UNIVERSIDAD SEÑOR DE SIPÁN

FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y URBANISMO

ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL Y COMERCIO EXTERIOR

TESIS

EVALUACIÓN DEL CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DE GRANADA (*Punica granatum*) – LAMBAYEQUE 2016

Autor:

TANTARICO RIOJAS ERICK ANDRE

Asesor Especialista:

Ms. CASTILLO MARTÍNEZ WILLIAMS ESTEWARD

Línea de Investigación:

Biotecnología

Pimentel - Perú

2018

EVALUACIÔN DEL CONTENIDO DE ANTIOXIDANTES EN UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DE GRANADA (*Punica granatum*) – LAMBAYEQUE 2016

Aprobación del Informe de Investigación

Ing. Walter Bernardo Simpalo López

Asesor Metodológico

Ms. Williams Esteward Castillo Martínez

Asesor Especialista

Mg. Edward Florencio Aurora Vigo

Presidente del jurado de tesis

Mg. Danny Adolfo Bustamante Sigueñas

Secretario del jurado de tesis

Ms. Williams Esteward Castillo Martínez

Vocal del jurado de tesis

DEDICATORIA

Con Mucho Amor a mi madre María Margarita Riojas Llauce y a mi abuela Teodolinda Huaman Almestar quiénes nunca dejaron de alentarme y de creer en mí a pesar de las dificultades que hubo en el trayecto del proceso de mi carrera.

A mis Hermanos Freddy Aaron y Luis Fernando, quienes han sido mi gran inspiración de superarme profesionalmente.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios, por permitirme culminar con esta etapa de mi carrera, darme salud y cuidar a mis familiares.

A mi familia, por su compresión y estimulo constante, además de su apoyo incondicional a lo largo de mis estudios.

A los docentes: Ms. Augusto Mechato Anastasio, Mg. Edward F. Aurora Vigo y Ing. Walter B. Símpalo López, quiénes con su magnífica colaboración profesional supieron orientarme en el transcurso de esta investigación, a Junior Rodríguez por facilitarme las instalaciones de la planta piloto para realizar mis pruebas y por todo su apoyo.

Un agradecimiento muy especial a mi asesor Ms. Williams E. Castillo Martínez, quién me brindó su apoyo, orientación y guía en la elaboración del presente trabajo de investigación.

INDICE

Pág.

I. INTRODUCCION 12

1.1. Situación problemática 12

1.2. Formulación del problema 14

1.2.1. Delimitación de la investigación 14

1.2.2. Limitaciones de la investigación 14

1.3. Hipótesis 14

1.4. Objetivos de la investigación 14

1.4.1. Objetivo general 14

1.4.2. Objetivos específicos 14

1.5. Justificación e importancia de la investigación 15

1.6. Antecedentes de la investigación 16

1.7. Marco Teórico 19

1.7.1. Granada 19

1.7.2. Fermentación alcohólica 25

1.7.3. Levadura 29

1.7.4. Evaluación sensorial 30

1.8. Definición de la terminología (marco conceptual) 32

II. MATERIALES Y MÉTODOS 33

2.1. Tipo y diseño de investigación 33

2.1.1. Tipo de Investigación: 33

2.1.2. Diseño de la investigación 33

2.2. Población y muestra 33

2.3. Variables y operacionalización 33

2.3.1. Variables 33

2.3.2. Operacionalización 34

2.4. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos 34

2.4.1. Material biológico 34

2.4.2. Reactivos e insumos 34
2.4.3. Materiales complementarios 35
2.4.3. Equipos e instrumentos 35
2.5. Procedimiento para la recolección de datos 36
2.5.1. Caracterización de la Fruta 36
2.5.2. Proceso de elaboración de la bebida fermentada de granada 36
2.5.3. Métodos de evaluación fisicoquímica en la fermentación 39
2.5.4. Determinación de la producción de alcohol 39
2.5.5. Seguimiento de la concentración de sustrato 39
2.5.6. Determinación de antioxidante 39
2.5.7. Evaluación sensorial 40
2.5.8. Análisis estadístico e interpretación de los datos 41
2.6. Criterios éticos 41
2.7. Criterios de rigor científico 41
III. RESULTADOS Y DISCUSIONES 43
3.1. Caracterización fisicoquímica de la granada 43
3.2. Acondicionamiento de la granada para el proceso fermentativo 44
3.3. Evaluación del comportamiento fermentativo 44
3.4. Efectos de las variables independientes en las características fisicoquímicas y contenido de antioxidante de la bebida fermentada de granada (*Púnica Granatum*) 47
3.4.1 Efectos de las variables independientes en pH de la bebida Fermentada 47
3.4.2. Efectos de las variables independientes en la Acidez titulable de la bebida Fermentada 48
3.4.3. Efectos de las variables independientes en solidos soluble de la bebida Fermentada 49
3.4.4. Efectos de las variables independientes en contenido de antioxidante (DPPH) de la bebida Fermentada 50
3.5. Evaluación sensorial de las bebidas alcohólicas 51
3.5.1. Evaluación Estadística del Sabor 52

3.5.2. Evaluación Estadística del Color 53
3.5.3. Evaluación Estadística del olor 55
3.5.4. Evaluación Estadística de la Apariencia general.....57
3.6. Discusión de resultados 59
IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES 60
4.1. CONCLUSIONES 60
4.2. RECOMENDACIONES 60
REFERENCIAS: 61

INDICE DE FIGURAS

Pág.

Figura 1- Granada (Punica granatum) 19
Figura 2 - Morfología de Granada (Punica Granatum) 20
Figura 3 - Granada Variedad Wonderful.....24
Figura 4 - Granada Variedad Mollar 24
Figura 5 - Granada Variedad Acco.....25
Figura 6 - Esquema del proceso de elaboración de una bebida fermentada a partir de granada.....38
Figura 7 - Cartilla de evaluación sensorial. 40
Figura 8 - Muestreo Aleatorio 43
Figura 9 - *Acondicionamiento de Granada (Púnica Granatum) para proceso Fermentativo*.....44
Figura 10 - *Comportamiento en el consumo de Solidos solubles en el proceso fermentativo de una bebida alcohólica a partir de granada (Punica Granatum)* 45
Figura 11 - Comportamiento en el pH en el proceso fermentativo de una bebida alcohólica a partir de granada (Punica Granatum) 45
Figura 12 - Comportamiento en el °GL (grado alcohólico) en el proceso fermentativo de una bebida alcohólica a partir de granada (Punica Granatum) 46
Figura 13 - Comportamiento en el %AC (porcentaje de acidez) en el proceso fermentativo de una bebida alcohólica a partir de granada (Púnica Granatum).....46
Figura 14 - Gráfico de interacción de las variables independiente en el pH de la Bebida Fermentada de Granada 48
Figura 15 - Gráfico de interacción de las variables independiente en la acidez titulable de la Bebida Fermentada de Granada 49
Figura 16 - Gráfico de interacción de las variables independiente en los sólidos solubles de la Bebida Fermentada de Granada 50
Figura 17 - Gráfico de interacción de las variables independiente en el contenido de antioxidante (DPPH) de la Bebida Fermentada de Granada 51

INDICE DE TABLAS

Pág.

Tabla 1- Composición de la porción comestible de granada variedad Wonderful.....22
Tabla 2 - Tipos de Levaduras más usadas 29
Tabla 3 - *Parámetros de Calidad Sensorial* 31
Tabla 4 - Operacionalización de variable Independiente 34
Tabla 5 - Matriz experimental de los diferentes tratamientos 41
Tabla 6 - Características fisicoquímicas del zumo de granada recién obtenida 43
Tabla 7 - Resultados obtenidos según la matriz experimental de los diferentes tratamientos 47
Tabla 8 - Análisis de Varianza para pH.....48
Tabla 9 - Análisis de Varianza para acidez titulable 49
Tabla 10 - Análisis de Varianza para solidos solubles 50
Tabla 11 - Análisis de Varianza para el contenido de antioxidante (DPPH).....51
Tabla 12 - Resultados de la Evaluación Sensorial, Atributo Sabor – Bebida Alcohólica a partir de Granada. 52
Tabla 13 - ANOVA/Prueba de Tuckey Atributo sabor– Bebida Alcoholica a partir de Granada.....53
Tabla 14 - Resultados de la Evaluación Sensorial, Atributo color – Bebida Alcohólica a partir de Granada. 54
Tabla 15 - ANOVA/Prueba de Tuckey Atributo Color – Bebida Alcohólica a partir de Granada.....55
Tabla 16 - Resultados de la Evaluación Sensorial, Atributo olor – Bebida Alcohólica a partir de Granada. 56
Tabla 17 - ANOVA/Prueba de Tuckey Atributo olor – Bebida Alcohólica a partir de Granada.....57
Tabla 18 - Resultados de la Evaluación Sensorial, Atributo Apariencia General – Bebida Alcohólica a partir de Granada.....58
Tabla 19 - ANOVA/Prueba de Tuckey Atributo Apariencia General – bebida Alcohólica a partir de Granada.....59

RESUMEN

Además de la producción de vinos de uva, el vino de frutas alternativo viene siendo practicada en todo el mundo, mostrando un mercado en expansión. Este trabajo tuvo como objetivo evaluar físico-químicamente la bebida alcohólica producida a partir de la fermentación del fruto de granada *(Púnica Granatum)*. La fermentación fue realizada a una temperatura constante de 27,0 ° C ± 0,6 ºC por un período de siete días, obteniendo los siguientes valores: grado alcohólico 14 °GL, 12 Brix, pH 3.5, acidez total titulable 3.2 % y contenido de antioxidantes de 1863.07 mL/mg. El fermentado de granada fue filtrado, envasado y almacenado a 5,0 ° C ± 0,4 ° C. Se tuvo variables independientes el tipo de levadura y la concentración de esta, para lo cual se aplicó un diseño factorial 2k. Los valores obtenidos de los análisis físicos y químicos estuvieron en el rango para vino de uva, según la norma técnica peruana.
Palabras claves: Bebida Fermentada, Contenido de antioxidantes, granada *(Púnica Granatum)*

ABSTRACT

In addition to the production of grape wines, alternative fruit wine is being practiced all over the world, showing an expanding market. The objective of this work was to evaluate physico-chemically the alcoholic beverage produced from the fermentation of the pomegranate fruit (Púnica Granatum). The fermentation was carried out at a constant temperature of 27.0 ° C ± 0.6 ° C for a period of seven days, obtaining the following values: alcoholic degree 14 ° GL, 12 Brix, pH 3.5, titratable total acidity 3.2% and content of antioxidants of 1863.07 mL / mg. The fermented pomegranate was filtered, packed and stored at 5.0 ° C ± 0.4 ° C. The yeast type and its concentration were independent variables, for which a 2k factorial design was applied. The values obtained from the physical and chemical analyzes were in the range for grape wine, according to the Peruvian technical standard.

Key words: Fermented Beverage, Antioxidants content, pomegranate (Granatum Punic)

I. INTRODUCCION

La granada (*Punica granatum L.)* es una fruta originaria de Oriente Medio y crece en regiones de clima árido. Es una fruta con una larga historia medicinal, ampliamente utilizada por muchos pueblos, principalmente los orientales. La fruta presenta semillas revestidas por una pulpa rojiza donde están presentes compuestos fenólicos, principalmente las antocianinas.

La granada tiene alta concentración de flavonoides y polifenoles, los cuales presentan actividades antioxidante, antiviral y antitumoral. La fruta presenta en su composición compuestos fenólicos como: antocianinas (delfinidina, cianidina y pelargonidina), ácidos fenólicos y taninos. Entre los ácidos fenólicos, el ácido elágico es uno de los más encontrados en la granada.

La principal materia prima para la fabricación de vinos es la uva, pero en busca de agregar valores a diferentes frutas, y debido a avances tecnológicos en la vinicultura han promovido la búsqueda de nuevos procesos para la fabricación de bebidas fermentadas de frutas como la producción de fermentados a partir de frutas como mora, piña, naranja, kiwi, entre otras. Para el presente estudio se adaptó el modelo de fabricación de vino de uva para verificar si es posible la fabricación de una bebida fermentada de granada (vino de granada) y analizar sus propiedades organolépticas.

1.1. Situación problemática

Púnica granatum L. pertenece a la familia Punicácea y se conoce comúnmente como granada. Originario de Asia, pero se cultiva en todo el mundo en regiones con climas tropicales y subtropicales (Correa, 1978). Las condiciones ideales de adaptación y rendimientos se dan en climas cuyas temperaturas fluctúan entre los 15 y 25 ºC y crece desde el nivel del mar hasta los 1000 msnm. Una de las virtudes muy importantes es el alto contenido de antioxidantes incluso superando al vino en 3 veces, a la naranja y otros productos como el té verde y la manzana también se puede mencionar que tiene una gran capacidad antiinflamatoria y antiséptica (Caligiani et al., 2010).

En 3 regiones es donde hay una gran producción de granada fresca siendo Ica quien tiene mayor producción llegando a ser de 51 %, en Lima llega la producción al 21%, sembrándose en los valles de Chilca y Huaral, y en menor proporción, pero no menos importante la producción en la región La Libertad es de 12%. (AMPEX, 2006)

(Velázquez ,2015), Presidente ejecutivo de Sierra Exportadora, detallo: aprovechando los residuos o descartes de los frutos se puede realizar destilados como una visión nueva de negocio, siendo reconocido a nivel mundial como productores de pisco (destilado de uva), se promueve el destilado con estos residuos o descartes de los frutos esperando alcance el camino del pisco.

La degradación del alcohol y la creación de dióxido de carbono son parte de la fermentación alcohólica a la cual se le llama bio reacción. (Vasquez & Dacosta, 2006). Siendo las levaduras las causantes de este proceso de trasformación.

Siendo la *Saccharomyces cerevisiae,* la más común de las levaduras usadas para este proceso fermentativo.

En el Perú existe una gran diversidad de residuos y materias primas muy propicios para la elaboración de bebidas fermentadas, donde es muy rescatable sus atributos sensoriales como el color, sabor y olor, frutos como el aguaymanto, camu camu, arándanos, granada, por citar algunos; sabores bastante ácidos que permiten obtener un buen rendimiento.

Sin embargo, en un proceso fermentativo que tanto pueden verse afectados estos atributos sensoriales principalmente los antocianos y carotenos, que además de brindar un buen color permitirían obtener una bebida por un buen aporte antioxidante.

Los antioxidantes naturales son principalmente compuestos fenólicos que pueden se encuentran distribuidas en toda la estructura de la planta (Shahidi & Naczk, 1995). Uno de los primeros trabajos reportados, que examinaron más de 70 especias y hierbas (Chipault & Mazumo, 1956). Desde entonces el interés de la actividad antioxidativa de especies se ha incrementado y logrando un incremento en la información y estudios sobre los mismos (Yanishlieva et al., 2006)

En la actualidad, la granada ha cobrado importancia mundial por su propiedad antioxidante, mismas que le refieren propiedades farmacológicas, anticancerígenas, hepatoprotectivas, antitumorales, antimicrobianas, antidiarreicas, además de problemas a los riñones (Lansky y Newman, 2007; Syed et al., 2007; Bektas & Ozturk, 2007; Shahidi & Nazck, 2009; Celik et al., 2009), también describen cualidades para la prevención del funcionamiento cardiovascular (Aviram & Dornfeld, 2001). Hay una gran variedad de estudios realizados a su poder farmacológico y terapéutica (Borochov-Neori et al., 2009)

La creación de nuevos productos en las plantas procesadoras de alimentos innova en el uso de antioxidantes naturales. Por lo que la granada es una fuente de alto contenido

de antioxidantes lo cual está probado en investigaciones científicas además de comprobar el aporte que este tiene para el desarrollo de la salud. (López et al., 2010)

1.2. Formulación del problema

¿En qué medida la variedad de granada "Wonderful", y en que concentración de levadura *Saccharomyces cereverisae bayanus*, influirá en el contenido de antioxidantes en una bebida alcohólica a partir de esta, Lambayeque - 2016?

1.2.1. Delimitación de la investigación

Se realizó en la ciudad de Pimentel, en la Planta Piloto de la Universidad Señor de Sipán, escuela de Ingeniería Agroindustria y Comercio Exterior, que se realizó en el período de abril – Diciembre.

1.2.2. Limitaciones de la investigación

La granada (*Punica granatum*), es una fruta con una estacionalidad entre los meses de febrero a junio, podría ser una limitación debido a que esta fruta no es perenne, sobre todo en nuestro país.

