

# COMPORTAMIENTO FERMENTATIVO DE LA LEVADURA VÍNICA Y DE PANIFICACIÓN EN UN MOSTO DE MANZANA CON ADICIÓN DE ENZIMAS PECTOLÍTICAS

## FERMENTATIVE BEHAVIOR OF THE VINIC YEAST AND BAKING YEAST IN AN APPLE MUST WITH ADDITION OF PECTOLYTIC ENZYMES

María José Andrade Albán<sup>1</sup>, José Alfonso Alvarado Carrasco<sup>2</sup>

{majoandrade62@hotmail.com<sup>1</sup>, alfonsoa99@hotmail.com<sup>2</sup>}

Fecha de recepción: 26 de julio de 2022 / Fecha de aceptación: 27 de agosto de 2022 / Fecha de publicación: 29 de diciembre de 2022

**RESUMEN:** La manzana, variedad Emilia (Reineta amarilla de Blenheim) es una fruta de textura crujiente y sabor agradable, por lo que es adecuada para diversos usos, tanto en forma fresca como procesada. La presente investigación plantea el uso de levaduras vínicas como un aporte categórico, complementado con la adición de enzimas pectinolíticas para optimizar el proceso de clarificación y de maduración del producto elaborado. Se prepararon mostos limpios ajustados a 21 grados brix, inoculados con dos tipos de levaduras; levadura vínica (LALVIN EC1118 (*S. cerevisiae bayanus*) y levadura de panificación (LEVAPAN (*S. cerevisiae*)), posteriormente se probó la adición de enzima pectolítica LLALZYME C – MAX. Durante el período de fermentación en las muestras de vino se analizaron las variaciones de sólidos solubles (grados brix), pH, acidez total (% ácido málico) y absorbancia a una longitud de 420 nm, como parámetros de control. En la fase de maduración en botellas se evaluó la variación de extracto seco, turbidez, índice de polifenoles totales (IPT), polifenoles totales (PT). Las características físico – químicas finales de los vinos elaborados fueron los siguientes: sólidos solubles 6,4 – 7,1; pH 3,25 – 3,33; acidez total expresada en % de ácido málico 0,040 %; absorbancia 0,0101 – 0,441 UA; extracto seco 9,8 g; turbidez entre 13 y 30 NTU; IPT 13,04 – 17,07 UA; y PT 537,7 – 556,22 mg/l. Los tratamientos que presentaron los mejores atributos tanto físico – químicos como sensoriales fueron los vinos que contenían la levadura vínica LALVIN EC- 1118 y la levadura de panificación (*S. cerevisiae*) sin adición de enzimas pectolíticas.

**Palabras clave:** *Vino, fermentación alcohólica, levadura, enzima, clarificación.*

**ABSTRACT:** The apple, variety Emilia (Blenheim Yellow Pippin) is a fruit with crunchy texture and pleasant flavor, making it suitable for various uses, both fresh and processed. The

<sup>1</sup> Facultad de Salud Pública; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; Riobamba, Ecuador, ORCID: 0000-0002-5874-4390; +593984873311

<sup>2</sup> Coordinación de Admisión y Nivelación; Universidad Nacional de Chimborazo; Riobamba, Ecuador, ORCID: 0000-0001-8578-2264; +593984681334

present research proposes the use of wine yeasts as a categorical contribution to its sensory quality, complemented with the addition of pectinolytic enzymes to optimize the clarification and maturation process of the elaborated product. Clear musts adjusted to 21 degrees brix were prepared, inoculated with two types of yeasts; Wine yeast (LALVIN EC1118 (*S. cerevisiae* bayanus) and baking yeast (LEVAPAN (*S. cerevisiae*)), later the addition of pectolytic enzyme LLALZYME C - MAX was tested, at different times of the apple wine making process. During the fermentation period in the wine samples, the variations in soluble solids (Brix degrees), pH, total acidity (% malic acid) and absorbance at a length of 420 nm were analyzed as control parameters. In maturation phase was evaluated the variation of dry extract, turbidity, total polyphenol index (IPT), total polyphenols (PT). The final physical-chemical characteristics of the wines made were as follows: soluble solids 6.4 - 7.1; pH 3.25-3.33; total acidity expressed in% of malic acid 0.040%; absorbance 0.0101 - 0.441 AU; dry extract 9.8 g; turbidity between 13 and 30 NTU; IPT 13.04 - 17.07 AU; and PT 537.7 - 556.22 mg / L. The treatments that presented the best physical-chemical and sensorial attributes were the wines that contained the wine yeast LALVIN EC-1118 and baking yeast (*S. cerevisiae*) without the addition of pectolytic enzymes.

*Keywords: Wine, alcoholic fermentation, yeast, enzyme, clarification.*

## INTRODUCCIÓN

El Ecuador es un país reconocido por exportar materias primas, por lo que, con la evolución de la matriz productiva, se busca la transformación de los bienes primarios, a bienes con valor agregado, que puedan sustituir el porcentaje de las importaciones y competir en el mercado internacional (1).

La Constitución del Ecuador emitida en el año 2008, en su capítulo 2 que habla acerca del marco constitucional sobre la economía popular solidaria y el sector financiero popular solidario, delega a las instituciones públicas como responsables de fomentar el desarrollo de organizaciones que ofrezcan productos con este tipo de características (2).

Nuestra biodiversidad agrícola en el país favorece el potencial de producción ecuatoriano, viabilizando el aprovechamiento de la variedad de cultivos como fuente de ingresos económicos, sean estos comercializados en estado natural o en productos semi-procesados o procesados en los que se ha añadido algún valor agregado (3).

