T2 por Tiempo**

Método: 95,0 porcentaje LSD

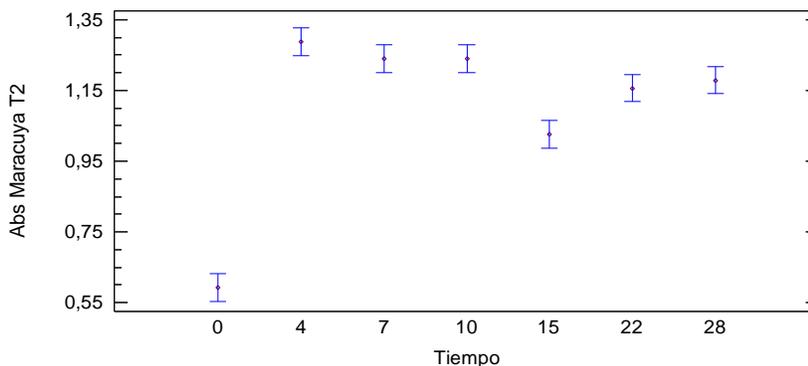
Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	0,593	X
15	3	1,02567	X
22	3	1,15633	X
28	3	1,179	XX
7	3	1,24033	XX
10	3	1,24033	XX
4	3	1,28833	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	-0,695333	0,0777431
0 - 7	*	-0,647333	0,0777431
0 - 10	*	-0,647333	0,0777431
0 - 15	*	-0,432667	0,0777431
0 - 22	*	-0,563333	0,0777431
0 - 28	*	-0,586	0,0777431
4 - 7		0,048	0,0777431
4 - 10		0,048	0,0777431
4 - 15	*	0,262667	0,0777431
4 - 22	*	0,132	0,0777431

4 - 28	*	0,109333	0,0777431
7 - 10		0,0	0,0777431
7 - 15	*	0,214667	0,0777431
7 - 22	*	0,084	0,0777431
7 - 28		0,0613333	0,0777431
10 - 15	*	0,214667	0,0777431
10 - 22	*	0,084	0,0777431
10 - 28		0,0613333	0,0777431
15 - 22	*	-0,130667	0,0777431
15 - 28	*	-0,153333	0,0777431
22 - 28		-0,0226667	0,0777431

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



## TRATAMIENTO 3 MARACUYÁ

### ◆ pH

#### Pruebas de Múltiple Rangos para pH M T3 por Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

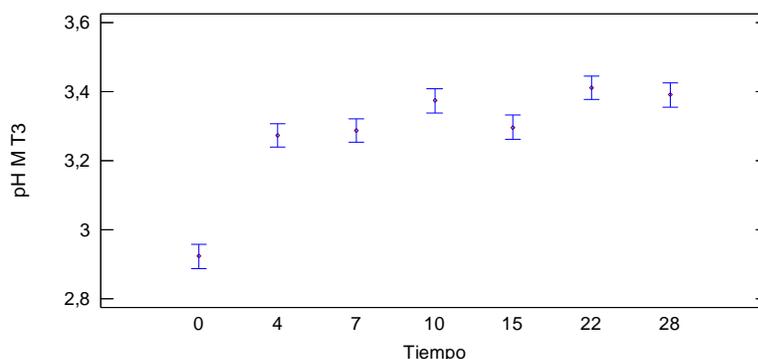
Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	2,92333	X
4	3	3,27333	X
7	3	3,28667	X
15	3	3,29667	X
10	3	3,37333	X
28	3	3,39	X
22	3	3,41	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	-0,35	0,0683604
0 - 7	*	-0,363333	0,0683604
0 - 10	*	-0,45	0,0683604
0 - 15	*	-0,373333	0,0683604
0 - 22	*	-0,486667	0,0683604
0 - 28	*	-0,466667	0,0683604
4 - 7		-0,0133333	0,0683604
4 - 10	*	-0,1	0,0683604
4 - 15		-0,0233333	0,0683604
4 - 22	*	-0,136667	0,0683604

4 - 28	*	-0,116667	0,0683604
7 - 10	*	-0,0866667	0,0683604
7 - 15		-0,01	0,0683604
7 - 22	*	-0,123333	0,0683604
7 - 28	*	-0,103333	0,0683604
10 - 15	*	0,0766667	0,0683604
10 - 22		-0,0366667	0,0683604
10 - 28		-0,0166667	0,0683604
15 - 22	*	-0,113333	0,0683604
15 - 28	*	-0,0933333	0,0683604
22 - 28		0,02	0,0683604