1.3. Hipótesis

H_i: Una bebida fermentada a partir de granada con Saccharomyces cereverisae bayanus a una concentración de 0.2 g/L permite obtener un mayor contenido de antioxidantes.

Ho: El indiferente el tipo de levadura y la concentración en el contenido de antioxidantes de una bebida fermentada a partir de granada

1.4. Objetivos de la investigación

1.4.1. Objetivo general

Evaluación del porcentaje de antioxidantes en una bebida alcohólica a partir de granada (*Púnica granatum*).

1.4.2. Objetivos específicos

- Caracterizar fisicoquímicamente el fruto de la granada.
- Evaluar el comportamiento fermentativo mediante el seguimiento del consumo de sustrato y correlacionar con parámetros fisicoquímicos a lo largo del proceso.
- Determinar las condiciones de fermentación en función del contenido de alcohol.

- Determinar la mejor bebida alcohólica mediante una evaluación sensorial.
- Determinar la cantidad de antioxidantes presentes en el jugo y la bebida alcohólica a partir de granada.

1.5. Justificación e importancia de la investigación

con mecanismos de protección contra enfermedades cardiovasculares, como el incremento de las HDL (lipoproteínas de alta densidad), la reducción de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) y la disminución de su oxidación (German & Walzem, 2000). Sin embargo, la hipótesis planteada acerca de si el vino es realmente más saludable que la cerveza y otros licores sigue siendo muy controversial (Lindberg & Amsterdam, 2008).

En la actualidad se producen bebidas fermentadas de frutas (tipo vino) de manera industrial en todos los países del mundo, que permitan conservar las frutas después de las cosechas, así como la búsqueda de nuevas formas de consumo tras el procesamiento industrial, que ha permitido el desarrollo de alternativas biotecnológicas para la obtención de bebidas derivadas de las frutas, pues existe una diversidad de microorganismos, con diferentes particularidades fisiológicas y metabólicas, que permiten la producción biológica de etanol.

Muchas investigaciones determinan que los productos como verduras, frutas aportan antioxidantes en nuestro consumo diario de estas, aportando salud, protección y previniendo riesgos para la salud. Pero también decir que se tiene que seguir realizando investigaciones o estudios para comprender mejor sus aportes.

En Perú las producciones de bebidas alcohólicas tienen como principales materias primas a la caña de azúcar y la uva. Existiendo en nuestro país una diversidad de materias primas que aún no están teniendo el debido valor agregado y que están siendo exportadas como tal, la granada tiene gran poder nutricional rica en tanino, flavonas, fibra, ácido fólico, vitaminas (B1, B2, B3, B9, E), pectina y antioxidantes además de minerales como zinc, hierro, cobre y fosforo. Pero también tiene la capacidad de poder otorgar beneficios para la salud introduciéndose a nivel molecular afectando de manera beneficiosa a la célula.

A comparación con otros productos como el té verde la granada posee entre 2 a 7 veces el poder antioxidante. Estos por oxidación amortiguan los daños que ocasionan los radicales libres. Incrementa el nivel de oxígeno en el corazón al consumir el jugo y las semillas esto dicho por investigaciones. También existen investigaciones que informan que el consumo de granada en el tiempo ayuda a combatir la disfunción eréctil.

Según experiencias de laboratorio y ensayos se logró determinar actividad biológica tanto de la granada y sus componentes bioactivos. Regulan la homeostasis lipídica y regulan las inflamaciones además de tener un gran poder antioxidante. Según las condiciones patológicas estos actúan dependiendo de los parámetros biológicos para obtener sus funciones beneficiosas para la salud.

Todas las investigaciones y estudios realizados nos dicen que esta fruta tiene una calidad excepcional haciendo de esta única e interesantemente especial. El mundo antiguo considero a este fruto como fuente de regeneración y vida, lo que se puede comprobar hoy en dia.

Lo que se elaboro tiene como propósito conservar y utilizar la granada como materia prima, obteniendo nuevos productos, para el mercado tanto de las regiones y nacional. Siendo una alternativa para los consumidores con alto valor para la salud. Existe los recursos como equipamiento, equipos y materia prima como para poder realizar la experiencia de elaborar un nuevo producto, buscando los parámetros y formulaciones de acuerdo a las experiencias que se realizaran.

1.6. Antecedentes de la investigación

Romero (2012), investigaron los parámetro condiciones de operaciones iniciales para el proceso de obtención de hidromiel tanto en laboratorio como a nivel semipiloto. Enriqueciendo miel con fosfato de amonio monobásico con una concentración de 17 °Brix, se logró obtener miel fermentada (10% de grado alcohol) en forma de bebida, los niveles de rendimientos fueron 95% y se produjo 8.2 g/L-día, superando la productividad máxima teórica de 94%. Al contenido de sólidos y perfil de carbohidratos se le realizo el seguimiento para poder realizar el estudio cinético, y pudiendo reconocer los compuestos volátiles mediante un análisis cromatógrafico de gases; reconociendo ácido acético 0.5 g/l; metanol de 20 ppm en parámetros de pH final de 3.2 y acidez de 4.2 g/l. de ácido tartárico. Con estos parámetros y resultados se

confirmó la comercialización y viabilidad del producto final, siempre cumpliendo la normativa nacional para bebidas tipo vino.

Cabrera, Cuenca y Quicazan (2012) evaluaron el Efecto de la proporción de pulpa en el mosto para la producción de bebida alcohólica de guayaba (Psidium guajava), con la finalidad de darle un valor agregado a la guayaba (Psydium guajava) y así potenciar la agroindustria en Colombia, elaborando una bebida alcohólica. Para esto se mantuvo los parámetros de fermentación constante y se realizó 3 tratamientos de pulpa de guayaba (mosto) inicial. Para realizar el proceso de fermentación se usó como levadura el Uvaferm BC (Saccharomyces cerevisiae bayanus) realizando pruebas cosntantes de pH, Acidez tituable (AT) Y solidos solibles (SS). Concluyéndose que las concentraciones de pulpa no afectan la velocidad de fermentación significativamente y que la concentración más baja le da las características sensoriales de la fruta logrando una aceptación por parte del panel.

Rodrigo y Candy (2011), determinaron las propiedades físicas y quimicas de 8 vinos peruanos; contenidos aromáticos, resveratrol, actividad antioxidante, propiedades fisicoquímica y quercetina. Los resultados que se obtuvieron como parte de la investigación reportan; pH van de 3,18 a 3,97 y la densidad 0,9916 a 1,0174 g/mL. Mientras que por espectrofotometría se determinó la cantidad flavonoides totales (1869,19 a 3138,85 mg/L), fenoles totales (2374,25 a 3610,43 mg/L) y antocianinas (102,64 a 317,50 mg/L). Con el HPLC (cromatografía líquida de alta performance), se determinó la presencia de trans-resveratrol compuesto presente en 6 vinos del total de 8. Siendo el vino de marca Tabernero Malbec-Merlot el que concentro más contenido de este compuesto (0,56 ± 0,03 µg/mL), siendo también la de menor actividad antioxidante demostrado en el análisis o test de DPPH. Los compuestos aromáticos se determinaron usando un GC-MS (cromatógrafo de gases acoplada a espectrometría de masas), siendo los que más contracción tuvieron monoetil éster del ácido butanodioico, ácido sórbico, ácido propanoico y feniletanol.

Vallejo (2011) estudió la producción de vino de carambola (*Averrhoa carambola*) planteándose obtener un producto de aceptación por parte de los consumidores. Se estudió el índice de madurez como parte esencial para la elaboración de vino, relacionándose entre sí con el contenido de sólidos solubles (°Brix), pH y acidez. El estado de madurez se determinó por la coloración amarillenta de la fruta teniendo 2 grados de madurez una de 25% y la otra de 100% de coloración amarilla. Este último

tiene un pH de (3.75±0.33), sólidos solubles (7.65±1.96) siendo los mejores parámetros para elaborar vino. Se trabajó mostos con dos concentraciones de solidos 21 y 25 ºBrix, se fermento a 20 y 25 °C en un biorreactor. Para el producto final se usó la norma INEN 374: "Vino de fruta" para realizar los análisis fisicoquímicos como acidez total, grado alcohol, anhídrido sulfuroso y metanol. La concentración de 25ºBrix y 25ºC fue la que mejor aceptación obtuvo cumliendo la norma técnica ecuatoriana.

Recalde (2010), elaboro de una bebida alcohólica fermentada de jícama, para cual se trabajó con dos tratamientos o concentraciones la primera (30% manzana y 70% jícama), la segunda (40% manzana y 60% jícama, y 3 proporciones de ***Saccharomyces cerevisiae*** (0,5 g/L, 1,5 g/L, y 2,5 g/L). Se determinó que el primer tratamiento con la concentración de levadura de 1,5 g/L, obtuvo mayores grados alcohólicos con respecto al tiempo de fermentación. Siendo una bebida con 6°G.L. obtenida en 192 horas. Se realizó la cinética de consumo de sustrato midiendo los grados brix con respecto al tiempo de fermentación para cada uno de los concentraciones y tratamientos. También se determinó la formación de etanol y su rendimiento. Con el primer tratamiento (30% manzana y 70% jícama), y una concentración de levadura (***Saccharomyces cerevisiae***) de 1,5 g/L obtuvo 0,23 g de etanol por L/h de bebida elaborada. Para mejorar la calidad organoléptica se realizó clarificaciones, pasteurizaciones y trasiegos. Se realizó los análisis microbiológicos y fisicoquímicos para obtener una bebida de alta calidad e inocuidad. La aceptabilidad se determinó por análisis sensorial siendo las que reunión las condiciones antes mencionadas.

Nieto (2009), estudió la actividad fermentativa de la levadura ***Saccharomyces cerevisiae*** activa seca (LAS), con respecto a la misma levadura adaptada (LA), usando jugo de caña de azúcar como sustrato. La levadura se adaptó a 20 ºBrix a una temperatura de 28 ºC y a pH 4.7, se realizaron varios ciclos logrando el desarrollo de la levadura, acoplándose al medio o sustrato y conservándose con parámetros controlados. Se determinó las condiciones de los parámetros para amabas levaduras (LAS y LA) como Temperatura, ºBrix y pH. Para obtener una fermentación óptima se realizó un díselo estadístico anidado cruzado con 9 tratamientos obteniéndose para ambas levaduras temperatura de 22 °C, 20 ºBrix y pH de 3.7 siendo estos los parámetros para una mejor fermentación. Se le adiciono nutrientes (acetato de potasio, urea, fosfato) mejorando la fermentación alcohólica o formación de metanol. La uera en la levadura adaptada (LA), se incrementó el poder fermentativo debido a la presencia de urea. Otro punto importante

fue la evaluación de la concentración del inoculo para acelerar el tiempo de fermentación siendo a mayor cantidad de inoculo, menos tiempo de fermentación.

1.7. Marco Teórico

1.7.1. Granada

La granada perteneciente a la familia *Punicaceae* de origen irani, conocido en Persia como "Anar" (Sheets et al., 2009; Mohseni, 2009). Actualmente el fruto se cultiva en grandes proporciones en el país originario como en el sureste de asia (zonas aridas) y en áfrica mediterránea. Durante la conquista de america y con la llegada de misioneros procedentes de España trajeron el fruto con ellos. y logro adaptarse en algunas zonas principalmente cálidas y áridas.

Figura 1- *Granada (Punica granatum)*
Fuente: Viviendo Sanos, 2015

Taxonomía y Morfología

Según (InfoAgro, 2015)**,** la morfología y la taxonomía es:

- **Familia:** *Punicaceae*
- **Especie:** *Punica granatum L.*
- **Porte:** Arbol pequeño caducifolio, tiene forma de arbusto, con altura que llegan alcanzar de 3 – 6 m., con el tronco algo retorcido. De color grisáceo la corteza con formas escamosas y de madera dura. De ramas cuadrangulares de 4 alas cuando están jóvenes, pero cuando alcanza la adultez se vuelven redondas de color marrón grisáceo, las ramas tienen forma de espinas, la copa extendida.

- **Sistema radicular:** una raíz con corteza de color rojiza con muchos nudos contiene punicina o peletierina que es un alcaloide con características vermífugas.
- **Hojas:** tienen un color verde con brillo con borde entero. Nacen y crecen de forma opuesta a las ramas tienen se agrupan formando hacecillos, de forma abovada miden como máximo 8 x 2 cm y las más pequeñas pueden medir entre 2 x 0.8 cm. Las hojas segregan azucares como fructuosa, glucosa y sucrusa. Tiene un peciolo pequeño y correoso.
- **Flores:** se agrupan de 2 a 5, son hermafroditas, de 3 a 4 cm de diámetro tienen color rojo y son grandes de forma acampanada están compuestas entre 5 a 8 pétalos y sepalos con caliz en la fruta. En algunas flores aparece el color blanco como matiz alcanza su florecimiento en los meses de mayo a Julio.
- **Fruto:** se le llaman balausta es una baya de forma redonda, tiene un color rojo brillante, verde amarillo o blanquizco y cuando madura raramente es violeta, tiene un diámetro de 5 a 8 cm, contiene semillas y tiene una cascara dura coriácea.
- **Las semillas:** Duras y de forma angular cubierta por una capa fina o pulpa conteniendo jugos de color rosa, roja o blanca de sabor astringente algo acida.

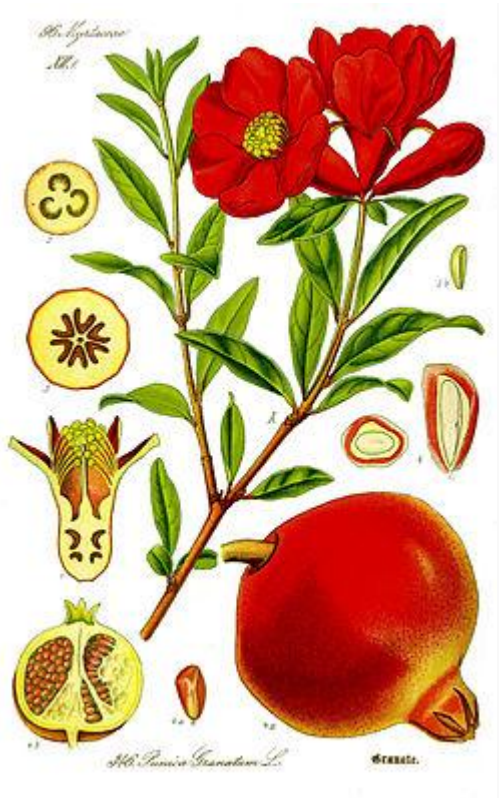


Figura 2 - *Morfología de Granada (*Punica Granatum)
Fuente: Biolib - (Otto Wilhelm, 1885)

Consumo y usos

En los países de origen y partes del mundo, de grandes producciones de granadilla se consume fresco y como jugo, también son usados en la herbolaria tradicional, se usa la corteza, hojas, frutos (cascara, jugo y semilla) y flores. (López et al., 2010)

El fruto ha alcanzado una relevancia en estos tiempos, siendo el jugo envasado un derivado principal. También son usados en elaborar confitura y mermeladas, además de helados y geles o jalea. (Andreu-Sevilla et al., 2008).

También se le da uso como dentífrico en países como la india como también es usado como tinte para telas. Se usa en la obtención de ácido cítrico y citrato de sodio, en bebidas carbonatadas como refrescantes, jarabes y vinos. (Tous & Ferguson, 1996; MPGRA, 2009).

En nuestro país el uso de granadilla es su consumo en fresco y en la industria pastelera (elaboración de postres).

Composición

En Estados Unidos existen reportes que indican que la variedad Wonderful es la que mejor se adaptó a suelos del continente americano según el departamento de Agricultura de Estados Unidos (USDA, 2009), en la siguiente tabla 1 mostramos la composición proximal.

Un aspecto que tiene relevancia en los últimos años es el contenido de antioxidantes como las antocianinas, polifenoles y fenoles de la granada. Según investigaciones estos componentes tienen propiedades farmacológicas y nutraceuticas.