En el Ecuador, la zona manzanera se extiende por la serranía, está en Chimborazo, Cotopaxi, Azuay, Cañar y Tungurahua, encontrándose en esta última, los principales cantones productores de esta como lo son: Ambato, Cevallos, Tisaleo, Quero y Píllaro (4).

En la provincia de Tungurahua hasta el año 2011 se registraban 2300 hectáreas de cultivo de manzana, para el año 2015 solo 600 hectáreas se reconocieron con producción completa, es decir que la capacidad de producción del resto de cultivos entro en un proceso de descenso.

Como consecuencia de esto el mercado nacional está ocupado en su mayoría por manzanas importadas, restando así la competitividad de los pequeños productores locales (1).

La elaboración y consumo de vino ha sido una tradición que data desde los inicios de la civilización, y a pesar que inicialmente este tipo de bebidas solo las consumían los dioses y miembros de alto linaje de ciertas culturas que gobernaban o contaban con un alto poder adquisitivo, en la actualidad la realidad es otra, se han diversificado los tipos y clases de vino, así como también las materias primas utilizadas para la elaboración de este grupo de bebidas (5).

En el 2018, la organización Internacional de la Viña menciona que, Estados Unidos es el país que lidera con 32,6 millones de hectolitros al año el mayor consumo de vino, seguido de Francia con 27 millones y finalmente Italia con 22 millones (5).

En Latinoamérica son Chile y Argentina los países con niveles de exportación más altos, alcanzando aproximadamente 9.8 millones de hl y 2.2 millones hl respectivamente. Además, que este último es mundialmente reconocido por elaborar los mejores ejemplares de vino tinto a partir de Uva de la variedad Malbec. En el Ecuador en los años 1554, hace su aparición el vino después del veredicto magistral que permitía el traslado de plantas de Viña a cargo de los creyentes europeos en la capital de la república, por lo que es justamente aquí donde aprovechando el clima templado y la fertilidad del suelo inicia el cultivo agrícola de uvas para la producción de vino. En el mercado nacional se encuentran diversas marcas de vino reconocidas por su alta calidad como “Dos Hemisferios”, Paradoja, Bruma, Enigma, Del Morro y Travesía. En la actualidad existen tres lugares principales de producción de vino, dos que se encuentran en la provincia de Pichincha en las parroquias Llaruquí y Pomasqui; y el uno en San Miguel del Morro en la Provincia del Guayas, este último viñedo que produce y procesa uvas de las variedades requeridas para producir vino Malbec y el Cabernet Sauvignon (5).

Cabe recalcar que en nuestro país hasta hace poco la costumbre de consumir vino no era habitual y que más bien se limitaba a un consumo social en ocasiones especiales y de celebración por distintos motivos familiares, comerciales o culturales, además que las preferencias de los consumidores estaban ligados a su poder adquisitivo y al nivel para degustar y seleccionar de entre las distintas variedades. Sin embargo, en los últimos años la demanda por el consumo de estas bebidas se ha incrementado en el año 2002 el consumo de vino alcanzó a una copa per cápita, y en el 2009 fue ya de un litro per cápita, dando apertura a nuevas plazas de negocios y emprendimientos (5).

Ecuador inició la internacionalización de bebidas alcohólicas con exportaciones de productos como licor, zhumir, vino, cerveza, ginebra ecuatoriana, entre otros. Su destino principal han sido países de la Unión Europea, lo que ha abierto el camino para que la producción nacional pueda llegar a mercados extranjeros (6).

Araya en el 2019 afirma que, los niveles de exportaciones de productos vinícolas desde Ecuador a diferentes partes del mundo muestran ciertas deficiencias y limitaciones, sean estas causadas por el bajo nivel de competitividad, por el precio, por la calidad de producto, o por la falta de

tecnología de punta, y considerando que la capacidad productiva nacional es alta con respecto al consumo local es necesario optimizar y mejorar los procesos para producir vinos a base de frutas (7).

De forma natural las levaduras están presentes en la pruina del hollejo en el desarrollo de la uva, con una variación en su población según las condiciones climáticas en las cuales crece la vid, así también se ven influenciados por otros factores como el suelo, la variedad, la edad del viñedo, las técnicas de cultivo o la sanidad de la uva. Son estas levaduras las responsables de la fermentación alcohólica del mosto, ya que se adaptan perfectamente a condiciones como pH bajo y alta concentración de azúcares, poseen además actividad enzimática alta lo que les hace idóneos para actuar en el proceso de vinificación y en la calidad del producto final obtenido (8).

Las practicas modernas de vinificación y la exigencia de los nuevos mercados que se espera alcanzar han provocado que la ciencia indague técnicas de ADN recombinante para aislar nuevas cepas y la industria aplique esto en tecnologías especializadas para la fermentación alcohólica que faciliten el control del proceso y de la producción y que además aporten características enológicas bien definidas. Con la finalidad de alcanzar este objetivo en los últimos años se ha logrado obtener varias levaduras vnicas transgénicas que mejoran o desarrollan ciertas características de sabor y aroma en el vino; además que favorecen ciertas propiedades fermentativas, como por ejemplo la fermentación alcohólica y maloláctica simultanea; o también ciertas propiedades tecnológicas como la acción proteolítica y de floculación de la levadura (9).