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



### ◆ Acidez

#### Pruebas de Múltiple Rangos para Acidez T3 M por Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

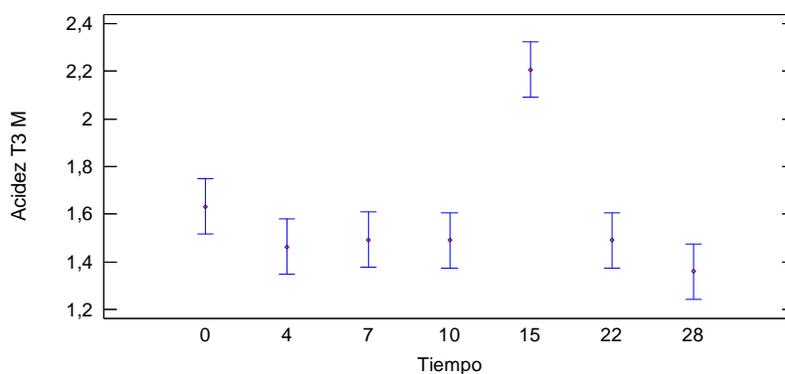
Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
28	3	1,36	X
4	3	1,46333	XX
22	3	1,49	XX
10	3	1,49	XX
7	3	1,49333	XX
0	3	1,63333	X
15	3	2,20667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4		0,17	0,230463
0 - 7		0,14	0,230463
0 - 10		0,143333	0,230463
0 - 15	*	-0,573333	0,230463
0 - 22		0,143333	0,230463
0 - 28	*	0,273333	0,230463
4 - 7		-0,03	0,230463
4 - 10		-0,0266667	0,230463
4 - 15	*	-0,743333	0,230463
4 - 22		-0,0266667	0,230463

4 - 28		0,103333	0,230463
7 - 10		0,00333333	0,230463
7 - 15	*	-0,713333	0,230463
7 - 22		0,00333333	0,230463
7 - 28		0,133333	0,230463
10 - 15	*	-0,716667	0,230463
10 - 22		0,0	0,230463
10 - 28		0,13	0,230463
15 - 22	*	0,716667	0,230463
15 - 28	*	0,846667	0,230463
22 - 28		0,13	0,230463

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



### ◆ °Brix

#### Pruebas de Múltiple Rangos para Brix por Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

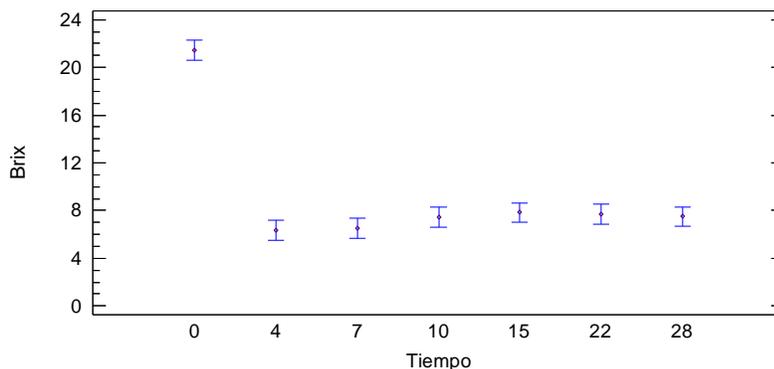
Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
4	3	6,33333	X
7	3	6,5	X
10	3	7,43333	X
28	3	7,5	X
22	3	7,7	X
15	3	7,83333	X
0	3	21,4333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	15,1	1,64323
0 - 7	*	14,9333	1,64323
0 - 10	*	14,0	1,64323
0 - 15	*	13,6	1,64323
0 - 22	*	13,7333	1,64323
0 - 28	*	13,9333	1,64323
4 - 7		-0,166667	1,64323
4 - 10		-1,1	1,64323
4 - 15		-1,5	1,64323
4 - 22		-1,36667	1,64323

4 - 28		-1,16667	1,64323
7 - 10		-0,933333	1,64323
7 - 15		-1,33333	1,64323
7 - 22		-1,2	1,64323
7 - 28		-1,0	1,64323
10 - 15		-0,4	1,64323
10 - 22		-0,266667	1,64323
10 - 28		-0,0666667	1,64323
15 - 22		0,133333	1,64323
15 - 28		0,333333	1,64323
22 - 28		0,2	1,64323

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



◆ Absorbancia

Pruebas de Múltiple Rangos para Abs T3 M por Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

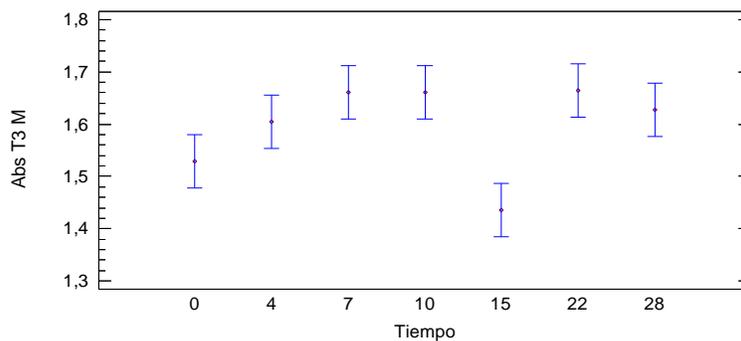
Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
15	3	1,435	X
0	3	1,529	XX
4	3	1,60367	XX
28	3	1,62733	XX
7	3	1,66133	X
10	3	1,66133	X
22	3	1,665	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4		-0,0746667	0,101909
0 - 7	*	-0,132333	0,101909
0 - 10	*	-0,132333	0,101909
0 - 15		0,094	0,101909
0 - 22	*	-0,136	0,101909
0 - 28		-0,0983333	0,101909
4 - 7		-0,0576667	0,101909
4 - 10		-0,0576667	0,101909
4 - 15	*	0,168667	0,101909
4 - 22		-0,0613333	0,101909
4 - 28		-0,0236667	0,101909