Los compuestos fenólicos totales están en un rango de 2.4 y 9.3 g/L de jugo y antocianinas están en un rango de 0.815 y 7.760 g/L, en variedades de granadas cultivadas en iran (Mousavinejad et al., 2009)

Tabla 1- *Composición de la porción comestible de granada variedad Wonderful*

Nutriente	Unidades	Valor por 100g
	Proximal	
Agua	g	77.93
Energia	kcal	83.0
Proteina	g	1.67
Lipidos Totales (grasa)	g	1.17
Cenizas	g	0.53
Carbohidratos (Por diferencia)	g	18.7
Fibra dietaria total	g	4.0
Azucares totales	g	13.67
	Minerales	
Calcio	mg	10
Hierro	mg	0.3
Magnesio	mg	12
Fósforo	mg	36
Potasio	mg	236
Sodio	mg	3.0
Zinc	mg	0.35
Cobre	mg	0.158
Manganeso	mg	0.119
Selenio	mcg	0.5
	Vitaminas	
Vitamina C, ácido ascrbico total	mg	10.2
Tiamina	mg	0.067
Riboflavina	mg	0.053
Niacina	mg	0.293
Acido Pantoténico	mg	0.377
Vitamina B-6	mg	0.075
Folato total	mcg	38
Colina Total	mg	7.6
Vitamina E, Alfa-tocoferol	mg	0.6
Vitamina K	mg	16.4
	Lípidos	
Ácidos grasos saturados	g	0.12
Ácidos grasos monoinsaturados	g	0.093
Ácidos grasos poliisaturados	g	0.079

Fuente: (USDA, 2009)

Historia

El granado es conocido desde muy antiguo, siendo uno de los frutales bíblicos junto a la palmera, la vid o el olivo. Su cultivo se ha realizado tradicionalmente por la zona Oriente próximo, extendiéndose después al resto de Asia y la cuenca del Mediterráneo. Se trata de un árbol frutal que comenzó a ser cultivado por los fenicios y los griegos. Los antiguos romanos aplicaban sus frutos, llamados entonces manzanas cartaginesas (*Malum Punicum*), en ceremonias y cultos como símbolo de orden, riqueza y fecundidad. Pero fueron los árabes quienes más difundieron a esta especie vegetal, debido a ensalzar las virtudes medicinales de sus frutos. (López & Moreno, 2015)

Variedades

La campaña de disponibilidad de este fruto se inicia en abril y finaliza en agosto, lo que nos pone un paso adelante con respecto a otros países (Andina, 2010).

El incremento de la demanda de consumo de granada y jugo concentrado de granada en los últimos tiempos se da porque este fruto es reconocido por sus nutrientes y aporte a la salud. Siendo su capacidad antioxidante y el alto contenido de vitamina C sus principales aportes.

"Las variedades Acco y Wonderful, que tienen gran demanda en el mercado internacional crece en el Perú por sus diversas condiciones agroclimáticas que ofrecen condiciones de cultivo y producción"

Según el Minagri (Ministerio de agricultura y riego) se cultivaron 176 hectáreas en el 2009 y a producción de granada fue de 1,086 toneladas métricas (TM). Destacando Ica 53%, Lima 22% y La libertad 8% como zonas productoras de granada.

Cabe mencionar el crecimiento de la producción del cultivo de granada en regiones como Ancash, Tacna y Lambayeque.

A. Wonderful: Es la variedad con más campos de cultivo en el mundo, procedente de los Estados Unidos e Israel. Se caracteriza por presentar frutos redondos, pero con su corona alargada, de calibre muy grande y semillas pequeñas, agridulces y de dureza media. El color externo es rojo-purpura oscuro, con la cascara medio-gruesa y el color interior es rojo vinoso intenso. La piel resiste muy bien la manipulación. Presenta sabor

acido. La planta es vigorosa y productiva. Variedad sensible a un ataque de hongos Fito patógenos causados por *Alternaria Spp* (López & Moreno , 2015).

Figura 3 - *Granada Variedad Wonderful*
Fuente: Variedades de Granada (L'aguesl & Yagua, 2015)

B. Mollar de Elche: Su fruta es redondeada, de calibre medio-grande, con semillas de gran dulzor diferenciándolas de otras variedades, con un rojo amarillento en la parte exterior y con un rojo claro en la parte interna, una piel que permite ser manipulada y de alta resistencia. (López & Moreno , 2015).

Figura 4 - *Granada Variedad Mollar*
Fuente: Variedades de Granada (L'aguesl & Yagua, 2015)

C. Acco: procedente de Israel. Cultivo temprano de coloración rojiza. Color de la cascara: rojo-rosado y uniforme. Arilos de coloración menos rojiza, similar a "Wonderfull". Semilla suave y blanda. Sabor dulce poco acida. (López & Moreno , 2015).

Figura 5 - *Granada Variedad Acco*
Fuente: Variedades de Granada (L'aguesl & Yagua, 2015)

D. Shani: procedente de Israel. Cultivo temprano de coloración rojiza. Color de la cascara: rojo-rosado y uniforme para toda la superficie que aparece muy temprano en el desarrollo. Arilos de coloración roja oscura. Semilla suave y blanda. Cascara delgada. Sabor: dulces, no acido. (López & Moreno , 2015).

E. Emek: procedente de Israel. cultivo temprano. Cascara de coloración rosada oscura, uniforme para toda la superficie. Color de arilos: rojo. Dureza de la semilla: mediana. Grosor de cascara. Mediana. Sabor dulce. (López & Moreno , 2015).

F. Dholka': procedente de la india. Fruto grande, piel delgada de coloración amarilla-rojiza y morada en la base, con pepitas muy dulces (López & Moreno , 2015).

G. Paper Shell': procedente de los Estados Unidos, también conocida como Spanish Sweet, de color amarillo con matices purpuras, de cascara gruesa, en su interior con pepas pequeñas muy dulces de color roja. (López & Moreno , 2015).

1.7.2. Fermentación alcohólica

Es la formación de etanol y CO_2 por parte de la glucosa, de manera cuantitativa. Esta formación está influenciada por levaduras, algunas bacterias y mohos, pero fundamentalmente por la Saccharomyces. Por la fermentación alcohólica fenómeno que se aplica en la alimentación de manera que se pueda elaborar productos como cerveza, pan, vino y otras bebidas con contenido alcohólico. La Zymomonas mobilis es otro microorganismo que puede formar alcoholes, pero sigue un metabolismo distinto a las levaduras.

También se le conoce a la fermentación alcohólica como fermentación de etanol o fermentación etílica, es un proceso anaeróbico (sin presencia de oxigeno – O_2), debido a la acción de algunos microorganismos que consumen el sustrato (glucosa, almidon, sacarosa, etc.), para asi obtener como producto final alcohol en forma de metanol (CH3-CH2- OH), CO_2 en forma de gas y algunos componentes que son consumidos por los propios microorganismos en su metabolismo celular (moléculas de ATP). Este producto obtenido es usado para la producción de bebidas alcohólicas como la cerveza, la sidra, el vino, la cava, etc. Pero en estos últimos tiempos se usa este procedimiento fermentativo para la producción de biocombustible a nivel industrial.

Se estudió a los principales microorganismos que podrían alterar la producción de vino en un proceso de fermentación alcohólica., encontrándose los principales microorganismos causantes de las alteraciones y el mecanismo metabólico de alteración. En la actualidad existen técnicas de aplicación microbiología en la enología, manipulando genéticamente a los microorganismos con los que se producen vinos y factores que afectan la fermentación y enfermedades anaeróbica del vino. (Mesas & Alegre, 1999).

Según (Cotillas, 2004) la reducción de la astringencia, de los compuestos fenólicos, del color, de partículas polimerizadas se da cuando se aplica el proceso de clarificación en vinos. La relación clarificante – vino, va a depender de la dosis pudiendo perder el volumen del cuerpo y alguna seguridad gustativa.

Otros estudios nos dicen (Nelson et al., 2005), que la elaboración de cerveza es por fermentación etanolica, ya que en los granos de cebada este contenido por glúcidos que son sintetizados por enzimas glucolíticas presentes en la levadura. Los glúcidos (polisacáridos), son degradados a mono y polisacáridos por acción de la amilasa y maltasa (enzimas), se metaboliza el azúcar o sustrato por acción de las células de la levadura de forma anaeróbica, dando lugar a la fermentación de los azucares formando etanol y CO_2. Como paso final se separan las células y para luego pasar a la etapa final de elaboración de cerveza.

Factores que influyen en el proceso fermentativo

Los factores principales en la fermentación que tienen mayor influencia son:

A. Concentración de sustrato

La concentración del mosto debe de estar en rangos de 12 a 22 ° brix, para la fermentación alcohólica con estas concentraciones con contenido de formación de alcohol

será óptimo de manera contraria si la concentración es menor será pobre los grados alcohólicos obtenidos. Pero si tenemos concentraciones altas de solidos solubles (°brix), esta no fermentara debido a que las levaduras no actuaran sobre el sustrato debido a la presión osmótica generado sobre las levadoras no actuando sobre los azucares o sustrato.

Se corrige la concentración de solidos solubles determinada para la fermentación esto se hace añadiendo azúcar y junto con el azúcar de la propia fruta se logre una mayor producción de grados alcohólicos en el mosto. Para evita impurezas indeseables se usa azúcar de caña refinada que no alteraran las características finales del vino. (Bujan, 2003; Hidalgo, 2002).

B. pH

El pH acido es una condición que mejores resultados se obtienen de las levaduras el rango optimo es de 3.0 y 5.0, de pH, por lo que el mosto tiene que tener esas condiciones caso contrario se deberá de ajustar.

Una forma de interpretar las lecturas de pH es sabiendo que una unidad de pH es el cambio de 10 veces la concentración de iones de hidrogeno, la cual hace de esta una función logarítmica. el desarrollo y crecientito de los organismos dependerá del pH y cada uno de ellos tiene un pH optimo definido. Las levaduras se desarrollan en un rango de pH de 4 a 6. Pero pueden desarrollarse en condiciones extremas de pH de 2 o 8. Las condiciones de pH favorecen al crecimiento de levaduras ya que inhiben la presencia de otras bacterias indeseables. El pH tiene gran importancia con respecto a la velocidad de crecimiento y la eficiencia de obtención de alcohol e influye en el producto final del metabolismo sin aire (Nieto, 2009).

Con la adición de sales inorgánicas se corrige el pH y la acidez, en el caso de mostos ácidos se agrega carbonato de calcio. La corrección se da cuando la fruta tiene una acidez elevada, para obtener una fermentación optima el pH debe de estar en los rangos de 3.3 y 3.7. cuando se tiene la acidez alta inhibe el crecimiento de levaduras y bacterias,para elevar la acidez se utiliza carbonato de calcio pero si quiero realizar una acidificación utilizo acido tartárico (Arozarena, 2010; Blouin & Peynaud, 2003; Bujan, 2003).

C. Temperatura

En la fermentación ocurren fenómenos como la reacción exotérmica que ocurre debido a la descomposición de los azucares del sustrato libreando calor, es por eso que la temperatura es una variable que debe de ser controlada. Siendo entre 24 y 35°C una condición ideal de temperatura para la fermentación, pero se recomienda trabajar a 34 °C.

si la condición de temperatura es alta > a 35°C el crecimiento de las levaduras disminuye, pero si la temperatura es baja la fermentación es lenta, si la temperatura es mayor a 40°C la fermentación se detendrá. La velocidad metabólica de los organismos está influenciada por la temperatura ya que de esta depende la velocidad de reacción pudiendo cambiar las condiciones de los constituyentes celulares como de los componentes de la membrana y de las proteínas. (Madigan et al., 2004). La cantidad de etanol que se obtiene de la fermentacion esta vinculada con la condicion de temperatura, a temperaturas bajas mayor grados alcoholicos y si se quiere menor grados alcoholicos se usa temperaturas altas. (Recalde, 2010).

D. Nutrientes

Para el desarrollo de las levaduras en el proceso de fermentación estas necesitan de la presencia de nutrientes para poder alimentarse siendo los nutrientes el fosforo y el nitrógeno, para lo que se usa el fosfato de amonio y urea respectivamente.

El mosto debe de tener nutrientes que permitan el desarrollo de las levaduras y en caso de escases de algún nutriente se debe de adicionar, los nutrientes que debe tener el mosto para el desarrollo de la levadura son; minerales, vitaminas, nitrógeno amoniacal, aminoácidos y carbohidratos. Otros factores que contiene la fruta que inhiben el crecimiento de levaduras son el alto contenido alcohólico, baja temperaturas (< 12 °C) y sustancias químicas. (Arozarena, 2010; Hühn, 1999).

E. Concentración de etanol

El contenido de alcohol una vez terminado la fermentación esta entre 6 y 12 °GL, esto siempre dependiendo de la eficiencia del proceso. Luego sigue el proceso de rectificación (incrementar los grados alcohólicos). Una complicación en el proceso de fermentación es la concentración de etanol que se alcanza debido a la resistencia de la levadura, por ejemplo, la *Saccharomyces cerevisiae* alcanza un 20% de concentración en volumen.

Es casi improbable obtener los grados alcohólicos teóricos con respecto a los obtenidos experimentalmente. Debido a que en el proceso de fermentación intervienen variables como la temperatura de fermentación, tipos de levadura, contenido de nutrientes. Composición del mosto, etc. Las bacterias acidas lácticas existentes en el mosto usa el sustrato o azúcar para formar ácido láctico lo cual ocasiona la imprecisión de los cálculos para la obtención de grados de alcohol. (Bisson, 2001; Jacques et al., 2003).

1.7.3. Levadura

El mundo antiguo sin tener conocimiento de su existencia uso las levaduras para distintas funciones, ya sea para fermentar bebidas o fermentar naturalmente sus panes. Haciendo creer que era algo misterioso y mágico. Lois Pasteur, cambió radicalmente esta óptica gracias a la ciencia a mitad del siglo XIX, logro comprobar qué las levaduras eran los que producían la fermentación alcohólica desestimando las creencias que este proceso ocurría por acción de un catalizador químico. La función principal de las levaduras en el proceso de fermentación es consumir azúcar dando como productos Etanol y Dióxido de Carbono (CO_2), además de otros compuestos en menores cantidades, las cuales dan las características peculiares a las bebidas de diferentes tipos de acuerdo a la levadura utilizada. (Álvarez & Leal, 2014)

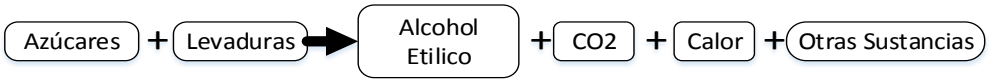
Tabla 2 - *Tipos de Levaduras más usadas*

Genero	Denominación	Hábitat o adaptación
Saccharomyces	*cerevisae*	mayor resistencia a anaerobiosis
	bayanus	Capacidad para terminar la vinificación
	uvarum	

Fuente: Elaboración propia

Saccharomyces cerevisiae

Usada en la industria vitivinícola y panadera, estudiada ampliamente, hongo capaza de producir etanol (Mallol et al., 2004). Existe dos tipos de especies de la *Saccharomyces cerevisiae* una es la salvaje y la otra domestica (Schuller et al., 2012), (Hyma et al., 2001). Estas levaduras se adaptan para poder metabolizar tanto la fructuosa como la glucosa de manera fermentativa o respiratoria y de sobrevivir y reproducirse en medios aeróbicos o anaeróbicos. (Gonzalez et al,2007). Teniendo la siguiente fórmala de fermentación. (Garcia, 2008):



Saccharomyces bayanus

Saccharomyces Bayanus es una levadura del género *Saccharomyces*, y se utiliza en la elaboración del vino y la sidra de fermentación, y para hacer bebidas destiladas.

Saccharomyces Bayanus como *Saccharomyces Pastorianus*, ahora se acepta que es el resultado de múltiples eventos de hibridación entre tres especies puras, *Saccharomyces uvarum, Saccharomyces cerevisiae y Saccharomyces bayanus* (Libkind, 2011; Nguyen et al., 2011)

Saccharomyces uvarum

Las células de *Saccharomyce uvarum* son criófilas, por tanto necesitan consumir una elevada energía en la fermentación así como disponer de bajas temperaturas, mientras que *Saccharomyce cerevisae* y *Saccharomyce bayanus* son más alcohógenas, pero menos activas a bajas temperaturas. (Bobo. et al,2007)

1.7.4. Evaluación sensorial

Según (Iñaki et al. 2007). Una evaluación sensorial de bebidas alcohólicas se percibe mediante los sentidos olfato (olor, aroma), el gusto nos permite percibir los sabores, el color de las bebidas atreves de la vista, otras sensaciones como el picor, calor y sensaciones táctiles por el nervio trigémino.