Desde principios del siglo XX se sabe que en la elaboración de algunos vinos pueden intervenir, además de las levaduras, otros microorganismos cuya misión es transformar el ácido málico del vino en ácido láctico. Esta transformación, que es denominada fermentación maloláctica (F.M.L.) y que es llevada a cabo por diversas especies de bacterias lácticas, es considerada una fermentación de suavización del vino que conviene a todos los vinos tintos y a aquellos vinos blancos cuyo contenido en ácido málico sea muy elevado (1).

Las características como la acidez, aroma, contenidos de azúcares, taninos y PH se constituyen parámetros que determinan la calidad y la diferenciación entre vinos. La turbidez del vino una vez concluido el proceso fermentativo resulta de las transformaciones químicas realizadas por las levaduras y que se debe principalmente a la suspensión de partículas de levaduras, restos vegetales, cristales y soluciones coloidales (10).

Para garantizar la limpidez del vino y garantizar que esta se mantenga durante el tiempo de maduración y almacenamiento es necesario tener en cuenta que la auto clarificación del vino ocurre luego de concluida la fermentación, cuando las partículas más grandes por sedimentación precipitan y se acumulan en el fondo. Sin embargo, hay partículas que, por su tamaño, peso y la resistencia propia de la viscosidad natural del vino se mantienen dispersas en el producto provocando que el proceso sea lento y que tarde demasiado tiempo de forma natural. Generalmente, los vinos muestran una limpidez momentánea, pero pueden ocurrir luego nuevos enturbiamientos o insolubilizaciones que opacan la brillantez del vino sean estos

provocados por el reinicio de la fermentación de azúcares residuales, la coagulación de sustancias en estado coloidal o por contaminación microbiológica y acción enzimática. Procedimientos físicos como frío, filtración, centrifugación y trasiego permiten lograr la limpidez y la estabilidad del vino durante la fermentación y maduración del vino a través de la eliminación y el control de partículas y microorganismo causantes de la turbidez del mismo. No obstante garantizar esta limpidez durante el embotellado requiere el empleo de procedimientos químicos, en donde se añaden enzimas de clarificación que floculando las partículas dispersas en el vino aumentan su tamaño y precipitan para depositarse en el fondo de los tanques de almacenamiento y ser retirados fácilmente permitiendo lograr la estabilidad físico-químico deseada (11).

La propuesta de introducir levaduras vínicas y enzimas de clarificación en la elaboración de vinos busca innovar los procesos tradicionales de producción para el aprovechamiento de materias primas características de la región y la generación de modelos asociativos entre los agricultores de la zona. Sin microorganismos no hay vino, ya que son las levaduras las responsables de la transformación del mosto de la fruta en vino por medio de un proceso bioquímico denominado fermentación alcohólica en donde los azúcares del mosto se transforman en etanol, CO<sub>2</sub> y otros compuestos químicos (12).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio se desarrolló bajo una modalidad de investigación experimental. Se aplicó la asociación de variables para evaluar el comportamiento fermentativo de una levadura vínica en comparación con una levadura de panificación y la adición de enzimas pectolíticas para la clarificación en diferentes momentos.

Se aplicó un diseño Factorial A\*B, en donde el factor A fue el Tipo de Levadura a1: Levadura de panificación (*Saccharomyces cerevisiae*) y a2: Levadura vínica (EC 1118) (*Saccharomyces cerevisiae bayanus*) y el factor B fue el momento en el que se empleó el Tratamiento Enzimático utilizando la enzima de clarificación Lallzyme C-max), que podía ser antes de la fermentación, después de la fermentación y sin tratamiento enzimático (12).

La materia prima utilizada para la elaboración del mosto fue la manzana variedad Emilia (Reineta amarilla de Blenheim), de la provincia de Tungurahua Parroquia Santa Rosa, la misma que fue seleccionada y caracterizada según su tamaño y estado de madurez. Se realizó la caracterización física de 10 muestras de manzana considerando como parámetro calidad el valor de °Brix, pH, acidez, color y sabor (12).

En la Fermentación y maduración del vino las respuestas experimentales a controlarse cada 2 días durante el proceso de fermentación fueron el contenido de sólidos solubles (° Brix), pH y acidez total. En el proceso de maduración del vino se evaluó el valor de ° Brix, pH, acidez total y extracto seco, en intervalos de 15 días. La absorbancia a 420nm se midió en la fase de

fermentación y maduración con la finalidad de evaluar el efecto de clarificación al adicionar la enzima pectolítica. La evaluación sensorial se efectuó mediante un panel de catadores semi-entrenados con la utilizando escalas hedónicas que midan la aceptación de las características organolépticas del producto terminado (12).

En el mejor tratamiento de cada levadura se aplicarán análisis microbiológicos de control (recuento de mohos y levaduras, recuento total de aerobios y recuento total de coliformes), la determinación del grado alcohólico, contenido de metanol y etanol y la determinación del tiempo de estabilidad del vino en condiciones aceleradas (40 °C) (12).

Para la determinación de grados brix se tomó la muestra y se colocó en el prisma del refractómetro manual, se ilumina y se observa la escala interior que va desde 0 a 30 ° Brix; el campo de visión se dividirá en una zona iluminada y otra oscura y la unión de ambas zonas cruzará la escala en un punto que representará el ° Brix de la muestra (12).