7 - 10		0,0	0,101909
7 - 15	*	0,226333	0,101909
7 - 22		-0,00366667	0,101909
7 - 28		0,034	0,101909
10 - 15	*	0,226333	0,101909
10 - 22		-0,00366667	0,101909
10 - 28		0,034	0,101909
15 - 22	*	-0,23	0,101909
15 - 28	*	-0,192333	0,101909
22 - 28		0,0376667	0,101909

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



## TRATAMIENTO 1 CHOLUPA

### ♦ pH

#### Pruebas de Múltiple Rangos para pH por tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

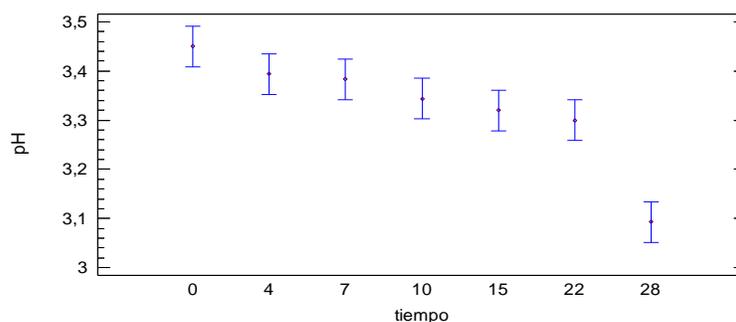
tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
28	3	3,09333	X
22	3	3,3	X
15	3	3,32	XX
10	3	3,34333	XX
7	3	3,38333	XX
4	3	3,39333	XX
0	3	3,45	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4		0,056667	0,0824941
0 - 7		0,066667	0,0824941
0 - 10	*	0,106667	0,0824941
0 - 15	*	0,13	0,0824941
0 - 22	*	0,15	0,0824941
0 - 28	*	0,356667	0,0824941
4 - 7		0,01	0,0824941
4 - 10		0,05	0,0824941
4 - 15		0,0733333	0,0824941
4 - 22	*	0,0933333	0,0824941

4 - 28	*	0,3	0,0824941
7 - 10		0,04	0,0824941
7 - 15		0,0633333	0,0824941
7 - 22	*	0,0833333	0,0824941
7 - 28	*	0,29	0,0824941
10 - 15		0,0233333	0,0824941
10 - 22		0,0433333	0,0824941
10 - 28	*	0,25	0,0824941
15 - 22		0,02	0,0824941
15 - 28	*	0,226667	0,0824941
22 - 28	*	0,206667	0,0824941

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



### ♦ Acidez

#### Pruebas de Múltiple Rangos para ACIDEZ por tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

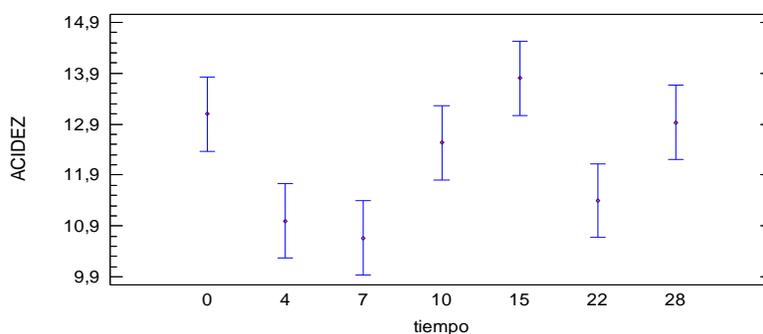
tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
7	3	10,6667	X
4	3	11,0	X
22	3	11,4	XX
10	3	12,5333	XX
28	3	12,9333	X
0	3	13,1	X
15	3	13,8	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	2,1	1,45467
0 - 7	*	2,43333	1,45467
0 - 10		0,566667	1,45467
0 - 15		-0,7	1,45467
0 - 22	*	1,7	1,45467
0 - 28		0,166667	1,45467
4 - 7		0,333333	1,45467
4 - 10	*	-1,53333	1,45467
4 - 15	*	-2,8	1,45467
4 - 22		-0,4	1,45467

4 - 28	*	-1,93333	1,45467
7 - 10	*	-1,86667	1,45467
7 - 15	*	-3,13333	1,45467
7 - 22		-0,733333	1,45467
7 - 28	*	-2,26667	1,45467
10 - 15		-1,26667	1,45467
10 - 22		1,13333	1,45467
10 - 28		-0,4	1,45467
15 - 22	*	2,4	1,45467
15 - 28		0,866667	1,45467
22 - 28	*	-1,53333	1,45467