En el caso de los vinos tintos, tanto jóvenes como criados en barrica (crianzas, reservas y grandes reservas), los parámetros que determinarían la calidad sensorial aparecen recogidos en la siguiente tabla 3:

Tabla 3 - *Parámetros de Calidad Sensorial*

		Observaciones
Parámetros de Nariz	**Intensidad del olor** Parámetro cuantitativo que hace referencia a que el vino huela más o huela menos	Es necesario señalar, desde un punto de vista sensorial, la diferencia entre olor y aroma, ya que habitualmente se utilizan indistintamente ambos términos. El olor y el aroma son apreciados a través de los mismos receptores olfativos, pero el olor hace referencia a la llegada de sustancias volátiles por vía directa (a través de la nariz) mientras que el aroma está referido a la llegada de esas sustancias por vía retronasal (por detrás del paladar, cuando el vino está en la boca).
	Complejidad de olores Parámetro cualitativo que hace referencia a los olores concretos que se aprecian en el vino, y también a su integración.	
Parámetros de Boca	**Intensidad de aroma** Parámetro cuantitativo que hace referencia a que el vino tenga más o menos aroma en boca.	
	Complejidad de aromas Parámetro cualitativo que hace referencia a los aromas concretos que se aprecian en el vino, y también a su integración.	
	Equilibrio y Cuerpo El equilibrio hace referencia al grado en el que el dulzor (debido al alcohol y al glicerol principalmente) compensa la acidez, la astringencia y el amargor. El cuerpo hace referencia a la intensidad de las sensaciones sápidas y táctiles del vino (debidas al etanol, taninos, extracto seco, otros elementos sápidos…). Sería la "consistencia" del vino.	El vino está desequilibrado cuando existe alguna arista, es decir, cuando alguna de las sensaciones citadas no presenta una intensidad adecuada, ya sea por defecto o por exceso (aunque esto último sea lo más habitual). Se habla entonces de "arista por exceso de astringencia", "arista por exceso de amargor".
	Persistencia aromática global Parámetro cualitativo que hace referencia a los olores concretos que se aprecian en el vino, y también a su integración.	La persistencia hace referencia a las sensaciones aromáticas globales, y no a la persistencia de ningún aroma en concreto.
Parámetros visuales	**Matiz** Color o tonalidad del vino, apreciable en el borde del vino servido en una copa.	Existen otras características visuales que pueden ser apreciadas, como pueden ser la turbidez, la densidad aparente o el brillo. Los vinos tintos jóvenes no deberían estar turbios. Si un vino está excesivamente turbio, algo inhabitual, sería descalificado; no se llegaría siquiera a evaluar su calidad sensorial. La densidad aparente (evaluación de la lágrima) y el brillo no van a ser considerados como factores determinantes de la calidad sensorial ya que, además de no presentar especial relevancia en el caso de estos vinos, no van a existir excesivas diferencias entre ellos. La presencia de algunos posos no será valorada negativamente.
	Intensidad de color Hace referencia a que el vino deje pasar más o menos luz, a que sea más o menos opaco	

Fuente: Guía para la evaluación sensorial de la calidad de los vinos tintos de Rioja Alavesa (2007).

1.8. Definición de la terminología (marco conceptual)

Fermentación alcohólica

Proporciona energía de manera anaeróbica a los microorganismos (levaduras), en condiciones anaeróbicas (sin Oxigeno), es capaza de disociar la glucosa y transformarlo en energía para su supervivencia obteniendo como productos etanol y CO_2 como residuos de la fermentación. (Vasquez, 2007).

Levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Es importante por la capacidad de esponjar el pan y de llevar acabo la fermentación alcohólica (vino y cerveza). Esto se da por la que el mosto o masa sufre una metabolización de sus azucares para poder generar etanol y CO_2. Con el etanol se inicia la producción de bebidas alcoholicas y el CO_2 en las masas ocasiona el aumento del volumen de estas. (Ruiz, 2016)

Los grados Brix (°Brix)

Mide el contenido de solidos solubles en una solución, también se dice que es el contenido de azúcar presentes en una solución liquida. Por ejemplo, si una solución tiene 25 °Brix se dice que está contenida con 25 gr. de azúcar en 100 gr. de agua.

Antioxidante

Los antioxidantes eliminan radicales libres causantes de la oxidación de células, alteraciones del ADN, introducen oxígeno a las células, aceleran el envejecimiento. Nuestro cuerpo genera antioxidantes para combatir los radicales libres que produce nuestro cuerpo, pero estos son altamente agresivos (Ramirez et al., 2012)

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Tipo y diseño de investigación

2.1.1. Tipo de Investigación:

Según su finalidad, es aplicada: se pudo formular en esta investigación una bebida alcohólica a base de Granada y establecer la cinética de fermentación en el proceso de producción.

Según el control de variables, es experimental: para la calidad del producto final y para la etapa de fermentación se evaluaron variables cuantitativas independientes y dependientes.

Según su contexto es de laboratorio: se dio condiciones intencionalmente a la investigación con respecto a las variables independientes con mayor exhaustividad y manejo de la situación logrando respuestas aceptables de las variables dependientes. la investigación se realiza a nivel de laboratorio.

2.1.2. Diseño de la investigación

Cuantitativo: Investigación Experimental.

2.2. Población y muestra

Población:

Granada variedad wonderful

Muestra:

Granada variedad wonderful proveniente de los valles del Distrito de Cañete, Lima

Muestreo probabilístico por conveniencia, ya que la cantidad de muestra a emplear dependerá de los tratamientos establecidos en el plan estadístico de datos.

Criterios de Inclusión

La materia prima que se empleó para la obtención del zumo de granada se encontró en los 13 grados brix, libre de daños físicos, químicos y microbiológicos.

Criterios de Exclusión

La materia prima que presenta lo indicado en el punto anterior.

2.3. Variables y operacionalización

2.3.1. Variables

Variable independiente

Tipo de levadura: *Saccharomyces cerevisae y Saccharomyces cerevisae bayanus*

Concentración de levadura: 0.1 – 0.2 g/L

Variable dependiente

Grados alcohólicos

Acidez titulable, pH y brix.

Evaluación Sensorial

Antioxidantes

2.3.2. Operacionalización

En la tabla 4, se presenta la operacionalización de las variables dependientes e independientes.

Tabla 4 - *Operacionalización de variable Independiente*

Variable Independiente	Dimensiones	Rango	Instrumento
Tipo de levadura		*Saccharomyces cerevisae* *Saccharomyces cerevisae bayanus*	
Concentración de levadura	0.1 0.2	g/L	Balanza Analítica
Variable Dependiente	**Dimensiones**	**Rango**	**Instrumento**
Grados alcohólicos	% v/v		Alcoholímetro
Acidez titulable	%		Volumetría
pH	$[H^+]$		Potenciómetro
Brix	Grados		Refractómetro
Antioxidantes	**%**		Espectrofotómetro

Fuente: Elaboración Propia

2.4. Métodos, técnicas e instrumentos de recolección de datos

2.4.1. Material biológico

Granada *(Púnica granatum)*

Levaduras de vinificación: *Saccharomyces cerevisae y Saccharomyces cerevisae bayanus*

2.4.2. Reactivos e insumos

- Azúcar
- Bicarbonato de sodio
- Metabisulfito de sodio
- Sulfato de potasio

- Hidróxido de sodio
- 2,2-difenil-1picrilhidracilo
- Metanol
- Trolox

2.4.3. Materiales complementarios

- Agua
- Agua destilada
- Balón de destilado
- Beacker
- Bureta Dornic
- Cuchara
- Gas
- Manguera
- Matraz
- Mechero
- Mesa de Acero quirúrgico
- Olla
- Potenciómetro
- Probeta
- Refractómetro
- Serpentín de destilación
- Soporte Universal
- Termómetro
- Tubos de ensayo
- Vaso de precipitado

2.4.3. Equipos e instrumentos

- Balanza analítica
- Balanza de precisión
- Cocina a gas
- Pulpeadora

2.5. Procedimiento para la recolección de datos

2.5.1. Caracterización de la Fruta

La caracterización y evaluación de la fruta, se realizó cuantificando el pH, grados Brix o solidos solubles, índice de madurez, la acidez titulable y color de la fruta. Se usó 1 kg. De muestra al cual se le aplico un muestreo aleatorio y se realizaron por triplicado los ensayos.

2.5.2. Proceso de elaboración de la bebida fermentada de granada

En la Figura 6, se indica el proceso de elaboración de la bebida alcohólica a partir de granada

A. Selección

Se realizó a las frutas con un 100% de color rojo, sin golpes, ni presencia de hongos.

B. Lavado y Desinfección

El lavado se realizó de forma manual en tinas grandes con agua potable, y a la vez se añadió cloro a 30 ppm.

C. Pelado y Desgranado

Para el pelado se realizó un corte en cruz con un cuchillo en la parte superior para luego abrirlo de forma manual, evitando dañar la semilla con el cuchillo, por la presencia de aceite que cuenta esta, y luego se extrajo los arilos de forma manual

D. Extracción del Zumo

Se logró extraer el zumo de los arilos usando el equipo despulpadora usando una malla con orificios relativamente grandes que lograron pasar las semillas de los arilos, evitando que estos se rompieran.

E. Acondicionamiento del Mosto

Se preparó 5 kg de zumo para cada tratamiento, agregándosele azúcar blanca (comprada en el mercado local), para ajustar los sólidos solubles. Se estandarizo el mosto de acuerdo al diseño experimental. Se usó el balance de materia para calcular la adición de azúcar.

$$A_Z = \frac{Volumen\ Muestra\ x\ (°Brix_f - °Brix_i)}{100 - °Brix_f}$$

F. Sulfitación

Se agregó 0.10 g/l de metabisulfito de sodio al mosto, teniendo una madurez media y una acidez baja, por un tiempo de 30 min. Primera sulfitacion.

G. Inoculación

Se realizó añadiéndole las concentraciones obtenidas según el factorial de 2^k. Se inoculo levadura seca activada a 40 °C (Saccharomyces cerevisiae y Saccharomyces cerevisiae bayanus, marca Fermol Associées)

H. Fermentación:

Se usó un bioreactor Bach, controlando parámetros como pH, acidez titulable y solidos solubles cada 24 hrs. Hasta lograr alcanzar el contenido de alcohol estimado de 10 % (v/v).

I. Sulfitación:

Se adiciono 0.10 gr./l de metabisulfito de sodio al mosto para detener el proceso de fermentación.

J. Clarificación:

Se almaceno y se conservó a 4°C y 8 ºC por 72 horas, esto logro que se precipiten los sólidos suspendidas en el medio, seguidamente se le agrego bentonita 1g/L para acelerar la clarificación.

K. Sulfitación:

La ultima sulfitación se realiza con el objetico de conservar el producto luego de su envasado y su almacenamiento, la cantidad que se agrega es de 0.10 g/hl de metabisulfito de sodio.

L. Envasado:

Se realizó en envases de vidrio (botellas), de color verde oscura, los envases y tapas (corcho) fueron lavados, enjuagados y desinfectados con hipoclorito de sodio al 1%.

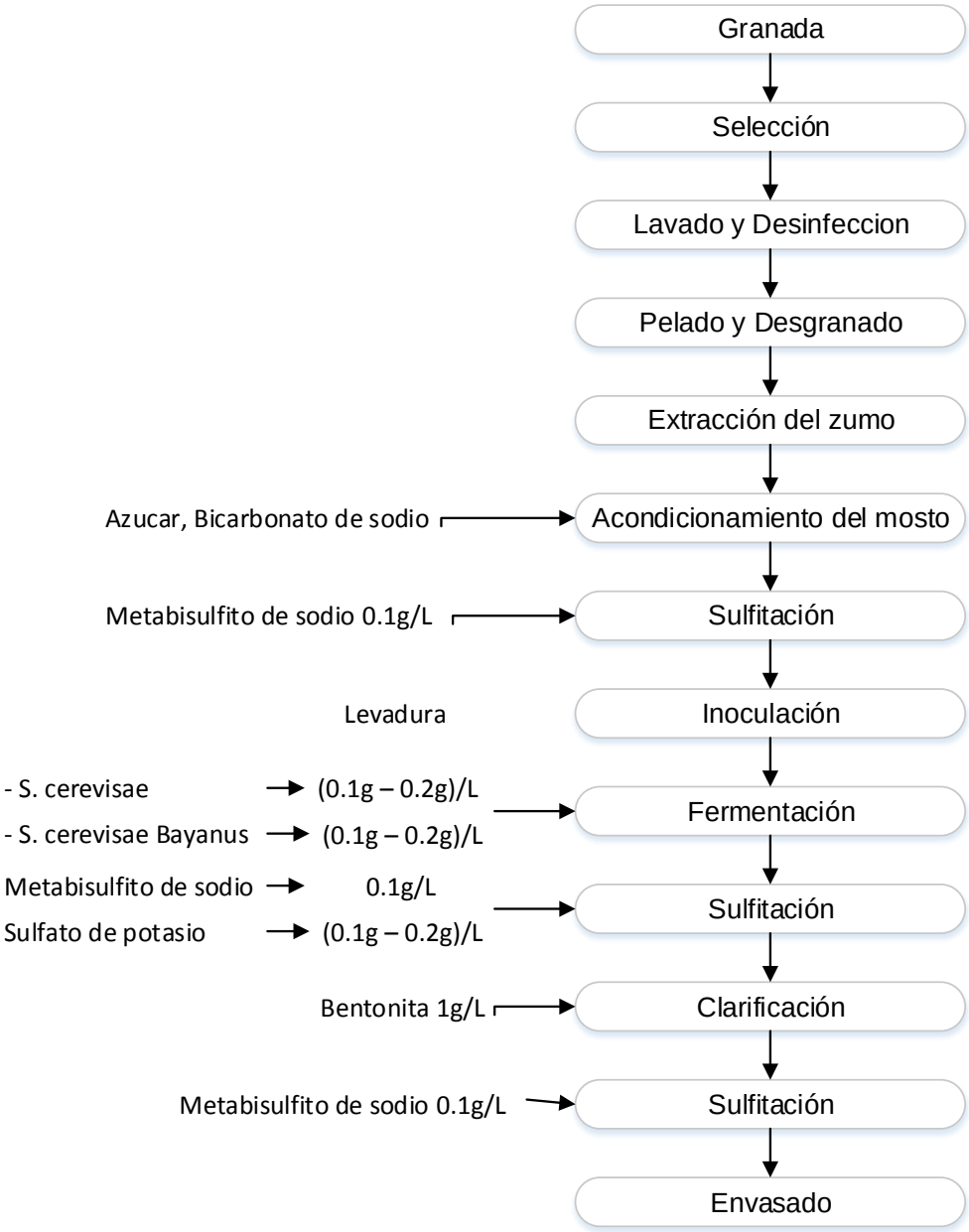


Figura 6 - *Esquema del proceso de elaboración de una bebida fermentada a partir de granada*

Fuente: Elaboración Propia

2.5.3. Métodos de evaluación fisicoquímica en la fermentación

Durante la etapa fermentativa se realizó los análisis de las características fisicoquímicas. Siendo los parámetros evaluados la concentración de azúcar o sólidos, pH, grados de alcohol y acidez y se realizó el perfil de alcoholes.

A. Seguimiento de la acidez y el pH

Se usó el procedimiento para acides titulable normado por el método AOAC 962.19 (AOAC 2005). Se usó 10 ml de mosto al cual se le midió el pH con un pHmetro, seguidamente se tituló con NaOH 0.1 N hasta alcanzar un pH 8.2.

Para medir el pH se usó sistema potenciométrico, en un volumen de 10 a 15 ml de mosto se sumergió el electrodo del pHmetro a temperatura de 20 °C

2.5.4. Determinación de la producción de alcohol

A. Grado alcohólico

Se realizó aplicado la gravedad específica del destilado se usó 50 ml de mosto desgasificado y neutralizado se armó un sistema de arrastre con vapor obteniéndose 50 ml de destilado. Se pesó la muestra a 20°C y se usó un picnómetro de 25 ml. Se aplicó el método AOAC 920.57 (AOAC).

2.5.5. Seguimiento de la concentración de sustrato

A. Seguimiento del contenido de sólidos solubles

Se evaluó el contenido de solidos solubles expresados en grados Brix (°brix), a temperatura de 20 °C. se utilizó el refractómetro portátil ATAGO.

2.5.6. Determinación de antioxidante

Se analizó aplicando el método DPPH (2,2-difenil-1picrilhidracilo) implementado por Brand Williams (1995); el cual consiste en la oxidación del radical DPPH por antioxidantes a una longitud de onda de 515 nm.