La medición de pH se realizó utilizando colocando entre 25 y 30 ml de muestra en un vaso de precipitación e introduciendo el electrodo del pH metro para posteriormente registrar la lectura, se debió calibrar el equipo solución buffer 4.00 y 7. El pH del vino se expresa con dos decimales. La acidez total está considerada como la suma total de los ácidos valorables obtenida cuando se lleva la bebida alcohólica a neutralidad (pH 7.00), por adición de una solución alcalina, por lo que se calibró el pH metro con solución buffer de 4.00 y 7.00. y se procedió a tomar 10 ml de y se colocó en el vaso de precipitación, añadimos paulatinamente hidróxido de sodio 0.1 N hasta que el pH estuvo entre 8.2 y 8.4, leímos el volumen gastado de hidróxido de sodio y reportamos el valor final utilizando una ecuación matemática:  $g \text{ ácido málico} / 100 \text{ ml vino} = \text{ml NaOH} \times f$ ; Donde: ml NaOH = volumen gastado de NaOH en la titulación.  $f = 0.067$  (factor de dilución del ácido málico) (12).

El color se define mediante una serie de términos, que se pueden basar en medidas de radiación, en la energía luminosa recogida por el ojo o en la sensación de color que se forma en la mente. Se limita a una simple medida de la absorbancia de una muestra a 420nm, para esta medición se elimina el gas carbónico, si es necesario, por agitación con vacío parcial, luego se realiza una dilución de 1ml de vino en un balón de 50 ml y aforamos utilizar agua destilada como líquido de referencia. Si el vino no está limpio centrifugar previamente. Se tomó una muestra de la dilución y se colocó en la cubeta plástica y posteriormente en el espectrofotómetro para medida en espectro visible (12).

El método para determinar polifenoles totales que se aplicó es el del índice de Folin-Ciocalteu. La determinación de extracto seco se realizó según el procedimiento descrito en la Norma INEN N°346, 1978-03 (AL 04.02-307) (13). El grado alcohólico se midió según la Norma NTE INEN 360, 1978-04 (AL 04.02-321) (14) Para los análisis microbiológicos se usaron Placas petrifilm (3M) para recuento de aerobios totales (12).

En la evaluación sensorial, después de los 42 días de maduración, se realizó una selección de 36 catadores semi entrenados es decir que reconozcan: sabores amargos, ácidos y dulces, olores y

colores básicos y característicos de la materia prima. Se utilizó una ficha de catación en donde se especifica los tres tratamientos que se les asigno a cada catador de acuerdo al diseño Latice Rectangular 3\*4 y la calificación que cada uno de ellos le asigno a la muestra de acuerdo a la escala hedónica de 7 puntos que se propuso (12).

## **RESULTADOS**

En la materia prima se realizó la caracterización física de 10 muestras de manzana, los valores promedio que se registraron fueron: 125,45 para peso(g.); 6,48 de diámetro (cm); 5,6 de largo (cm); 9,6 para brix; pH igual a 3,85; acidez total (% Ac. Málico) igual a 0,036; color verde – amarillento y sabor dulce y se pueden visualizar en la Tabla 1 a continuación:

**Tabla 1.** Ley en abril de 2012, varios sectores de la economía ecuatoriana presentaban altos niveles de concentración de ventas en una o dos empresas.

<b>Análisis</b>	<b>Resultado</b>
Peso (g)	125.45
Diámetro (cm)	6.48
Largo (cm)	5.6
° Brix	9.6
Ph	3.85
Acidez total (% ácido málico)	0.036
Color	Verde-amarillento
Sabor	Dulce

*Fuente: (12)*

En el proceso de fermentación de los mostos se controló mediante un seguimiento del valor promedio de sólidos solubles totales que inició con un valor de 21,1°Brix; y que se estabilizó a partir del día 45 en los mostos inoculados con levadura de panificación a diferencia de los mostos tratados con levadura vínica que registraron un valor constante a partir del día 38, es decir que el tiempo de consumo de azúcares y de producción de alcohol disminuye con la utilización de levaduras específicas vínicas, estadísticamente esto se pudo evidenciar mediante un análisis de varianza tal como se lo visualiza en la Tabla 2 (12):

**COMPORTAMIENTO FERMENTATIVO DE LA LEVADURA VÍNICA Y DE PANIFICACIÓN EN UN MOSTO DE MANZANA CON ADICIÓN DE ENZIMAS PECTOLÍTICAS**

**Tabla 2.** C Análisis de Varianza para ° Brix- Sumas de Cuadrados de Tipo III

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado Medio	Coficiente-F	P-Valor
<b>EFFECTOS PRINCIPALES</b>					
A: Tipo de Levadura	0,653333	1	0,653333	20,42	0,0064
B: Momento de Adicción	0,0466667	2	0,0233333	0,73	0,5274
C: Réplicas	0,0	1	0,0	0,00	1,0000
INTERACCIONES AB	0,126667	2	0,0633333	1,98	0,2327
RESIDUAL	0,16	5	0,032		
<b>TOTAL (CORREGIDOS)</b>	<b>0,986667</b>	<b>11</b>			

Fuente: (12)

En el caso de la determinación y seguimiento del descenso esperado teóricamente para el pH del mosto al aplicar un análisis estadístico sobre el Factor A: Tipo de Levadura que mostro diferencia significativa como se muestra en la tabla III, se puede concluir que la utilización de una Levadura Vínica provoca un mayor descenso en el valor de pH que alcanzó a 3,257 comparado con el valor medio alcanzado para la Levadura de pan que fue de 3,30 es inferior y considerando que el pH inicial para los tratamientos en los que se utilizó la Levadura Vínica Lalvin EC 1118 fue superior al valor de pH inicial de los tratamientos en los que se trabajó con Levadura de Pan, se demuestra la eficiencia de las levaduras específicas, que se detalla en la Tabla 3 a continuación (12):