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



## ◆ °Brix

### Pruebas de Múltiple Rangos para BRIX por tiempo

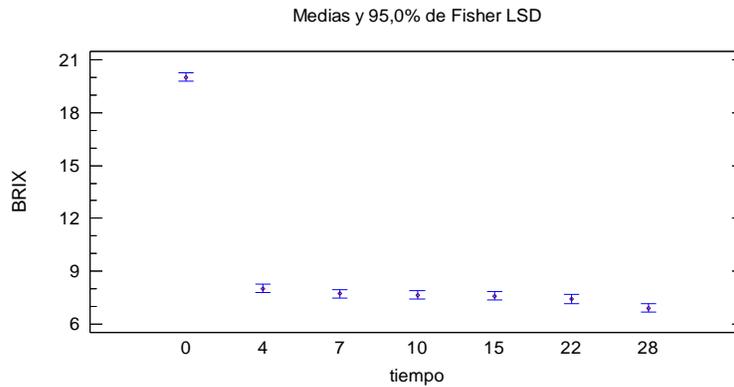
Método: 95,0 porcentaje LSD

tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
28	3	6,93333	X
22	3	7,43333	X
15	3	7,6	XX
10	3	7,66667	XX
7	3	7,73333	XX
4	3	8,03333	X
0	3	20,0	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	11,9667	0,480351
0 - 7	*	12,2667	0,480351
0 - 10	*	12,3333	0,480351
0 - 15	*	12,4	0,480351
0 - 22	*	12,5667	0,480351
0 - 28	*	13,0667	0,480351
4 - 7		0,3	0,480351
4 - 10		0,366667	0,480351
4 - 15		0,433333	0,480351
4 - 22	*	0,6	0,480351

4 - 28	*	1,1	0,480351
7 - 10		0,0666667	0,480351
7 - 15		0,133333	0,480351
7 - 22		0,3	0,480351
7 - 28	*	0,8	0,480351
10 - 15		0,0666667	0,480351
10 - 22		0,233333	0,480351
10 - 28	*	0,733333	0,480351
15 - 22		0,166667	0,480351
15 - 28	*	0,666667	0,480351
22 - 28	*	0,5	0,480351

\* indica una diferencia significativa.



### ◆ Absorbancia

#### Pruebas de Múltiple Rangos para Abs Cholupa T1 por Tiempo

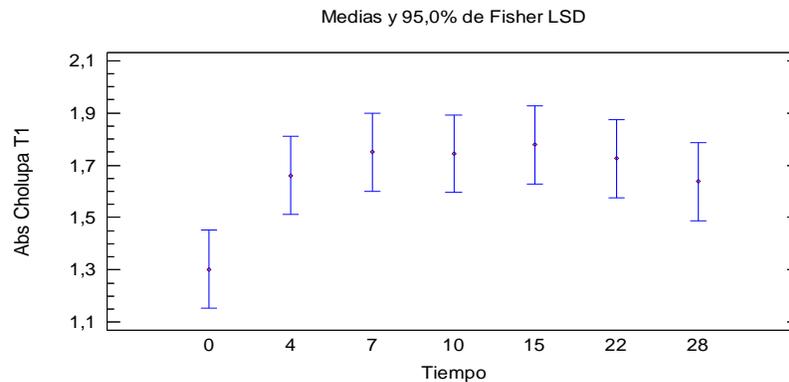
Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	1,30267	X
28	3	1,637	X
4	3	1,66133	X
22	3	1,72567	X
10	3	1,74367	X
7	3	1,74967	X
15	3	1,77767	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	-0,358667	0,297537
0 - 7	*	-0,447	0,297537
0 - 10	*	-0,441	0,297537
0 - 15	*	-0,475	0,297537
0 - 22	*	-0,423	0,297537
0 - 28	*	-0,334333	0,297537
4 - 7		-0,0883333	0,297537
4 - 10		-0,0823333	0,297537
4 - 15		-0,116333	0,297537
4 - 22		-0,0643333	0,297537

4 - 28		0,0243333	0,297537
7 - 10		0,006	0,297537
7 - 15		-0,028	0,297537
7 - 22		0,024	0,297537
7 - 28		0,112667	0,297537
10 - 15		-0,034	0,297537
10 - 22		0,018	0,297537
10 - 28		0,106667	0,297537
15 - 22		0,052	0,297537
15 - 28		0,140667	0,297537
22 - 28		0,0886667	0,297537

\* indica una diferencia significativa.



## TRATAMIENTO 2 CHOLUPA

### Pruebas de Múltiple Rangos para pH Cholupa T2 por Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

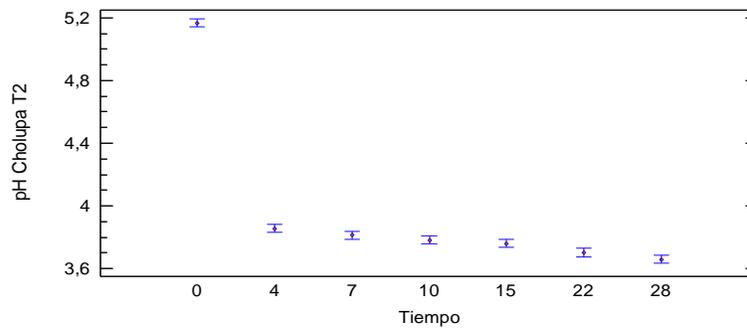
Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
28	3	3,66	X
22	3	3,70333	X
15	3	3,76	X
10	3	3,78333	XX
7	3	3,81333	XX
4	3	3,85667	X
0	3	5,16667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	1,31	0,0523973
0 - 7	*	1,35333	0,0523973
0 - 10	*	1,38333	0,0523973
0 - 15	*	1,40667	0,0523973
0 - 22	*	1,46333	0,0523973
0 - 28	*	1,50667	0,0523973
4 - 7		0,0433333	0,0523973
4 - 10	*	0,0733333	0,0523973
4 - 15	*	0,0966667	0,0523973
4 - 22	*	0,153333	0,0523973