Kim (2002), describe algunas modificaciones al método donde se mide la absorbancia del radical DPPH:

- ✓ Agregar 3,9 ml (100 µM) de radical DPPH.
- ✓ Diluir en metanol al 80%, medir la absorbancia a 517 nm.
- ✓ Añadir 0,1ml de la muestra o patrón, cuidadosamente se debe homogenizar.
- ✓ Mantener por 30 minutos en un lugar oscuro.
- ✓ Las lecturas de absorbancia a 517 nm se realizan antes de añadir la muestra (A0) y pasados los 30 y 60 minutos.

Para calcular la concentración de DPPH, se realiza teniendo una curva patrón de calibrados. Los resultados obtenidos son expresados en TEAC, el cual es equivalente a

Trolox (µm/g de muestra peso fresco). El Trolox (antioxidante sintético), a una concentración de 0,08-1,28 mm el cual fue diluido en metanol de 80%, los resultados también son expresados en TEAC, y la capacidad antioxidante total se calcula en micromoles TE/100g:

$$\text{Total antioxidant activity} \frac{\text{Trolox factor X Abs target}}{\text{Target mass } * |\text{Trolox slope}|}$$

2.5.7. Evaluación sensorial

Principio de la prueba de escala de categorías

Consiste en valorar cada uno de los atributos sensoriales con respecto a una escala grafica anclada en los bordes. (Hernández, 2005).

La evaluación sensorial se realizó a los 4 tratamientos experimentales por triplicado el diseño factorial 2^k, de las cuales tendrá 20 panelistas cada una, el principio de la prueba es que los panelistas respondan a los atributos sensoriales valorándolos en una escala grafica de 10 cm. por la cual el panelista deberá hacer una raya perpendicular a la horizontal según sea la intensidad del atributo evaluado como se indica en el Figura 07. A través de esta prueba se puede evaluar el sabor, color, olor y apariencia general.

Codigo:

EVALUACIÓN DE LA FERMENTACIÓN DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DE GRANADA (*Punica granatum*)

Instrucciones: Caracterizar cada muestra según el atributo sensorial que se le presenta a continuación, haciendo una raya perpendicular a la línea horizontal según sea la intensidad del atributo evaluado

Sabor

Me desagrada — Me agrada

Color

Me desagrada — Me agrada

Olor

Me desagrada — Me agrada

Apariencia General

Me desagrada — Me agrada

Figura 7 - *Cartilla de evaluación sensorial.*

Fuente: Elaboración Propia

2.5.8. Análisis estadístico e interpretación de los datos

Se aplicó el diseño factorial 2^k con una variable numérica y una categórica, las cuales se detallan a continuación:

- Concentración de Levadura: 0.1 - 0.2 g/L
- Tipo de Levadura: Saccharomyces cerevisiae y Saccharomyces cerevisiae bayanus

Para permitir diseñar la matriz experimental se usó el software Design Expert v 7.0, que nos arroja un diseño con 4 tratamientos experimentales por triplicado. Ajustando los resultados según su significancia a un modelo lineal. En la tabla 5 se presenta la matriz experimental.

Tabla 5 - *Matriz experimental de los diferentes tratamientos*

Tipo de Levadura	Concentración g/L	pH	Acidez Titulable % ácido tartárico	Solidos solubles °Brix	DPPH mL/g
Saccharomyces	0.1	-	-	-	-
Saccharomyces	0.2	-	-	-	-
S.C. bayanus	0.1	-	-	-	-
S.C. bayanus	0.2	-	-	-	-
Saccharomyces	0.1	-	-	-	-
Saccharomyces	0.2	-	-	-	-
S.C. bayanus	0.1	-	-	-	-
S.C. bayanus	0.2	-	-	-	-
Saccharomyces	0.1	-	-	-	-
Saccharomyces	0.2	-	-	-	-
S.C. bayanus	0.1	-	-	-	-
S.C. bayanus	0.2	-	-	-	-

Saccharomyces: Saccharomyces cerevisae
S.C. bayanus: Saccharomyces cerevisae bayanus

2.6. Criterios éticos

La recolección de información se realizó de diversas fuentes ya sean libros páginas web, artículos, trabajos virtuales, tesis, etc., respetando los derechos intelectuales de los autores, citando a cada uno de ellos en los extractos usados para la realización de esta investigación. Además, se reporta datos verídicos sin la necesidad de aplicar información falsa atentando contra la salud de consumidores en caso se consuma la bebida alcoholada a base de granada.

2.7. Criterios de rigor científico

Para la aplicación de técnicas y métodos del proyecto de investigación se establecieron parámetros de investigaciones realizadas con anterioridad, respetando la

información científica obtenida que muestran los distintos autores, formulando las variables independientes de acuerdo a valores fijos y medios de otros estudios relacionados al tema de la investigación.

2.8. Validación y confiabilidad

Los resultados de los análisis obtenidos en laboratorio están validados por las hojas de resultados de los mismos además de los certificados de calibración de los equipos y la experiencia del personal de laboratorio.

III. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.1. Caracterización fisicoquímica de la granada

Para estos análisis se usó 1 kg. De fruta al cual se le aplico un muestreo aleatorio figura 8 y se realizaron por triplicado los ensayos de acuerdo al estado de madurez se realizó los análisis correspondientes.

Figura 8 - *Muestreo Aleatorio*

Fuente: Planta Piloto USS

Después de extraer los arilos de granada se caracterizó fisicoquímicamente, para realizar los cálculos para la preparación del mosto. Los análisis realizados al zumo fresco de granada se resumen en la tabla 6.

***Tabla 6* -** Características fisicoquímicas del zumo de granada recién obtenida

Característica	Valor
pH	3.72±0.22
Acidez (mg de ácido cítrico/100mL dejugo)	0.994±0.101
Sólidos Solubles °Brix	12.5±0.321

Fuente: Planta Piloto USS 2016

Se observa en la tabla 6, que los resultados arrojados experimentalmente son: sólidos solubles de 13%, lo que nos dice que la granada es medianamente dulce, acidez levemente alta (0.994), cabe indicar que los valores obtenidos varían de acuerdo al estado de madurez (afecta la acidez y el pH) y zona de cultivo de la misma variedad

3.2. Acondicionamiento de la granada para el proceso fermentativo

Esta etapa permitió determinar el acondicionamiento para el proceso fermentativo como se muestra en la Figura 9.

Figura 9 *- Acondicionamiento de Granada (Púnica Granatum) para proceso Fermentativo*

Fuente: Planta Piloto de la USS, 2016

3.3. Evaluación del comportamiento fermentativo

En la figura 10, 11, 12 y 13 se presentan la cinética de fermentación para los 4 tratamientos, para lo cual se evaluó solidos solubles, pH, grados alcoholicos (°GL)

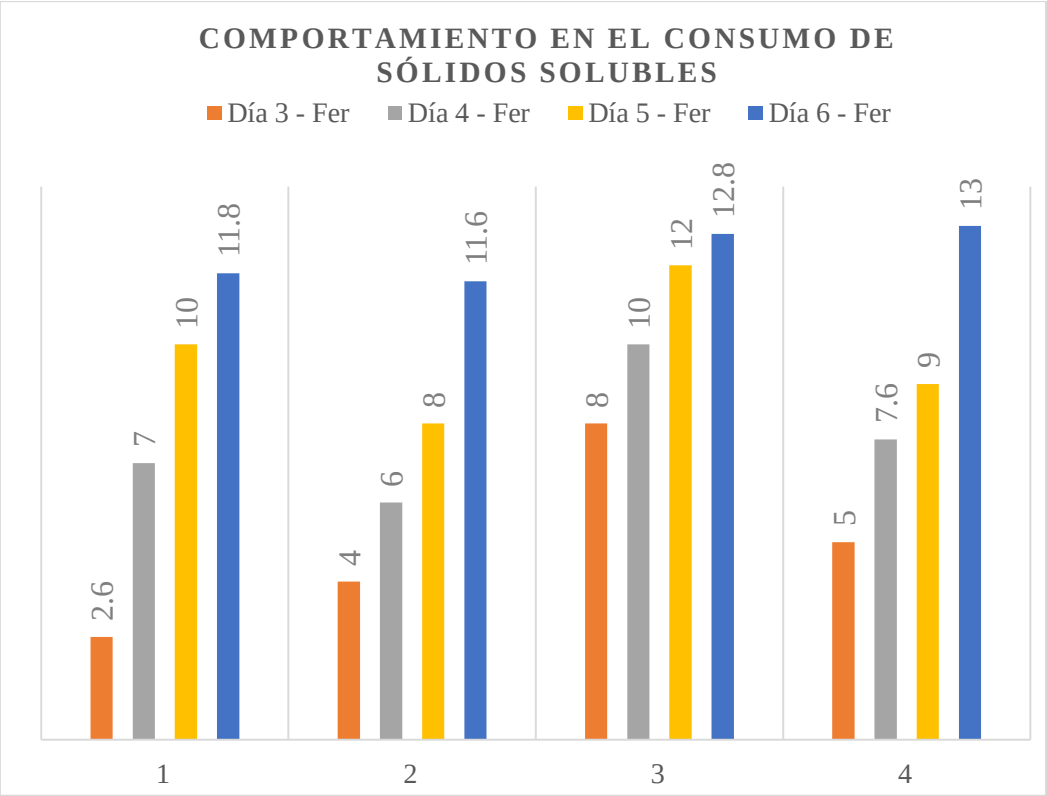


Figura 10 - *Comportamiento en el consumo de Solidos solubles en el proceso fermentativo de una bebida alcohólica a partir de granada (Punica Granatum)*

Fuente: Planta Piloto de la USS, 2016

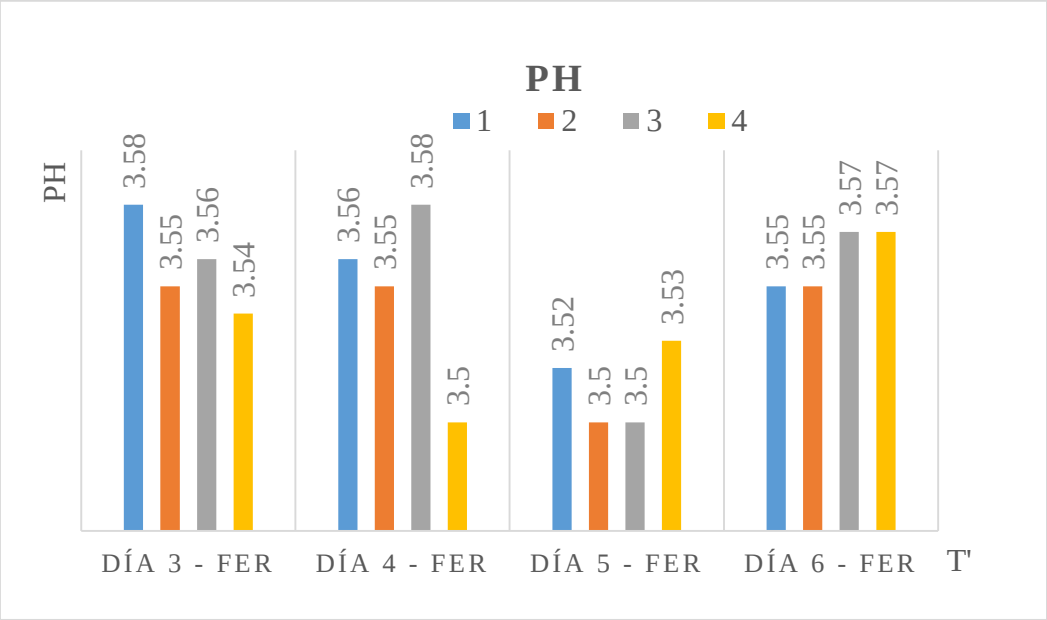


Figura 11 - Comportamiento en el pH en el proceso fermentativo de una bebida alcohólica a partir de granada (*Punica Granatum*)

Fuente: Planta Piloto de la USS, 2016

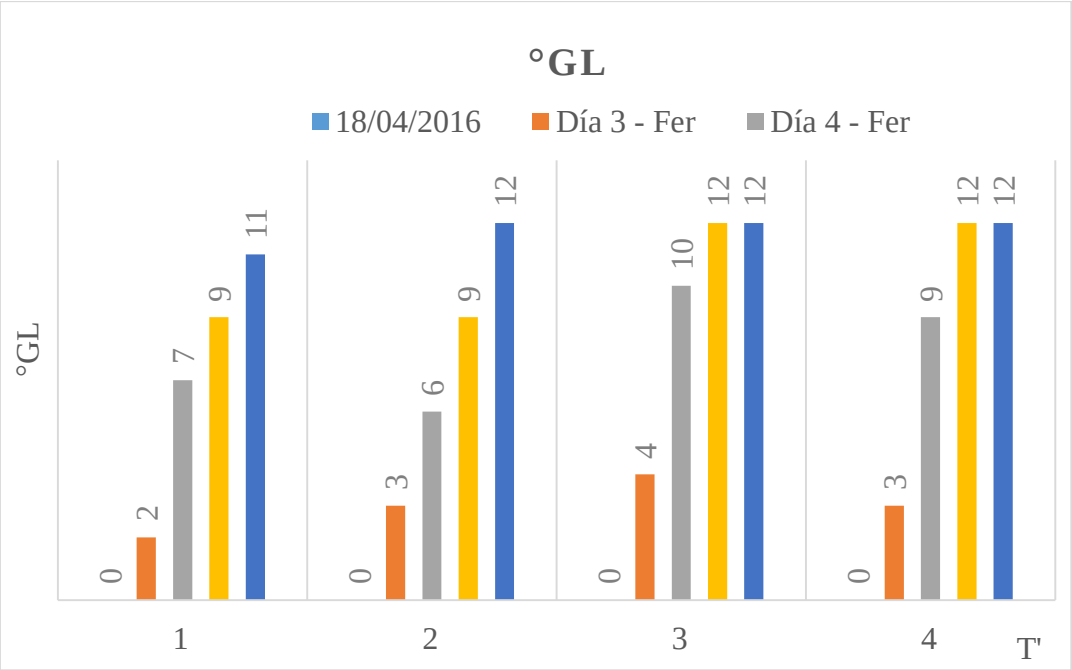


Figura 12 - Comportamiento en el °GL (grado alcohólico) en el proceso fermentativo de una bebida alcohólica a partir de granada (*Punica Granatum*)

Fuente: Planta Piloto de la USS, 2016

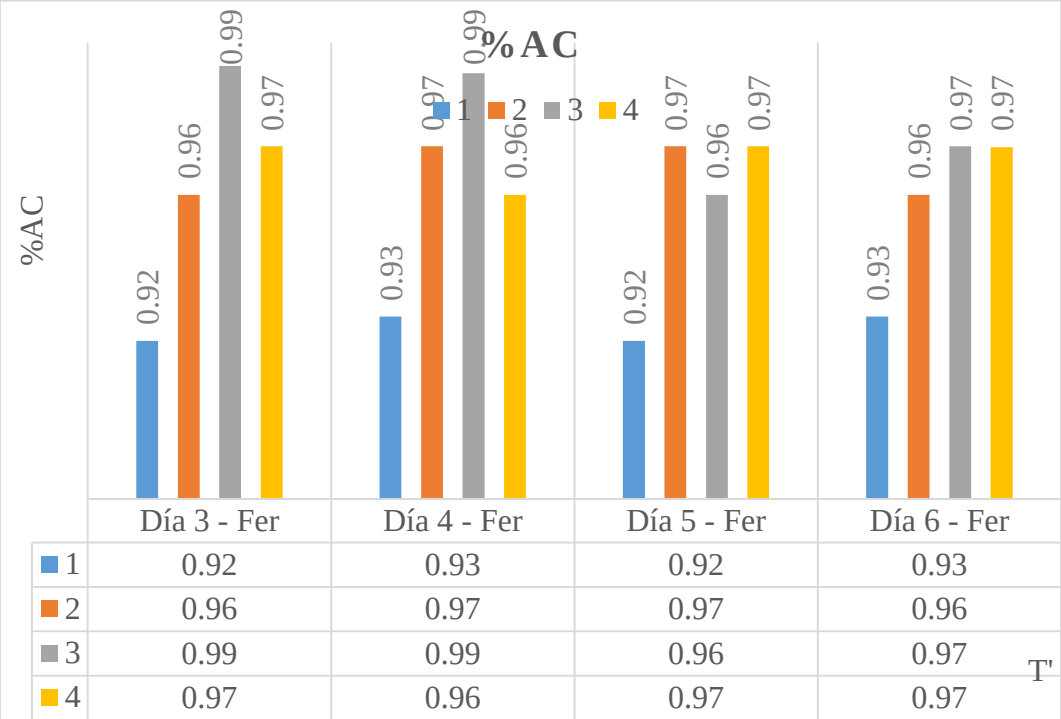


Figura 13 - Comportamiento en el %AC (porcentaje de acidez) en el proceso fermentativo de una bebida alcohólica a partir de granada (*Púnica Granatum*)

Fuente: Planta Piloto de la USS, 2016

3.4. Efectos de las variables independientes en las características fisicoquímicas y contenido de antioxidante de la bebida fermentada de granada (*Púnica Granatum*)

En la tabla 7 se presentan los resultados obtenido de las características fisicoquímicas y contenido de antioxidantes para los diferentes tratamientos.