**Tabla 3.** Diferencia Mínima Significativa para pH en el Factor A: Tipo de Levadura

<b>Método: 95,0 % LSD</b>		
Nivel	LS Mean	Grupos Homogéneos
1: Levadura Vínica Lalvin EC 1118	3,25667	B
2: Levadura de Pan	3,30167	A
Contrastes	Diferencias	+/- Límites
1 – 2	*0,045	0,0292465

\* denota estadísticamente diferencia significativa

Fuente: (12)

Se observó que la acidez titulable se mantuvo relativamente constante durante el proceso de fermentación, al iniciar el valor promedio en el mosto fue de 0,014 (expresado como % de ácido málico) y al finalizar el proceso de fermentación la acidez en los vinos tuvo un valor



promedio de 0,040%; valores que están dentro de lo reportado en la Norma INEN 374 para vinos frutales que es de 0,60-1,30 % (12).

Estadísticamente se determinó que no existe diferencia significativa entre los tratamientos estudiados, es decir el tipo de levadura y el momento de adición del preparado enzimático no tienen influencia sobre la acidez (12).

En el análisis de varianza efectuado sobre los valores de absorbancia; se determinó que no existe diferencia significativa entre los tratamientos estudiados, por lo que se puede señalar que el tipo de levadura y el momento de adición del preparado enzimático no tienen influencia sobre los valores de absorbancia (12).

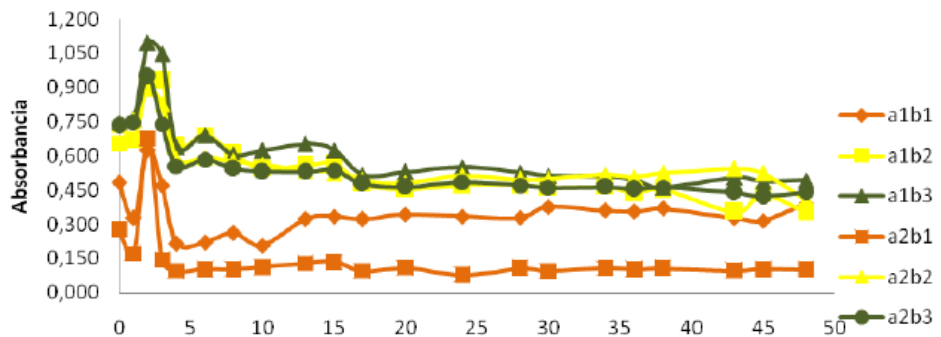
Sin embargo, como se muestra en la Figura 1. que registra la evolución de la absorbancia a 420 nm a lo largo de 67 días de estudio, el efecto de las enzimas en el tiempo de clarificación es claro. En el caso de los tratamientos en los que se añadió enzimas al inicio de la fermentación la absorbancia cae rápidamente entre el día 2 y el 4 hasta niveles de 0,1 a 0,2 UA, para mantenerse prácticamente constante hasta el final (12).

En el caso de los tratamientos tratados con enzimas después de la fermentación, tras un descenso los primeros días hasta niveles de 0.55-0.70 UA, fueron mermando lentamente durante la fermentación, para luego caer rápidamente en el al añadir las enzimas, en el caso de las muestras patrón que no se trataron enzimáticamente y la absorbancia disminuyó lentamente fruto del proceso de clarificación natural, quedando muy lejos de los valores de los vinos tratados con enzimas (12).

**Figura 1.** Absorbancia vs. Tiempo durante la fermentación

*FACTOR A: Tipo de levadura*  
 A1. Levadura de pan Levapan  
 A2. Levadura vínica

*FACTOR B: Condición del mosto*  
 B1. Tratamiento enzimático pre fermentativo  
 B2. Tratamiento enzimático post fermentativo  
 B3. Sin tratamiento enzimático



Fuente: (12)

Durante el proceso de maduración las variables: sólidos solubles (° Brix), se mantuvo constante dentro de un rango de 6,4 – 7,1; el pH presenta una disminución mínima, llegando a valores comprendidos entre 3,18 – 3,30 concluidos los 42 días; la acidez se mantuvo constante en un valor de 0,04 % en todos los tratamientos excepto el tratamiento a2b1 cuyo valor fue de 0,037. Es importante mencionar que el Análisis de Varianza aplicado para los valores de pH, sólidos solubles, absorbancia y acidez en este periodo no buscan una posible diferencia significativa sino más bien confirmar el comportamiento reportado durante el periodo de fermentación (12).

La determinación de absorbancia en la maduración del vino se la realizó cada 14 días durante un periodo de 42 días, se encontró que a pesar de que existió disminución por la precipitación de los sólidos en suspensión presentes en los vinos estadísticamente no hay diferencia mínima significativa, es decir, el tipo de levadura y el momento de adición de la enzima no provocaron ningún efecto sobre la absorbancia en la maduración (12).

Se entiende como extracto seco al conjunto de todas las sustancias que no se volatilizan a 100° C, al analizar el comportamiento de este parámetro se comprobó que con el transcurso del tiempo disminuye paulatinamente, iniciando en un valor promedio de 15,23 g/lit y luego de 41 días descendiendo a un valor promedio de 9,8 g/lit. Valores aceptables según la norma NTE INEN 374 (15) y la Office International de la Vigne et du Vin (16).

A pesar de la variación numérica significativa en el análisis de varianza efectuado sobre los valores de extracto seco; se concluye que no existe diferencia significativa, la utilización de dos tipos de levadura y el momento de adición de la enzima no incide en el valor de extracto seco del producto final (12).