4 - 28	*	0,196667	0,0523973
7 - 10		0,03	0,0523973
7 - 15	*	0,0533333	0,0523973
7 - 22	*	0,11	0,0523973
7 - 28	*	0,153333	0,0523973
10 - 15		0,0233333	0,0523973
10 - 22	*	0,08	0,0523973
10 - 28	*	0,123333	0,0523973
15 - 22	*	0,0566667	0,0523973
15 - 28	*	0,1	0,0523973
22 - 28		0,0433333	0,0523973

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



### ◆ Acidez

### Pruebas de Múltiple Rangos para Acidez cholupa T2 por Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

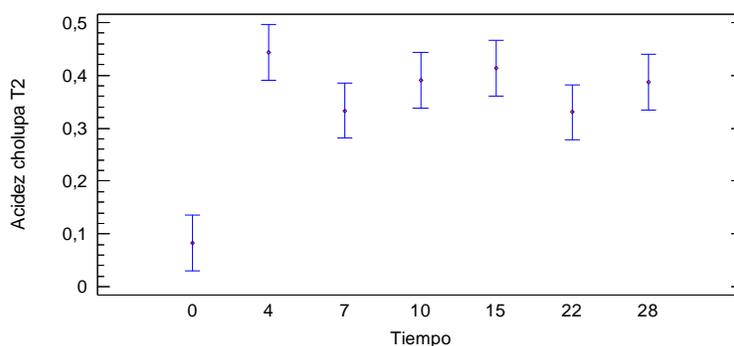
Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	0,0833333	X
22	3	0,33	X
7	3	0,333333	X
28	3	0,386667	XX
10	3	0,39	XX
15	3	0,413333	XX
4	3	0,443333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	-0,36	0,105003
0 - 7	*	-0,25	0,105003
0 - 10	*	-0,306667	0,105003
0 - 15	*	-0,33	0,105003
0 - 22	*	-0,246667	0,105003
0 - 28	*	-0,303333	0,105003
4 - 7	*	0,11	0,105003
4 - 10		0,0533333	0,105003
4 - 15		0,03	0,105003
4 - 22	*	0,113333	0,105003

4 - 28		0,0566667	0,105003
7 - 10		-0,0566667	0,105003
7 - 15		-0,08	0,105003
7 - 22		0,00333333	0,105003
7 - 28		-0,0533333	0,105003
10 - 15		-0,0233333	0,105003
10 - 22		0,06	0,105003
10 - 28		0,00333333	0,105003
15 - 22		0,0833333	0,105003
15 - 28		0,0266667	0,105003
22 - 28		-0,0566667	0,105003

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



### ◆ °Brix

#### Pruebas de Múltiple Rangos para Brix Cholupa 2 por Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

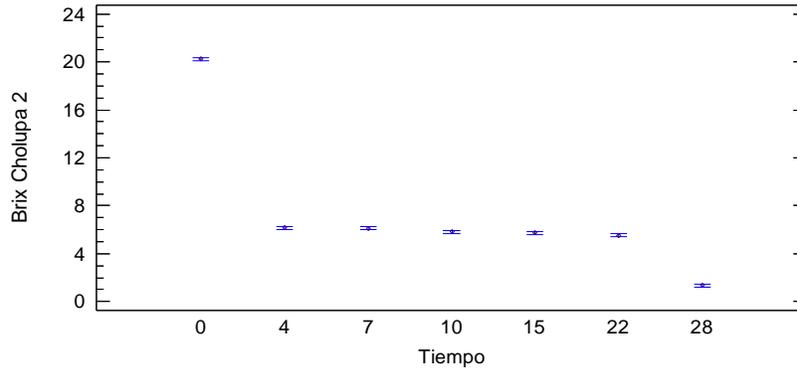
Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
28	3	1,33333	X
22	3	5,53333	X
15	3	5,73333	XX
10	3	5,8	X
7	3	6,13333	X
4	3	6,16667	X
0	3	20,2333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	14,0667	0,23865
0 - 7	*	14,1	0,23865
0 - 10	*	14,4333	0,23865
0 - 15	*	14,5	0,23865
0 - 22	*	14,7	0,23865
0 - 28	*	18,9	0,23865
4 - 7		0,0333333	0,23865
4 - 10	*	0,366667	0,23865
4 - 15	*	0,433333	0,23865
4 - 22	*	0,633333	0,23865

4 - 28	*	4,83333	0,23865
7 - 10	*	0,333333	0,23865
7 - 15	*	0,4	0,23865
7 - 22	*	0,6	0,23865
7 - 28	*	4,8	0,23865
10 - 15		0,0666667	0,23865
10 - 22	*	0,266667	0,23865
10 - 28	*	4,46667	0,23865
15 - 22		0,2	0,23865
15 - 28	*	4,4	0,23865
22 - 28	*	4,2	0,23865