Tabla 7 - *Resultados obtenidos según la matriz experimental de los diferentes tratamientos*

Tipo de Levadura	Concentración g/L	pH	Acidez Titulable % ácido tartárico	Solidos solubles °Brix	DPPH mL/g
Saccharomyces	0.1	3.08	1.47	6.95	1863.07
Saccharomyces	0.2	3.19	0.68	6.13	854.44
S.C. bayanus	0.1	3.34	1.33	6.3	960.31
S.C. bayanus	0.2	3.38	0.67	6.67	941.89
Saccharomyces	0.1	3.11	1.5	6.99	1859.78
Saccharomyces	0.2	3.21	0.7	6.1	864.22
S.C. bayanus	0.1	3.31	1.39	6.33	964.34
S.C. bayanus	0.2	3.4	0.63	6.67	948.76
Saccharomyces	0.1	3.06	1.39	6.95	1866.45
Saccharomyces	0.2	3.17	0.65	6.13	859.23
S.C. bayanus	0.1	3.33	1.39	6.3	968.24
S.C. bayanus	0.2	3.36	0.73	6.67	943.45

Saccharomyces: Saccharomyces cerevisae
S.C. bayanus: Saccharomyces cerevisae bayanus

3.4.1. Efectos de las variables independientes en pH de la bebida Fermentada

En la tabla 8 se presenta el análisis de varianza (ANOVA) para la variable dependiente pH, La tabla ANOVA descompone la variabilidad de pH en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 2 valores-P son menores que 0.05, estos factores tipo de levadura (A) y concentración (B) tienen un efecto estadísticamente significativo sobre pH con un 95.0% de nivel de confianza.

En la Figura 14 se puede observar cómo interactúan las variables dependientes en el pH de la bebida fermentada elaborada con granada, como se puede observar ambos tipos de levadura el pH se incrementa conforme aumentamos su concentración, siendo mayor el pH para *Saccharomyces cerevisae bayanus*.

Tabla 8 - *Análisis de Varianza para pH*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos Principales					
A:Tipo de Levadura	0.140833	1	0.140833	338.00	0.0000
B:Concentracion	0.0192	1	0.0192	46.08	0.0001
Interacciones					
Ab	0.00213333	1	0.00213333	5.12	0.0535
Residuos	0.00333333	8	0.000416667		
Total (corregido)	0.1655	11			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

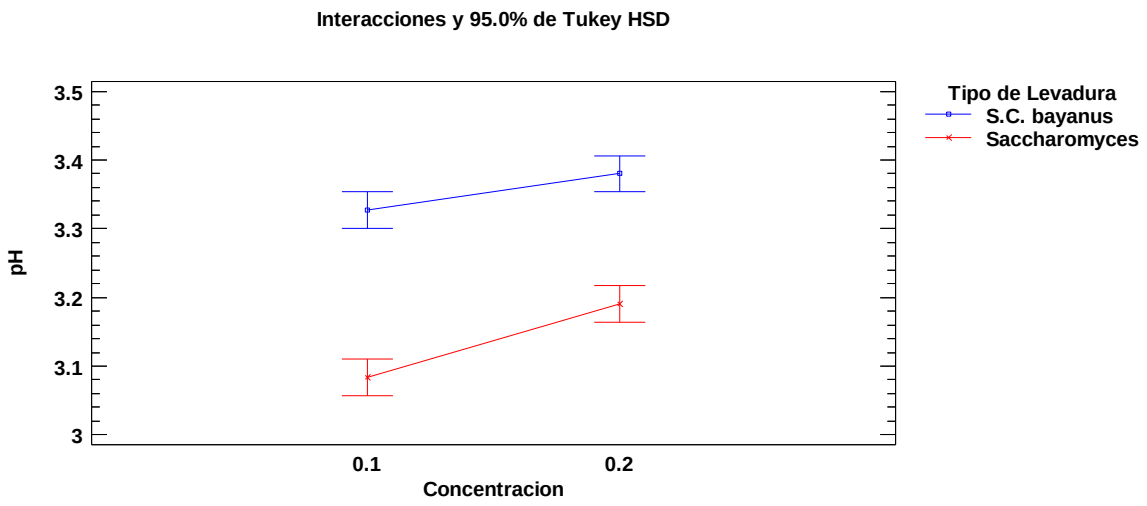


Figura 14 - *Gráfico de interacción de las variables independiente en el pH de la Bebida Fermentada de Granada*

3.4.2. Efectos de las variables independientes en la Acidez titulable de la bebida Fermentada

En la tabla 9 se presenta el análisis de varianza (ANOVA) para la variable dependiente acidez titulable, La tabla ANOVA descompone la variabilidad de acidez titulable en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 1 valores-P es menor que 0.05, este factor y concentración (B) tienen un efecto estadísticamente significativo sobre la acidez con un 95.0% de nivel de confianza.

En la Figura 15 se puede observar cómo interactúan las variables dependientes la acidez titulable de la bebida fermentada elaborada con granada, como se puede observar para ambos tipos de levadura la acidez titulable disminuye conforme aumentamos su concentración.

Tabla 9 - *Análisis de Varianza para acidez titulable*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos Principales					
A:Tipo de Levadura	0.00520833	1	0.00520833	2.74	0.1364
B:Concentracion	1.62068	1	1.62068	852.99	0.0000
Interacciones					
Ab	0.00520833	1	0.00520833	2.74	0.1364
Residuos	0.0152	8	0.0019		
Total (corregido)	1.64629	11			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

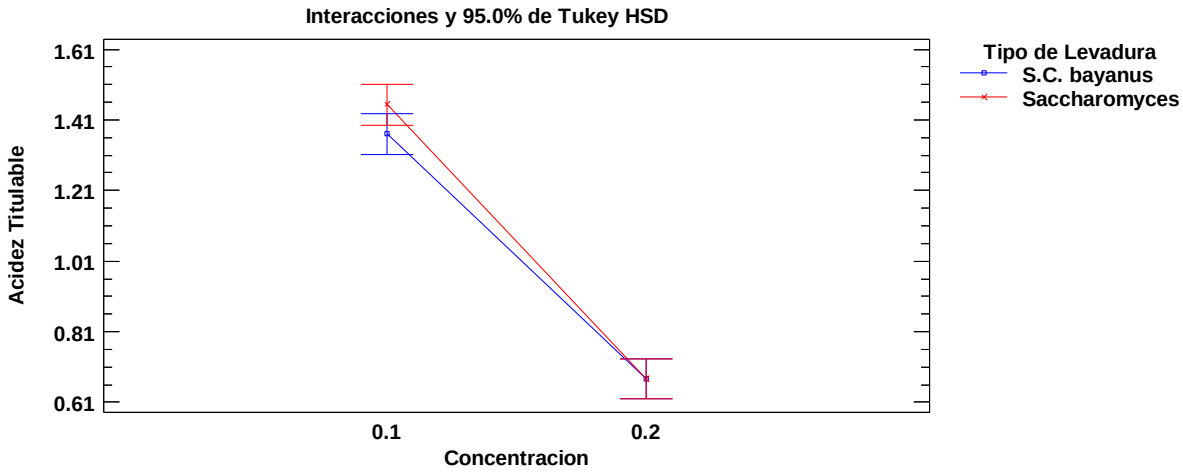


Figura 15 - *Gráfico de interacción de las variables independiente en la acidez titulable de la Bebida Fermentada de Granada*

3.4.3. Efectos de las variables independientes en solidos soluble de la bebida Fermentada

En la tabla 10 se presenta el análisis de varianza (ANOVA) para la variable dependiente solido solubles, la tabla ANOVA descompone la variabilidad de solido solubles en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 3 valores-P es menor que 0.05, estos factores tipo de levadura (A), concentración (B) y la interacción AB tienen un efecto estadísticamente significativo sobre los sólidos solubles con un 95.0% de nivel de confianza.

En la Figura 16 se puede observar cómo interactúan las variables dependientes en los sólidos solubles de la bebida fermentada elaborada con granada, como se puede observar para el tipo de levadura *Saccharomyces cerevisae* los sólidos solubles disminuyen conforme se incrementa la concentración de la levadura, caso contrario sucede para *Saccharomyces cerevisae bayanus* en el cual los sólidos solubles se incrementan conforme se incrementa su concentración.

Tabla 10 - *Análisis de Varianza para solidos solubles*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos Principales					
A:Tipo de Levadura	0.00800833	1	0.00800833	28.26	0.0007
B:Concentracion	0.175208	1	0.175208	618.38	0.0000
Interacciones					
Ab	1.08601	1	1.08601	3832.97	0.0000
Residuos	0.00226667	8	0.000283333		
Total (corregido)	1.27149	11			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

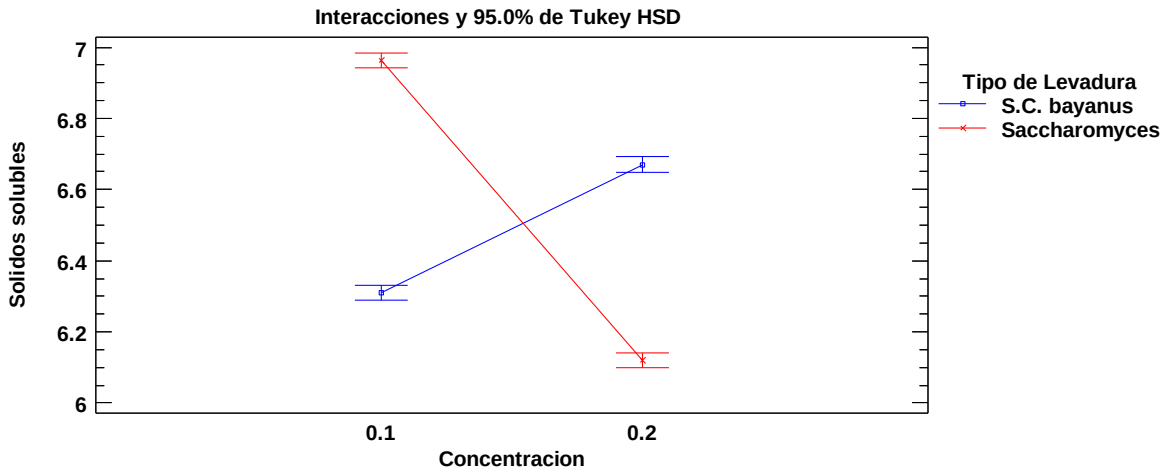


Figura 16 - *Gráfico de interacción de las variables independiente en los sólidos solubles de la Bebida Fermentada de Granada*

3.4.4. Efectos de las variables independientes en contenido de antioxidante (DPPH) de la bebida Fermentada

En la tabla 11 se presenta el análisis de varianza (ANOVA) para la variable dependiente contenido de antioxidante (DPPH), la tabla ANOVA descompone la variabilidad de contenido de antioxidante (DPPH) en contribuciones debidas a varios factores. Puesto que se ha escogido la suma de cuadrados Tipo III (por omisión), la contribución de cada factor se mide eliminando los efectos de los demás factores. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 3 valores-P es menor que 0.05, estos factores tipo de levadura (A), concentración (B) y la interacción AB tienen un efecto estadísticamente significativo sobre el contenido de antioxidante (DPPH) con un 95.0% de nivel de confianza.

En la Figura 17 se puede observar cómo interactúan las variables dependientes en el contenido de antioxidante (DPPH) de la bebida fermentada elaborada con granada, como se puede observar para el tipo de levadura *Saccharomyces cerevisae* el contenido de antioxidantes (DPPH) disminuyen conforme se incrementa la concentración de la levadura, caso contrario sucede para *Saccharomyces cerevisae bayanus* en el cual el

contenido de antioxidante (DPPH) se mantiene constante conforme se incrementa su concentración.

Tabla 11 - *Análisis de Varianza para el contenido de antioxidante (DPPH)*

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Efectos Principales					
A:Tipo de Levadura	496215.	1	496215.	31143.80	0.00001
B:Concentracion	785511.	1	785511.	49300.81	0.00001
Interacciones					
Ab	726497.	1	726497.	45596.96	0.00001
Residuos	127.464	8	15.933		
Total (corregido)	2.00835E6	11			

Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

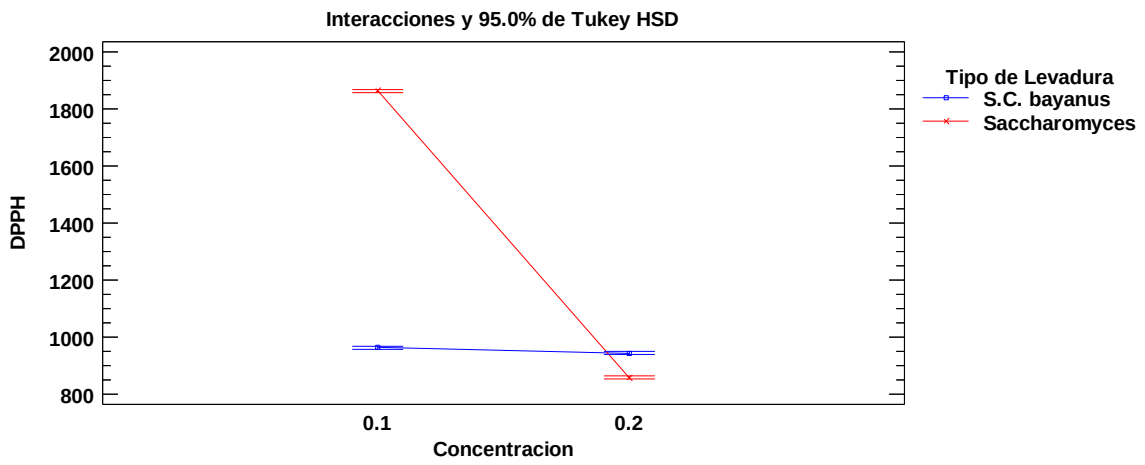


Figura 17 - *Gráfico de interacción de las variables independiente en el contenido de antioxidante (DPPH) de la Bebida Fermentada de Granada*

3.5. Evaluación sensorial de las bebidas alcohólicas

Se realizó la evaluación sensorial de las 4 bebidas fermentadas elaboradas a partir de granada según el diseño experimental. En la tabla 12, 14, 16 y 18 se presentan los resultados obtenidos por los 20 panelistas no entrenados referido a los atributos de sabor, color, olor, apariencia general respectivamente. Los 20 panelistas no entrenados tenían edades entre 19 a 36 años entre varones y mujeres, a los cuales se les aplicó la cartilla (Figura 7). Se tuvo como tratamientos T1: levadura *Saccharomyces cerevisae* a una concentración de 0.1 g/L, T2: levadura *Saccharomyces cerevisae* a una concentración de 0.2 g/L, T3: levadura *Saccharomyces cerevisae* bayanus a una concentración de 0.1 g/L y T4: levadura *Saccharomyces cerevisae* bayanus a una concentración de 0.2 g/L

3.5.1. Evaluación Estadística del Sabor

Teniendo en cuenta que las interacciones lineales son estadísticamente significativas se tomó la decisión de realizar de realizar la evaluación Estadística del total de las evaluaciones realizadas a los panelistas, para ello se aplicó la Evaluación de Tuckey.