Mediante el análisis estadístico que se realizó en los valores obtenidos a partir del análisis de aromas por cromatografía para compuestos volátiles (metanol), alcoholes superiores (1-propanol, alcohol isobutílico, alcohol isoamílico) y ésteres (acetato de etilo y acetato de metilo) reportados en la tabla IV; se puede concluir que existe diferencia significativa en el Factor A: Tipo de levadura, es decir que la utilización de levadura de panificación y levadura vínica Lalvin EC 1118 provocan un efecto significativo en los compuestos volátiles mayoritarios del producto final (12).

Aplicando un análisis de comparación y correlación se puede afirmar que la producción de alcohol isoamílico, alcohol isobutílico, metanol y 1-propanol se encuentra relacionado con el uso de la levadura de panificación. Por otro lado se puede observar que la producción de acetato de etilo está directamente relacionada con el uso de levaduras vínicas. Se puede comprobar también que el tratamiento enzimático no tiene ningún efecto sobre los compuestos volátiles mayoritarios presentes. El contenido de metanol en los vinos esta dentro de los niveles aceptados por ANMAT —Administración Nacional de Alimentos, Medicamentos y Tecnología Médica|| de la República de Argentina (2000); con 0.025% de metanol para vinos frutales. Datos que se pueden comparar con la siguiente Tabla 4 (12):

**COMPORTAMIENTO FERMENTATIVO DE LA LEVADURA VÍNICA Y DE PANIFICACIÓN EN UN MOSTO DE MANZANA CON ADICIÓN DE ENZIMAS PECTOLÍTICAS**

**Tabla 4.** Diferencia Mínima Significativa para pH en el Factor A: Tipo de Levadura

Tratamiento	Acetato de metilo	Acetato de etilo	Metanol	1-propanol	Isobutílico	Isoamílicos
a1b1R1	5,42	27,51	88,42	11,13	71,72	323,38
a1b1R2	10,92	41,73	111,90	15,25	74,13	422,42
a1b2R1	6,64	28,43	44,56	9,19	70,47	375,54
a1b2R2	6,90	41,56	86,94	16,79	73,01	412,13
a1b3R1	8,37	25,44	36,84	10,44	63,12	366,14
a1b3R2	8,11	20,88	40,60	16,63	72,43	446,46
a2b1R1	3,44	40,29	76,41	8,07	57,69	204,25
a2b1R2	1,82	35,74	32,30	5,94	46,16	181,45
a2b2R1	2,94	39,32	38,30	7,24	58,83	225,54
a2b2R2	8,25	38,38	115,14	11,40	56,56	232,36
a2b3R1	2,38	37,53	35,30	6,59	52,50	203,49
a2b3R2	5,60	38,85	76,72	9,32	57,70	228,95

*Fuente: (12)*

**Nota:** Información obtenida por medio del Departamento de Tecnología de Alimentos. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos (ETSIA). Universidad Pública de Navarra (UPNA). Pamplona – España. 2010

El índice de polifenoles totales (IPT) es una medida de la riqueza en compuestos fenólicos de los vinos. Numéricamente los valores experimentales para IPT mostraron una mínima diferencia, sin embargo se pudo observar que la utilización de paquetes enzimáticos de clarificación afecta significativamente el contenido en compuestos fenólicos puesto que si se comparan los tratamientos b1 y b2 frente al tratamiento b3 independientemente del tipo de levadura que se utilizó para la fermentación se ve una variación bastante amplia en el contenido de compuestos fenólicos. Sin embargo al realizar un análisis de varianza con un nivel de significancia de 0,05; se determinó que no existe diferencia significativa, es decir que la utilización de dos tipos de levadura y el momento de adición de la enzima no incide en el valor de extracto seco del producto final. El comportamiento de los polifenoles totales (PT) es semejante al del índice de polifenoles totales (IPT), es decir estadísticamente se demostró que ninguno de los dos factores estudiados incide en el contenido de polifenoles totales (12)

La turbidez de los vinos se midió en un turbidímetro al final de la fase de maduración, esta medición fue muy útil para apreciar el efecto clarificante de las enzimas pectolíticas. Los vinos correspondientes a los tratamientos b3 (sin adición de enzima) presentan una turbidez muy marcada (entre 150 y 280 NTU), mientras que los vinos tratados con enzimas están perfectamente transparentes, con valores de turbidez entre 13 y 30 NTU. El momento de

adición de los enzimas no parece afectar al valor final de la turbidez, puesto que no hay diferencias significativas entre los tratamientos b1 y b2. Si se añaden al comienzo de la fermentación, los mostos-vinos se clarificarán antes, y las fermentaciones se producirán en mostos limpios, mientras que si se añaden tras la fermentación, ésta tendrá lugar en mostos turbios, y la clarificación se producirá en el vino. En cualquier caso los valores finales de turbidez serán muy semejantes (12).