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



◆ **Absorbancia**

**Pruebas de Múltiple Rangos para Abs T2 Cholupa por Tiempo**

Método: 95,0 porcentaje LSD

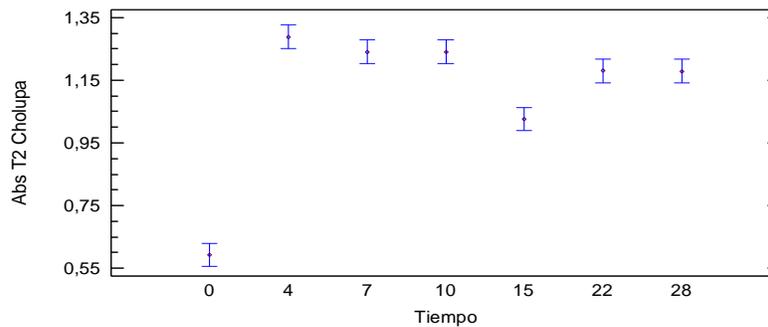
Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	0,593	X
15	3	1,02567	X
28	3	1,179	X
22	3	1,18	X
7	3	1,24033	XX
10	3	1,24033	XX
4	3	1,28833	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	-0,695333	0,0749592
0 - 7	*	-0,647333	0,0749592
0 - 10	*	-0,647333	0,0749592
0 - 15	*	-0,432667	0,0749592
0 - 22	*	-0,587	0,0749592
0 - 28	*	-0,586	0,0749592
4 - 7		0,048	0,0749592
4 - 10		0,048	0,0749592
4 - 15	*	0,262667	0,0749592
4 - 22	*	0,108333	0,0749592

4 - 28	*	0,109333	0,0749592
7 - 10		0,0	0,0749592
7 - 15	*	0,214667	0,0749592
7 - 22		0,0603333	0,0749592
7 - 28		0,0613333	0,0749592
10 - 15	*	0,214667	0,0749592
10 - 22		0,0603333	0,0749592
10 - 28		0,0613333	0,0749592
15 - 22	*	-0,154333	0,0749592
15 - 28	*	-0,153333	0,0749592
22 - 28		0,001	0,0749592

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



## TRATAMIENTO 3 DE CHOLUPA

### ♦ pH

#### Pruebas de Múltiple Rangos para pH Cholupa T3 por Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

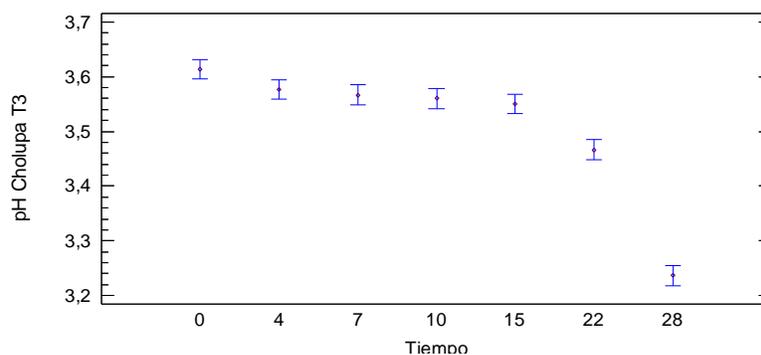
Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
28	3	3,23667	X
22	3	3,46667	X
15	3	3,55	X
10	3	3,56	X
7	3	3,56667	X
4	3	3,57667	X
0	3	3,61333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	0,0366667	0,0360516
0 - 7	*	0,0466667	0,0360516
0 - 10	*	0,0533333	0,0360516
0 - 15	*	0,0633333	0,0360516
0 - 22	*	0,146667	0,0360516
0 - 28	*	0,376667	0,0360516
4 - 7		0,01	0,0360516
4 - 10		0,0166667	0,0360516
4 - 15		0,0266667	0,0360516
4 - 22	*	0,11	0,0360516

4 - 28	*	0,34	0,0360516
7 - 10		0,00666667	0,0360516
7 - 15		0,0166667	0,0360516
7 - 22	*	0,1	0,0360516
7 - 28	*	0,33	0,0360516
10 - 15		0,01	0,0360516
10 - 22	*	0,0933333	0,0360516
10 - 28	*	0,323333	0,0360516
15 - 22	*	0,0833333	0,0360516
15 - 28	*	0,313333	0,0360516
22 - 28	*	0,23	0,0360516

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



### ♦ Acidez

#### Pruebas de Múltiple Rangos para Acidez Cholupa T3 por Tiempo

Método: 95,0 porcentaje LSD

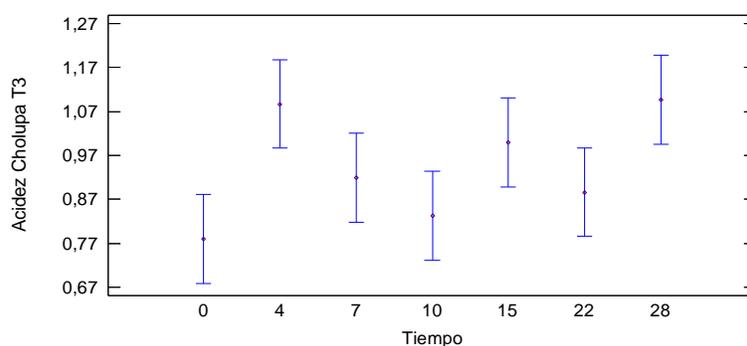
Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	0,78	X
10	3	0,833333	XX
22	3	0,886667	XXX
7	3	0,92	XXXX
15	3	1,0	XXX
4	3	1,08667	XX
28	3	1,09667	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	-0,306667	0,201671
0 - 7		-0,14	0,201671
0 - 10		-0,0533333	0,201671
0 - 15	*	-0,22	0,201671
0 - 22		-0,106667	0,201671
0 - 28	*	-0,316667	0,201671
4 - 7		0,166667	0,201671
4 - 10	*	0,253333	0,201671
4 - 15		0,0866667	0,201671
4 - 22		0,2	0,201671