Tabla 12 - *Resultados de la Evaluación Sensorial, Atributo Sabor – Bebida Alcohólica a partir de Granada.*

PANELISTAS	TRATAMIENTOS				TOTAL N_t
	T1	T2	T3	T4	
1	4.5	3.8	3.6	3.2	15.1
2	4.3	5.2	3.5	2.8	15.8
3	5.2	4.5	2.8	2.6	15.1
4	5.5	4.2	2.1	3.4	15.2
5	6.1	5.4	3.7	3.5	18.7
6	5.3	6.2	3.9	2.6	18
7	5.2	7.3	4.2	2.3	19
8	5	4.5	5.1	3.1	17.7
9	4.2	6.2	3.4	2.3	16.1
10	4	5.1	3.6	3.4	16.1
11	6	4.1	4.6	2.8	17.5
12	5.6	3.2	3.2	2.3	14.3
13	4.4	3.2	3.9	2.1	13.6
14	5.6	3.6	4.1	1.8	15.1
15	5.7	4.5	2.9	2.6	15.7
16	5.2	5.2	3.5	2.3	16.2
17	4.2	4.7	3.8	2.5	15.2
18	6	3.6	4.3	2	12.3
19	5	4.7	4.7	1.1	15.5
20	5.1	5.4	4.2	1.6	16.3
TOTAL N_T	**102.1**	**91**	**75.1**	**50.3**	**318.5**
Y = T/n	**5.105**	**4.55**	**3.755**	**2.515**	**3.98125**

Fuente: Cartillas de Evaluación Sensorial – Microsoft Excel(*) Escala de 10 puntos*

Con los valores de la Tabla 12 se establece el ANOVA (Tabla 13), en el cual se determinó que existe diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y panelistas, dado que el Ft (5%) es menos que el valor Fc.

Tabla 13 - ANOVA/Prueba de Tuckey Atributo sabor– Bebida Alcoholica a partir de Granada

Fuente Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor fc	Ft 5%
Tratamiento	3	75.747375	25.2491	26.8307	2.5373
Panelistas	19	12.974375	0.6829	0.7256	2.0527
Error	57	53.640125	0.9411		
Total	79	142.36188	1.8020		

(*) Distribución de F al Nivel de significancia del 5%

3.5.2. Evaluación Estadística del Color

Teniendo en cuenta que las interacciones lineales son estadísticamente significativas se tomó la decisión de realizar de realizar la evaluación Estadística del total de las evaluaciones realizadas a los panelistas, para ello se aplicó la Evaluación de Tuckey.

Tabla 14 - *Resultados de la Evaluación Sensorial, Atributo color – Bebida Alcohólica a partir de Granada.*

PANELISTAS	TRATAMIENTOS				TOTAL N_t
	T1	T2	T3	T4	
1	7	6.2	5	2.6	20.8
2	7.5	7.1	5.4	1.8	21.8
3	8.2	6.4	5.9	1.2	21.7
4	7.4	6.2	6.4	1	21
5	8.6	5.8	7.2	0.4	22
6	6.4	7.3	6.1	1.9	21.7
7	7.4	7.2	5	2.4	22
8	7.2	6.8	5.6	2.3	21.9
9	7.5	6.2	6.1	2.1	21.9
10	8.3	6.3	5	1.7	21.3
11	9.1	5.4	6.7	1.9	23.1
12	8.2	5.1	6.5	2.4	22.2
13	8.4	5	6.1	1.5	21
14	8.3	5.3	5.9	2.2	21.7
15	8.1	6.4	5	0.5	20
16	8	7.2	4.9	0.7	20.8
17	8.1	6.2	5.4	2.1	21.8
18	8.2	6.3	5.7	1.7	21.9
19	8.5	5.3	6.1	1.3	21.2
20	9.1	8.2	6.6	0.9	24.8
TOTAL N_T	**159.5**	**125.9**	**116.6**	**32.6**	**434.6**
Y = T/n	**7.975**	**6.295**	**5.83**	**1.63**	**5.4325**

Fuente: Cartillas de Evaluación Sensorial – Microsoft Excel(*) Escala de 10 puntos*

Con los valores de la Tabla 14 se establece el ANOVA (Tabla 15), en el cual se determinó que existe diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y panelistas, dado que el Ft (1%) es menos que el valor Fc.

Tabla 15 - *ANOVA/Prueba de Tuckey Atributo Color – Bebida Alcohólica a partir de Granada.*

Fuente Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor fc	Ft 5%
Tratamiento	3	436.5045	145.5015	239.9382	4.0699
Panelistas	19	4.5055	0.2371	0.3910	2.3014
Error	57	34.5655	0.6064		
Total	79	475.5755	6.0199		

3.5.3. Evaluación Estadística del olor

Teniendo en cuenta que las interacciones lineales son estadísticamente significativas se tomó la decisión de realizar de realizar la evaluación Estadística del total de las evaluaciones realizadas a los panelistas, para ello se aplicó la Evaluación de Tuckey.

Tabla 16 - Resultados de la Evaluación Sensorial, Atributo olor – Bebida Alcohólica a partir de Granada.

PANELISTAS	TRATAMIENTOS				TOTAL N_t
	T1	T2	T3	T4	
1	5.3	5.1	3.6	2.1	16.1
2	5.6	4.3	3.1	1.4	14.4
3	5.5	5.2	2.8	2.4	15.9
4	5	4.1	2.9	2.5	14.5
5	4.8	6.1	4.1	2.1	17.1
6	4.3	3.6	3.5	2.2	13.6
7	4.9	3.5	3.8	2.4	14.6
8	4.7	4.2	4.3	2.5	15.7
9	4.3	4.5	4.7	1.6	15.1
10	5.8	3.8	4.8	0.9	15.3
11	6.1	3.9	5.2	0.4	15.6
12	3.4	4	3.6	1.6	12.6
13	4.2	4.2	2.9	1.3	12.6
14	3.1	5.1	3.7	1.7	13.6
15	6.3	5	4.3	2.4	18
16	5.5	4.8	4.7	2.1	17.1
17	5	4.7	5.3	2	17
18	4.2	4.2	5.8	1.5	15.7
19	5.4	5.3	6.3	2.1	19.1
20	3.6	3.8	5.9	1.9	15.2
TOTAL N_T	**97**	**89.4**	**85.3**	**37.1**	**308.8**
Y = T/n	**4.85**	**4.47**	**4.265**	**1.855**	**3.86**

Fuente: Cartillas de Evaluación Sensorial – Microsoft Excel(*) Escala de 10 puntos*

Con los valores de la Tabla 16 se establece el ANOVA (Tabla 17), en el cual se determinó que existe diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y panelistas, dado que el Ft (1%) es menos que el valor Fc.

Tabla 17 - *ANOVA/Prueba de Tuckey Atributo olor – Bebida Alcohólica a partir de Granada.*

Fuente Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor fc	Ft 5%
Tratamiento	3	110.725	36.9083	57.2767	4.0699
Panelistas	19	13.617	0.7167	1.1122	2.3014
Error	57	36.73	0.6444		
Total	79	161.072	2.0389		

3.5.4. Evaluación Estadística de la Apariencia general

Teniendo en cuenta que las interacciones lineales son estadísticamente significativas se tomó la decisión de realizar de realizar la evaluación Estadística del total de las evaluaciones realizadas a los panelistas, para ello se aplicó la Evaluación de Tuckey.

Tabla 18 - *Resultados de la Evaluación Sensorial, Atributo Apariencia General – Bebida Alcohólica a partir de Granada.*

PANELISTAS	TRATAMIENTOS				TOTAL N_t
	T1	T2	T3	T4	
1	4.5	5	3.8	2.2	15.5
2	5.5	4.2	6.1	2.3	18.1
3	5	5	5.2	2.7	17.9
4	6.1	6.2	4.3	1.5	18.1
5	6.6	5.8	6.2	1.9	20.5
6	5.2	5.1	5.9	2.5	18.7
7	4.2	4.4	4.1	2.1	14.8
8	6.1	5.3	5.5	1.8	18.7
9	3.6	3.5	5	1.6	13.7
10	7.2	6.4	5.2	2.8	21.6
11	3.5	3.3	3.6	2.4	12.8
12	5.3	5.1	4.7	2.9	18
13	5.4	5	5.1	2.5	18
14	4.2	4.2	4.9	1.7	15
15	4.5	4.5	5.3	2	16.3
16	5.1	4.8	4.8	2.5	17.2
17	5	5	3.2	2.1	15.3
18	6.2	4.3	5.9	1.9	18.3
19	6.3	5.4	5.4	0.6	17.7
20	6.4	5	5	1.6	18
TOTAL N_T	**105.9**	**97.5**	**99.2**	**41.6**	**344.2**
Y = T/n	**5.295**	**4.875**	**4.96**	**2.08**	**4.3025**

Fuente: Cartillas de Evaluación Sensorial – Microsoft Excel(*) Escala de 10 puntos*

Con los valores de la Tabla 18 se establece el ANOVA (Tabla 19), en el cual se determinó que existe diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos y panelistas, dado que el Ft (1%) es menos que el valor Fc.

Tabla 19 - *ANOVA/Prueba de Tuckey Atributo Apariencia General – bebida Alcohólica a partir de Granada.*

Fuente Variación	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	Valor fc	Ft 5%
Tratamiento	3	113.6925	44.5642	93.0887	4.0699
Panelistas	19	22.4395	1.1810	2.4670	2.3014
Error	57	27.2875	0.4787		
Total	79	183.4195	2.3218		

3.6. Discusión de resultados

Los valores de pH por encima del presentado en este trabajo, fueron obtenidos por otros investigadores con fermentado de guayaba roja con pH medio de 3,6, lo que hace que este producto sea menos susceptible a la degradación por bacterias acéticas (LOPES & SILVA, 2006). La legislación no establece límites para pH, extracto seco y cenizas. Sin embargo, según ASQUIERI et al. (2004), un pH relativamente bajo, como el obtenido en el presente trabajo, confiere características de frescura a la bebida.

Los valores de ácido tartárico de las bebidas elaboradas son similares a los obtenidos por López et al., (2009) y ligeramente superiores a los alcanzados por Ramírez (2011) en vinos blancos jóvenes, elaborados con la variedad Pedro Ximénez cultivada en la zona de Montilla-Moriles. Los valores menores de acidez total, como obtenidos en este trabajo, demuestran que no hubo crecimiento indeseado y excesivo de bacterias que producen ácido acético, ya que las bacterias se encuentran más adaptadas a las condiciones de producción de la bebida fermentada (VARNAM y SUTHERLAND, 1997).

En lo que respecta a la acidez volátil, ésta depende fundamentalmente de cómo se haya realizado la fermentación alcohólica y de su posterior conservación. En este trabajo, los valores de acidez volátil obtenidos no sobrepasan el límite legal establecido en el Reglamento (CE) 606/2009 que es de 1 g/l para los vinos blancos (DOUE, 2009), ni tampoco el intervalo de seguridad 0,5-0,6 g/l propuesto por Pérez et al., (1998)

IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. CONCLUSIONES

- La producción y comercialización de la bebida fermentada de granada puede ser una alternativa para disminuir las pérdidas post-cosechas.
- Se obtuvo una bebida fermentada con mayor contenido de antioxidantes empleando la levadura *Saccharomyces cerevisae* a una concentración de 0.1g/L, el cual tiene características fisicoquímicas de un vino comercial.
- El tratamiento que tuvo mayor aceptabilidad sensorial de acuerdo a los atributos evaluados fue la bebida fermentada de granada con levadura *Saccharomyces cerevisae* a una concentración de 0.1g/L
- Debido a la simplicidad del proceso, la fermentación alcohólica del zumo de granada es una práctica viable a los pequeños productores y permite una nueva fuente de ingresos.
- La producción del fermentado alcohólico de granada fue realizada en pequeña escala, pudiendo ser producida a escala mayor si hay mercado consumidor disponible para adquirir la bebida, considerando que el fermentado alcohólico de guayaba presenta parámetros físico-químicos semejantes a los tradicionales encontrados en el mercado.

4.2. RECOMENDACIONES

- Realizar un escalamiento a nivel piloto para validar los resultados obtenidos en la presente investigación.
- Realizar un análisis cromatógrafo del contenido de alcoholes presente en la bebida fermentada a partir de granada.
- Realizara otros análisis fisicoquímicos que permitan caracterizar la bebida fermentada a partir de granada.

REFERENCIAS:

Álvarez, R. I., & Leal, R. P. (28 de Febrero de 2014). Obtenido de http://www.acenologia.com/correspondencia/levaduras_vinicas_cor0214.htm

AMPEX, A. M. (2006). *PERFIL DE MERCADO DE LA GRANADA FRESCA* .

Andina. (21 de Abril de 2010). *Exportaciones de granada peruana crecieron 90% el año pasado*. Obtenido de Andina: http://www.andina.com.pe/agencia/noticia-exportaciones-granada-peruana-crecieron-90-ano-pasado-291675.aspx

Andreu-Sevilla, A., Signess-Pastor, A., & Carbonell-Barrachina, A. A. (2008). *La granada y su zumo. Produccion, Composición y propiedades beneficiosas para la salud.* Obtenido de Alimentación. 234:36-39.

Arozena, I. (2010). *Tecnología de elaboración de vinos de frutas.* Ambato, España.: Universidad Pública de Navarra.

Atkinson, A. C., Donev, A. N., & Tobias, R. (2007). *Optimum Experimental Designs, London: Oxford Science Publications*. Obtenido de https://www.conferencias.unc.edu.ar

Aviram, M. y. (2001). *Pomegrate juice consumption inhibits serum angiotenish converting enzyme activity and reduces systolyc blood pressure. Atherosclerosis. 158: 195-198.*

Bektas, N., & Ozturk, N. (2007). *Antioxidant activity of Punica granatum (Pomegranate) flowers. Abstracts / Toxicology letters. 172S S1 - S240.*

Bisson, L. (2001). *The alcoholic fermentation.* . University of California.

Blouin, J., & Peynaud, É. (2003). *Enología práctica: conocimiento y elaboración del vino. Madrid.* Madrid, España.: Mundi-Prensa.

Bobo, E., Mosconi, R., & Tosi, E. (2007). *Valoración tecnológica de la levadura autóctona Saccharomyces uvarum Challenge ES 42 seleccionada para la producción del vino Amarone.* Obtenido de Acenologia: http://www.acenologia.com/innovacion83.htm

Borochov-Neori, H., Judeinstein, S., Tripler, E., Harari, M., Greenbertg, A., Shomer, I., & Holland, D. (2009). *Seasonal and cultival variations in antioxidant and sensory quality of pomegrate (Punica granatum L.) fruit. Journal Food Composition and Analysis. 22:189-195.*

Brand-Williams, W., Cuvelier, M., & Berst, C. (1995). *Use of free radical method to evaluuate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. Technol., 22, 25-30*. Obtenido de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612005000400016

Bujan, J. (2003). Guia de la nueva cultura del vino. *Barcelona: Rubes Editorial S.L.*

Cabrera, S., Cuenca, M., & Quicazan, M. (2012). *Tesis: Efecto de la proporción de pulpa en el mosto para la producción de bebida alcohólica de guayaba (Psidium guajava).* Obtenido de http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169823914074

Caligiani, A., Bonzanini, G. P., & Cirlini, M. y. (2010). *Characterization of a potential nutraceutical ingredient: pomegranate (Punica granatum L.) seed oil unsaponificable fraction. Plant food hum nutr. , 65, 277-283.*

Carolina, A. R. (2012). *Tesis: Evaluación de la fermentación alcohólica para la producción de hidromiel.* Obtenido de http://www.bdigital.unal.edu.co/9933/1/300060.2012.pdf

Celik, I., Temur, A., & Isik, I. (2009). *Hepatoproctive role and antioxidant capacity of pomegranate (Punica granatum) Flowers infusion against trichloroacetic acid-exposed in rats. Food and chemical Toxicology. 47:145 - 149.*

Chipault, J. R., & Mizuno, G. R. (1956). *the antioxidant properties of spices in foods. Food technology. 10: 209 - 211.*

Correa, P. M. (1978). *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. 5.ed. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional., p.609-610.*

Cotillas, P. (2004). *Enología practica, conocimiento y elaboración del vino.* . Cuarta edición. Madrid.España. Ediciones Mundi-Prensa.

Eroski Consumer. (2016). Obtenido de Guia practica de frutas. España: http://frutas.consumer.es/granada/propiedades

Garcia Gallego, J. (2008). Maridaje, enología y cata de vinos. Antequera: Innovación y Cualificación SL. 71.