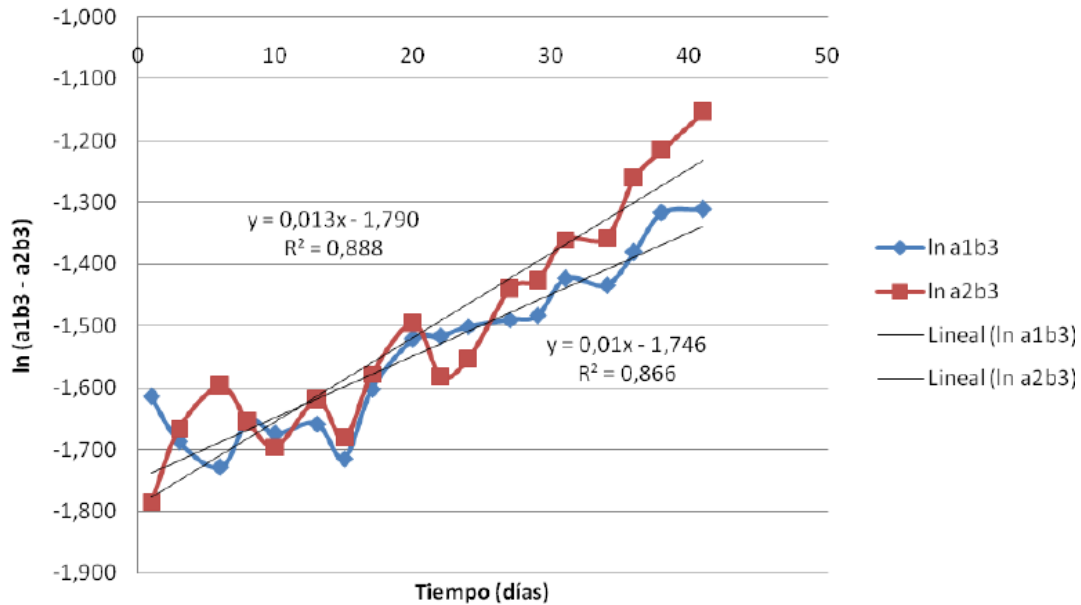
En el análisis microbiológico de los mejores tratamientos: a1b3 (levadura de pan, sin tratamiento enzimático) y a2b3 (levadura Vínica Lalvin EC 1118, sin tratamiento enzimático). Los análisis microbiológicos aplicados demostraron que no hubo presencia de mohos y levaduras en el vino, en todas las diluciones y en el blanco, un resultado similar se obtuvo para mohos y levaduras es decir ausencia total en todas las diluciones y en el blanco; es importante mencionar que las muestra fue sometida a condiciones aceleradas (40 °C) y con un seguimiento cada tres días (17).

El análisis de grado alcohólico en el mejor tratamiento obtenido con levadura vínica Lalvin EC 1118 y en el mejor tratamiento con levadura de pan Levapan, determinando que el contenido alcohólico es mayor en el vino elaborado a partir de levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. bayanus*) (18).

En la evaluación sensorial se utilizó una ficha de catación (19). En donde se especifica los tres tratamientos que se les asignó a cada catador y la calificación que cada uno de ellos le asignó a la muestra de acuerdo a la escala hedónica de 7 puntos que se propuso. Para el parámetro color, aroma, sabor acidez y dulzor se demostró que no hay diferencia significativa entre los tratamientos, es decir el tipo de levadura y el momento de adición de la enzima no provocan ningún efecto sobre estos atributos sensoriales en el vino. Cuando se valoró la astringencia se determinó que existe diferencia significativa en el factor: A tipo de levadura y al aplicar la prueba de Diferencia Mínima Significativa, es decir se corrobora que la utilización de dos tipos de levadura provoca un efecto distinto en el grado de astringencia que presenta el vino cuando está listo para su consumo, de modo que los vinos que mayor astringencia reportan son los obtenidos con el Factor A nivel 2 es decir utilizando levadura vínica Lalvin EC 1118 cuyo valor medio es igual a 5,22 frente al valor medio obtenido con levadura de pan cuya media es igual a 4,70.

En la figura 2 se observa el comportamiento que tuvieron los promedios de absorbancia (UA) a una longitud de onda de 420 nm de los dos mejores tratamientos durante 40 días a temperatura constante (40° C), valores que permitieron el cálculo del tiempo de estabilidad de vino de manzana mediante la identificación de la ecuación que describía la cinética para la estabilidad del vino, bajo una cinética de primer orden. El control de este parámetro bajo condiciones aceleradas busca evaluar la oxidación de los pigmentos (pardeamiento del vino) al someterlo a condiciones aceleradas de temperatura (40° C), reporta un valor de 0,259 UA para dicho parámetro; a una longitud de onda de 420nm, en vino de manzana. Se pudo establecer que la estabilidad de la coloración del vino elaborado está dentro de un rango entre 32 – 40 días (20).

Figura 2. Estabilidad del vino de manzana



$A_{420nm} = 0,259$  (YILDIRIM, 2006)

**a1b3**

$$\ln C = 0,01 t - 1,7467$$

$$\ln (0,259) = 0,01 t - 1,7467$$

$$t = ((\ln (0,259) + 1,7467) / 0,01)$$

**t = 40 días**

**a2b3**

$$\ln C = 0,0136 t - 1,7901$$

$$\ln (0,259) = 0,0136 t - 1,7901$$

$$t = ((\ln (0,259) + 1,7901) / 0,0136)$$

**t = 32 días**

Fuente: (12)

## DISCUSIÓN

En la presente investigación se corroboró que la utilización de enzimas antes o después de la fermentación no influye en la eficiencia de la operación de clarificación para la obtención de vino de manzana variedad Emilia (Reineta amarilla de Blenheim) como producto final. La discusión presentada en las secciones precedentes da cuenta de la situación para los distintos parámetros evaluados. Sin embargo, los datos obtenidos demuestran que el empleo de levaduras vínicas y panificación influye significativamente en la calidad sensorial final del vino de

manzana, variedad Emilia (Reineta amarilla de Blenheim). El producto obtenido cumple con todos los requisitos que se especifican en la Norma NTE INEN 374 para vino de frutas.