4 - 28		-0,01	0,201671
7 - 10		0,0866667	0,201671
7 - 15		-0,08	0,201671
7 - 22		0,0333333	0,201671
7 - 28		-0,176667	0,201671
10 - 15		-0,166667	0,201671
10 - 22		-0,0533333	0,201671
10 - 28	*	-0,263333	0,201671
15 - 22		0,113333	0,201671
15 - 28		-0,0966667	0,201671
22 - 28	*	-0,21	0,201671

\* indica una diferencia significativa.

Medias y 95,0% de Fisher LSD



## ◆ °Brix

### Pruebas de Múltiple Rangos para Brix Cholutpa T3 por Tiempo

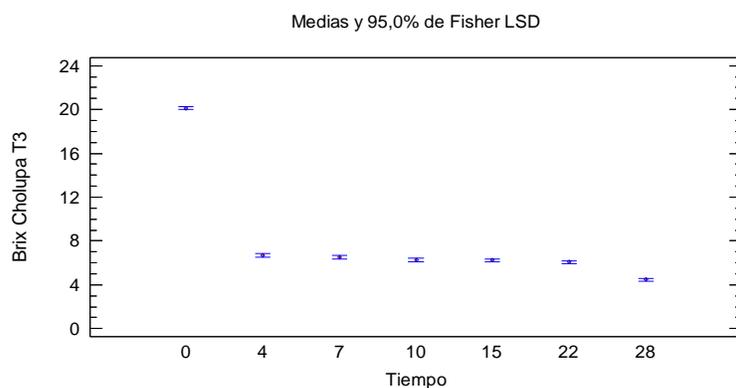
Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
28	3	4,46667	X
22	3	6,06667	X
15	3	6,23333	XX
10	3	6,26667	XX
7	3	6,5	XX
4	3	6,7	X
0	3	20,1333	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	13,4333	0,300902
0 - 7	*	13,6333	0,300902
0 - 10	*	13,8667	0,300902
0 - 15	*	13,9	0,300902
0 - 22	*	14,0667	0,300902
0 - 28	*	15,6667	0,300902
4 - 7		0,2	0,300902
4 - 10	*	0,433333	0,300902
4 - 15	*	0,466667	0,300902
4 - 22	*	0,633333	0,300902

4 - 28	*	2,23333	0,300902
7 - 10		0,233333	0,300902
7 - 15		0,266667	0,300902
7 - 22	*	0,433333	0,300902
7 - 28	*	2,03333	0,300902
10 - 15		0,0333333	0,300902
10 - 22		0,2	0,300902
10 - 28	*	1,8	0,300902
15 - 22		0,166667	0,300902
15 - 28	*	1,76667	0,300902
22 - 28	*	1,6	0,300902

\* indica una diferencia significativa.



### ◆ Absorbancia

#### Pruebas de Múltiple Rangos para Abs Cholupa T3 por Tiempo

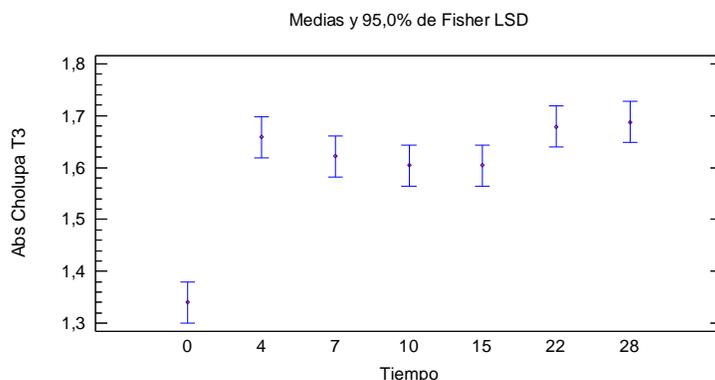
Método: 95,0 porcentaje LSD

Tiempo	Casos	Media	Grupos Homogéneos
0	3	1,34	X
15	3	1,60433	X
10	3	1,60433	X
7	3	1,62133	XX
4	3	1,65833	XX
22	3	1,67867	XX
28	3	1,68767	X

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
0 - 4	*	-0,318333	0,0789186
0 - 7	*	-0,281333	0,0789186
0 - 10	*	-0,264333	0,0789186
0 - 15	*	-0,264333	0,0789186
0 - 22	*	-0,338667	0,0789186
0 - 28	*	-0,347667	0,0789186
4 - 7		0,037	0,0789186
4 - 10		0,054	0,0789186
4 - 15		0,054	0,0789186
4 - 22		-0,0203333	0,0789186

4 - 28		-0,0293333	0,0789186
7 - 10		0,017	0,0789186
7 - 15		0,017	0,0789186
7 - 22		-0,0573333	0,0789186
7 - 28		-0,0663333	0,0789186
10 - 15		0,0	0,0789186
10 - 22		-0,0743333	0,0789186
10 - 28	*	-0,0833333	0,0789186
15 - 22		-0,0743333	0,0789186
15 - 28	*	-0,0833333	0,0789186
22 - 28		-0,009	0,0789186

\* indica una diferencia significativa.



**ANEXO M. Costos netos Producción**

<b>COSTOS DE PRODUCCIÓN TRATAMIENTO 1 MARACUYÁ</b>				
<b>MATERIAL</b>	<b>UND</b>	<b>CANT</b>	<b>VALOR UNITARIO (\$)</b>	<b>VALOR TOTAL (\$)</b>
Maracuyá	Kg	8,49	2800	23772
Azúcar	Kg	0,9	3000	2700
Levadura seca	Kg	0,075	4500	338
Envase (5000ml)	Unidad	3	4500	13500
Manguera de nivel	m	2	500	1000
Silicona	Barra	2	500	1000
Botella (750ml)	Unidad	8	200	1600
			<b>TOTAL</b>	<b>\$ 43.910</b>
			<b>Costo/botella</b>	<b>\$ 5.489</b>

<b>COSTO PRODUCCIÓN TRATAMIENTO 2 MARACUYÁ</b>				
<b>MATERIAL</b>	<b>UND</b>	<b>CANT</b>	<b>VALOR UNITARIO (\$)</b>	<b>VALOR TOTAL (\$)</b>
Maracuyá	Kg	4,19	2800	11732
Azúcar	Kg	1,41	3000	4230
Levadura seca	Kg	0,075	4500	338
Envase (5000ml)	Unidad	3	4500	13500
Manguera de nivel	m	2	500	1000
Silicona	Barra	2	500	1000
Botella (750ml)	Unidad	6	200	1200
			<b>TOTAL</b>	<b>\$ 33.000</b>
			<b>Costo/botella</b>	<b>\$ 5.500</b>

<b>COSTO PRODUCCIÓN TRATAMIENTO 3 MARACUYÁ</b>				
<b>MATERIAL</b>	<b>UND</b>	<b>CANT</b>	<b>VALOR UNITARIO (\$)</b>	<b>VALOR TOTAL (\$)</b>
Maracuyá	Kg	6,34	2800	17752
Azúcar	Kg	0,81	3000	2430
Levadura seca	Kg	0,075	4500	338
Envase (5000ml)	Unidad	3	4500	13500
Manguera de nivel	m	2	500	1000
Silicona	Barra	2	500	1000
Botella (750ml)	Unidad	6	200	1200
			<b>TOTAL</b>	<b>\$ 37.220</b>
			<b>Costo/botella</b>	<b>\$ 6.203</b>

<b>COSTOS DE PRODUCCIÓN TRATAMIENTO 1 CHOLUPA</b>				
<b>MATERIAL</b>	<b>UND</b>	<b>CANT</b>	<b>VALOR UNITARIO (\$)</b>	<b>VALOR TOTAL (\$)</b>
Maracuyá	Kg	8,91	2800	24948
Azúcar	Kg	1,05	3000	3150

Levadura seca	Kg	0,075	4500	338
Envase (5000ml)	Unidad	3	4500	13500
Manguera de nivel	m	2	500	1000
Silicona	Barra	2	500	1000
Botella (750ml)	Unidad	8	200	1600
			<b>TOTAL</b>	<b>\$ 45.536</b>
			<b>Costo neto/botella</b>	<b>\$ 5.692</b>

<b>COSTOS DE PRODUCCIÓN TRATAMIENTO 2 CHOLUPA</b>				
MATERIAL	UND	CANT	VALOR UNITARIO (\$)	VALOR TOTAL (\$)
Maracuyá	Kg	4,37	2800	12236
Azúcar	Kg	1,62	3000	4860
Levadura seca	Kg	0,075	4500	338
Envase (5000ml)	Unidad	3	4500	13500
Manguera de nivel	m	2	500	1000
Silicona	Barra	2	500	1000
Botella (750ml)	Unidad	4	200	800
			<b>TOTAL</b>	<b>\$ 33.734</b>
			<b>Costo/botella</b>	<b>\$ 8.433</b>

<b>COSTOS DE PRODUCCIÓN TRATAMIENTO 3 CHOLUPA</b>				
MATERIAL	UND	CANT	VALOR UNITARIO (\$)	VALOR TOTAL (\$)
Maracuyá	Kg	6,64	2800	18592
Azúcar	Kg	1,26	3000	3780
Levadura seca	Kg	0,075	4500	338
Envase (5000ml)	Unidad	3	4500	13500
Manguera de nivel	m	2	500	1000
Silicona	Barra	2	500	1000
Botella (750ml)	Unidad	6	200	1200
			<b>TOTAL</b>	<b>\$ 39.410</b>
			<b>Costo/botella</b>	<b>\$ 6.568</b>

<b>PERSONAL (MANO DE OBRA)</b>					
PERSONAL	COSTO DÍA (\$)	COSTO HORA (\$)	HORAS UTILIZADAS	VALOR UNITARIO (\$)	VALOR TOTAL (\$)
2	25,000	3125	160	500000	<b>\$ 1.000.000,00</b>