## **CONCLUSIONES**

El comportamiento fermentativo de la levadura vínica Lalvin EC 1118 (*S. cerevisiae bayanus*) difiere significativamente de la levadura de panificación Levapan (*S. cerevisiae*). Su utilización permite reducir tiempos de fermentación independientemente del momento en el que se emplee enzimas pectolíticas para su clarificación, la coloración del vino se mantiene estable por más tiempo y la edad química del vino es mayor. Así también, la producción de alcohol fue más eficiente.

El empleo de cultivos seleccionados ofrece vinos frutales que se diferencian por su calidad sensorial. A pesar de haber obtenido vinos tiernos, se evidencia una marcada preferencia por parte de los catadores en términos de intensidad y estabilidad de color, aroma frutal, sabor dulce, acidez y astringencia, atributos que un mayor tiempo de maduración tenderían a un alto equilibrio.

El momento de adición de enzimas pectolíticas (Lallzyme C-max), para la clarificación del vino de manzana variedad Emilia (Reineta amarilla de Blenheim) no influye significativamente en su nitidez, sin embargo, la utilización de este paquete enzimático influye directamente en la eficiencia del proceso de clarificación, lo que evita la realización de un mayor número de trasiegos.

## **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Mesas JM, Alegre MT. El papel de los microorganismos en la elaboración del vino. *Journal of Food*. 1999; 2(4).
2. Silva G. Creación de una estrategia competitiva para la exportación de vino de mortiño fabricado bajo parámetros de economía popular y solidaria desde Ecuador hacia Francia mediante marketing ecológico: Caso el último Inca 2020. Tesis. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Facultad de Comunicación Lingüística y Literatura; 2020.
3. Ojedis R, Bonilla J, Castillo L. Plan de exportación de vino de naranja hacia el mercado de Barcelona – España. *Revista Observatorio de la Economía Latinoamericana*. 2018 Octubre.
4. Narváez Sampedro MJ, Valdez Cata PV. Creación de un modelo asociativo para la producción y exportación de sidra de manzana en el cantón Cevallos. Tesis. Quito: ESPE;

2015.

5. Ochoa Z. Análisis de Homogeneidad en la percepción del consumo nacional y extranjero del vino. Guayaquil: Universidad Católica Santiago de Guayaquil, Facultad de Ciencias Económicas y Administrativas; 2019.
6. Bueno A, Girón M. Análisis de la producción de vino de fresa y su viabilidad de expostación en el mercado de Países Bajos. Tesis. Guayaquil: Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencias Administrativas; 2021.
7. Araya W. Creación de una empresa productora y comercializadora de vino artesanal de maracuyá, mora y uva en la ciudad de Cotacachi con fines de exportación al mercado español. Tesis. Sede Ibarra: Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Escuela de Negocios y Comercio Internacional; 2019.
8. Sánchez P. Estudio del impacto de levaduras no-Saccharomyces para mejorar la calidad de vinos tintos. Tesis. Palencia: Universidad de Valladolid, Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias; 2021.
9. Martín E. Levaduras transgénicas para elaboración de vino. Revisión Bibliográfica. Tesis. Palencia: Universidad de Valladolid, Escuela Técnica Superior de Ingenierías Agrarias; 2020.
10. Chuma W. Evaluación del proceso de clarificación de vino de uva, artesanal e industrial, utilizando látex de papaya papaína y gel de yausabara Pavonia sepium. Tesis. Ibarra: Universidad Técnica del Norte, Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales. Carrera de Agroindustria; 2018.
11. Pavón J. Desarrollo de una plataforma científica tecnológica para estudiar el proceso de clarificación de vinos orientada a disminuir la prevalencia de agentes clarificantes con potencial alergénico. Tesis. Concepción: Universidad de Concepción, Facultad de Farmacia - Programa de Ciencias y Tecnología Analítica; 2019.
12. Andrade-Albán MJ. Efecto de la utilización de enzimas pectolíticas (Lallzyme C-MAX) en un

- mosto elaborado con levadura vinica (LALVIN EC 1118) y de panificación para la producción de vino de manzana variedad emilia (Reineta amarilla de Blenheim). Tesis. Ambato: Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Carrera Ingeniería en Alimentos; 2009.
13. Norma Técnica Ecuatoriana INEN N°346. Bebidas Alcohólicas determinación del Extracto Seco. 1978. -03.
  14. Norma Técnica Ecuatoriana INEN N°360. Bebidas Alcohólicas determinación del grado alcohólico en Vinos. 1978. -04.
  15. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN N° 374. Bebidas Alcohólicas. Vino de frutas. Requisitos. 2016. -11.
  16. Martínez Rodríguez, M. D. C., Santiago Blanco, J. L., & Carrascosa Santiago, A. V. (2016). La vid, el vino y el CSIC: dos siglos de investigación= Vines, wines and the CSIC: two centuries of research. La vid, el vino y el CSIC, 1-274.
  17. OIV OFFICE INTERNATIONAL DE LA VIGNE ET DU VIN. Recuel des méthodes internationales d' analyse des vins et moûts. Paris;, Organizacion Internacional; 2021.
  18. Yildirim HK. Evaluation of colour parameters and antioxidant activities of fruit wines. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 2009; 57(1-2).
  19. Manfugás, J. E. (2020). Evaluación sensorial de los alimentos. Editorial Universitaria (Cuba).
  20. Peña, A. (2006). El color de los vinos. Revista Vendimia. Enero-Febrero, 24-26.