Garzon, G. (2008). *Anthocyanins As Natural Colorants And Bioactive Compounds: A Review. Acta Biol.Colomb. 13, no.3, p.27-36. ISSN 0120-548X.*

German, J. B., & Walzem, R. (2000). *The health benefits of wine. Annu. Rev. Nutr. 20: 561-593.*

Gonzalez, R., Barcenilla, J., & Tabera, L. (2007). Cepas vínicas de Saccharomyces cerevisiae con bajo rendimiento en etanol. . *Instituto de Fermentaciones Industriales, CSIC. ACE Revista de Enología.*

He, S., Sun, C., & Pan, Y. (2008). *Red wine polyphenols for cancer prevention. Int. J. Mol. Sci. 9: 842-853.*

Hernandez Alarcon, E. (2005). *Evaluacion sensorial.* Obtenido de Universidad Nacional Abierta y Adistancia-UNAD.: file:///C:/Users/heber/Downloads/767925145.4902Evaluacion%20sensorial.PDF

Hidalgo, J. (2002). Tratado de enologia (vol. 1). *Madrid: Ediciones Mundi-Prensa.*

Hühn, T. (1999). *The influence of microorganisms in winemaking.* . Scientific and Technical Information.

Hyma, K., Saerens, S., Verstrepen, K., & Fay, J. (2001). Divergence in wine characteristics produced by wild and domesticated strains of Saccharomyces cerevisiae. *FEMS Yeast Research.*, 11: 540-551.

InfoAgro. (2015). *Frutas tradicionales- Granado*. Obtenido de InfoAgro - España: http://www.infoagro.com/frutas/frutas_tradicionales/granado.htm

Iñaki Etaio, A., Pérez Elortondo, F. J., Albisu Aguado, M., Salmerón Egea, J., Ojeda Atxiaga, M., & Gastón Estanga, E. (Marzo de 2007). *Guía para la evaluación sensorial de la calidad.* Obtenido de Universidad del Pais Vasco: http://www.ehu.eus/SGIker/es/lasehu/documentos/Ardo_gida_castellano.pdf

Jacques, K. A., Lyons, T. P., & Kelsall, D. R. (2003). *The alcohol Textbook.* Nottingham: Nottingham University Press.

Kim, D.-O., Lee, K., Le, H., & Lee, C. (2002). *Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolics phytochemicals. J. Agric. Food Chem., 50, 3713-3717*. Obtenido de http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20612005000400016

Klatsky, A. (2009). *Alcohol and cardiovascular diseases. Expert Rev. Cardiovasc. Ther. 7:*.

Kloner, R., & Rezkalla, S. (2007). *To drink or not to drink? That is the question.*

L'aguesl, & Yagua. (2015). *Variedades de granadas*. Obtenido de LyFruits: http://lyfruits.com/variedades-granadas/

Lansky, E. P., & Newman, R. A. (2007). *Punica Granatum (pomegranate) and its potential for prevention and treatment of inflammation and cancer. Journal of Ethnopharmacology. 109:177 - 206.*

Libkind, D. e. (2011). *"Microbe domestication and the identification of the wild genetic stock of lager-brewing yeast." Proceedings of the National Academy of Sciences 108.35 : 14539-14544.*

Lindberg, M., & Amsterdam, E. (2008). *Alcohol, wine and cardiovascular health. Cli. Cardiol. 31(8): 347- 351.*

López Gálvez, M. Y., & Moreno vega, A. (2015). *El granado: variedades, tecnicas de cultivo y usos.* Obtenido de Agroguias mundi-prensa: https://books.google.com.pe/books?id=YdJyCgAAQBAJ&pg=PA19&lpg=PA19&dq=punica+granatum+variedades&source=bl&ots=OoC3_aJTgq&sig=PoIRSHnS4DTLqw3Td7u4nDFI2DM&hl=es-

419&sa=X&ved=0ahUKEwiF_96Kst_NAhWFGh4KHYigCRc4ChDoAQhNMAk#v=onepage&q=punica%20granatum%20varie

López Mejía, O., López Malo, A., & Paolu, E. (2010). *Granada(Punica granatum L): una fuente de antioxidantes de interés actual.* Obtenido de Departamento de Ingenieria Quimica, Alimentos y Ambiental. Universidad de las Américas, Puebla. Sta. Catarina Mártir, Cholula, Puebla. 72810. México.: http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No4-Vol-1/TSIA-4(1)-Lopez-Mejia-et-al-2010.pdf

Madigan, M. e. (2004). *Brock; Biología de los microorganismos Trad. del inglés por BUENO., N., 10 a. ed., Madrid-España., Pearson Educacion, S. A., 2004., Pp. 103-165, 943-946, 957-983.*

Mallol, F., Arroyo, G., F, L., & A, C. (2004). La respuesta a estrés en la levadura Saccharomyces cerevisiae. *Revista Latinoamericana de Microbiologia.*, 46 (1-2).

Mesas, J. M., & Alegre, M. T. (1999). *El papel de los microorganismos en la elaboración del vino. Revista Ciencia y Tecnología alimentaria. Vol. 2. Nº 4. Pág.: 174-183.*

Mohseni, A. (2009). *The situation of pomegranate orchards in Iran. En Ozguven, A.i., Fideghelli, C. y Yalcin mendi, Y (Eds.)I International Symposium on Pomegranate and minor Mediterranean Fruits.* Obtenido de International Society for horticultural Science, ISHS Acta Horticulturae. Adana, Turkia.

Mousavinejad, G., Emam-Djomeh, Z., Rezaei, K., Hossein, M., & Khodaparast, H. (2009). *Identification and cuantification of phenolic compounds and their effetcs on atioxidant activity in pomegranate juices of eight Iranian cultivars.* Obtenido de Food Chemistry. 115:1274-1278.

MPGRA. (2009). *Pomegranate Facts. Maharashtra Pomegranate Growers Research Association.* Obtenido de http://www.pomegranateindia.org

Nelson, D., COX, M., & C.M. (2005). *Principios de Bioquímica. Pág. 524.* Editorial Omega. Cuarta Edición.

Nguyen, H. V., Legras, J. L., Neuvéglise, C., & Gaillardin, C. (2011). *"Deciphering the hybridisation history leading to the lager lineage based on the mosaic genomes of Saccharomyces bayanus strains NBRC1948 and CBS380T". PLOS ONE 6 (10): e25821.* Obtenido de http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0025821

Nieto Galarza, H. O. (2009). *Tesis: Evaluación de las condiciones de la fermentación alcohólica utilizando Saccharomyces cerevisiae y jugo de caña de azúcar como sustrato para obtener etanol.* Obtenido de http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/990/1/T-ESPE-026782.pdf

Opie, L., & Lecour. (2007). *The red wine hypothesis: from concepts to protective signalling.*

Otto Wilhelm, T. (1885). *Flora von Deutschland Österreich und der Schweiz*. Obtenido de Biolib: http://biolib.mpipz.mpg.de/thome/index.html

Panza, F., Capurso, C., Dilntrono, A., Colacicco, A., Frisardi, V., Lorusso, M., . . . Solfrizzi, V. (2009). *Alcohol drinking, cognitive functions in older age, predementia, and dementia syndromes. Journal Alzheimer´s Dis. 17(1): 7- 31.*

Ramirez, J., Garcia, C., Vizcaino, J., Cardenas, J., Gutierrez, f., Mariel, H., & Villagran, S. (Mayo de 2012). *Ciencia Y Hombre.* Obtenido de REVISTA DE DIVULGACIÓN CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA DE LA UNIVERSIDAD VERACRUZANA, Volumen XXV: https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol25num2/articulos/antioxidantes/

Recalde Rodas, D. E. (12 de octubre de 2010). *Tesis: Elaboración de una bebida alcohólica fermentada de jícama (Smallanthus sonchifolius) y manzana (Pyrus malus L.).* Obtenido de http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/2465

Renaud, S., & De Lorgeril, M. (1992). *Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for.*

Repo, R., & Encina, C. (Jun. de 2008). *Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas.* Obtenido de http://www.scielo.org.pe/: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2008000200004&script=sci_arttext

Ruiz, I. (2016). *Seres modélicos entre la naturaleza y el laboratorio.* Obtenido de Seres modélicos - Consejo Superior de Investigaciones Cientificas.: http://seresmodelicos.csic.es/llevat.html

Salazar, R., Espinoza, G., Ruiz, C., Fernandez, M. d., & Rojas, R. (01 de 03 de 2011). *Compuestos Fenólicos, Actividad Antioxidante,Contenido De Resveratrol Y Componentes Del Aroma De 8 Vinos Peruanos.* Obtenido de http://www.scielo.org.pe/: http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v77n2/a06v77n2.pdf

Sanos, V. (03 de Nov de 2015). *La granada Fruta anti colesterol*. Obtenido de Viviendo Sanos: http://viviendosanos.com/granada-la-fruta-anti-colesterol/

Schuller, D., Cardoso, F., Sousa, S., Gomes, P., Gomes, A., Santos, M., & Casal, M. (2012). Genetic Diversity and Population Structure of Saccharomyces cerevisiae Strains Isolated from Different Grape Varieties and Winemaking Regions. *PLoS ONE.*, 7 (2): e32507.

Sesso, H., Cook, N., Buring, J., Manson, J., & Gaiano, J. (2008). *Alcohol consumption and the risk of hypertension in women and men. Hypertension. 51: 1080-1087.*

Shahidi, F., & Naczk, M. (1995). *Food Phenolics: Sources, Chemistry, Effects and Aplications Technomic Publishing., Inc. P. 247-260.*

Shahidi, F., & Naczk, M. (2009). *Phenolics inf Food and Nutraceuticals. CRC Press, Boca Ratón, Florida. EUA.*

Sheets, M. D., Du Bois, M. L., & Williamson, J. G. (2009). *La granada en Florida. Departamento de Ciencias Horticolas University of florida (hS1044). IFAS Extensión.* Obtenido de http://edis.ifas.ufl.edu/hs294

Syed, D. N., Afq, F., & Mukhtar, H. (2007). *Pomegranate derived products for cancer chemoprevention. Seminars in cancer Biology. 17:377 - 385.*

Tous, J., & Ferguson, L. (1996). *Mediterranean fruits. En: Janick J. (Ed).* Obtenido de Progress in new crops. ASHS Press, Arlington, VA. 416-430.: http://www.hort.pudue.edu/newcrop/proceedings1996/v3-416.html

USDA. (2009). *National nutrient Database for Standar. United States Deparment of agriculture.* Obtenido de htttp://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/search/

Vallejo Imbaquingo, R. J. (2011). *Tesis: Estudio tecnológico para la elaboración de vino de carambola (Averrhoa carambola).* Obtenido de http://repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/4918

Vasquez, H. (2007). *"Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas"INGENIERÍA Investigación y Tecnología VIII. 4. 249-259, 2007.* Obtenido de Ecured: http://www.ecured.cu/Fermentaci%C3%B3n_alcoh%C3%B3lica

Vasquez, H. J., & Dacosta, O. (2006). *Scielo, Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas.*

Velasquez Tuesta, A. (20 de Diciembre de 2015). *Diario el Digital, "Sierra Exportadora: Existe un potencial de 160 mil toneladas de fruta para desarrollar destilados"*. Obtenido de http://eldigital.pe/publicacion/2015/12/20/catpol/sierra-exportadora-existe-un-potencial-de-160-mil-toneladas-de-fruta-para-desarrollar-destilados8207#.VzlGxDXhCM9

Wannamethee, S., Camargo, C., Manson, J., Willet, W., & Rimm, E. (2003). *Alcohol drinking patterns and risk of Type 2 diabetes mellitus among younger women. Arch. Intern. Med. 163: 1329-1336.*

Yanishlieva, N. V., Marinova, E., & Pokomy, J. (2006). *Natural antioxidants from herbs and spices. European Journal of lipid Science and technology. 108(9): 776 - 793.*

VARNAM, A. H.; SUTHERLAND, J. P. 1994. Leche y productos lácteos. Tecnologia Química y Microbiologia. Zaragoza, p. 1-34, 365-401,

ASQUIERI, E. R.; DAMIANI, C. CANDIDO, M. A.; ASSIS, E. M. 2004. Vino de jabuticaba (Mirciaria cauliflora Berg): Estudio de las características físico-químicas y sensoriales de los vinos tinto seco y dulce, fabricados conla fruta integral. Alimentaria (Madrid). n. 355, p. 111-121,

Ramírez P. 2011. Efectos de Diferentes Estrategias de Riego en el Comportamiento Agronómico y Enológico de cv. Pedro Ximénez (Vitis vinifera) en Clima Cálido. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba.

DOUE, 2009. Reglamento (CE) 606/2009 de la Comisión, de 10 de julio, que fija determinadas disposiciones de aplicación del Reglamento (CE) 479/2008 del Consejo en lo relativo a las categorías de productos vitícolas, las prácticas enológicas y las restricciones aplicables. Diario Oficial de la Unión Europea No L 193/1, 24 de julio de 2009.

Pérez P.M., Morales J. 1998. Manual Básico de Laboratorio de Bodega. Consejería de Agricultura y Pesca. Junta de Andalucía, ed. Sevilla.

ANEXOS

ANEXO 1 – Acondicionamiento de la granada para el proceso fermentativo

Selección

Fuente: Planta Piloto USS

Lavado y desinfección

Fuente: Planta Piloto USS

Pelado y desgranado

Fuente: Planta Piloto USS

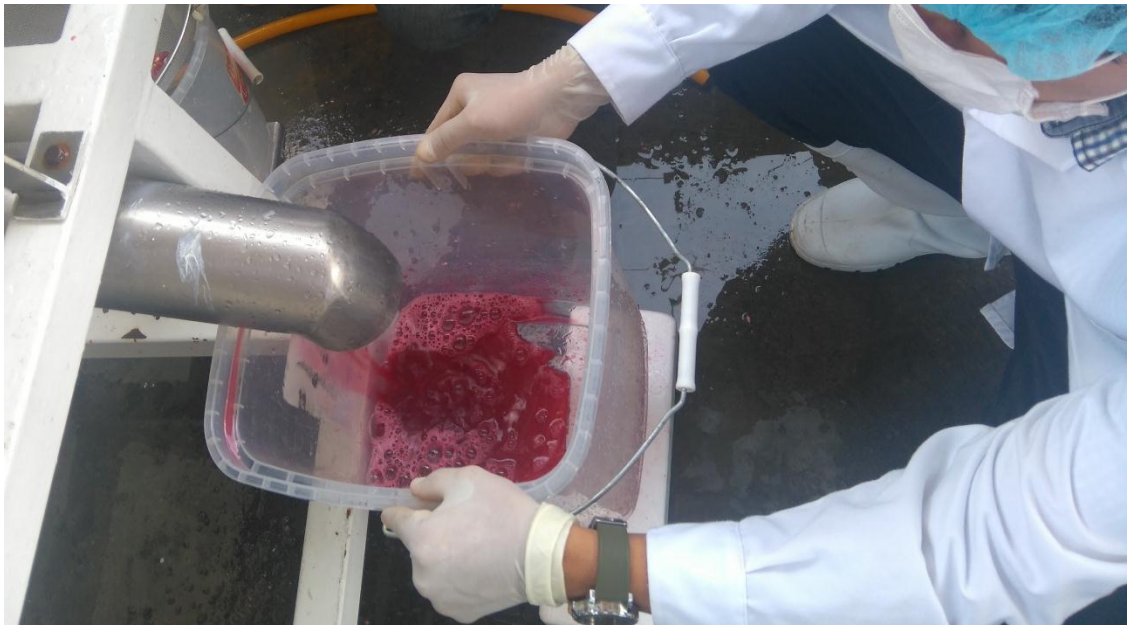
Obtención de arilos

Fuente: Planta Piloto USS

Extracción de zumo

Fuente: Planta Piloto USS

Zumo obtenido



Fuente: Planta Piloto USS

Zumo obtenido

Fuente: Planta Piloto USS

Acondicionamiento del mosto

Fuente: Planta Piloto USS

1era Sulfitación

Fuente: Planta Piloto USS

Inoculación

Fuente: Planta Piloto USS

Fermentación

Fuente: Planta Piloto USS

2da sulfitación

Fuente: Planta Piloto USS

Clarificación

Fuente: Planta Piloto USS

3era Sulfitación y envasado

Fuente: Planta Piloto USS

ANEXO 2 – Evaluación sensorial

Cartilla de evaluación sensorial

Codigo:

EVALUACIÓN DE LA FERMENTACIÓN DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DE GRANADA (*Punica granatum*)

Instrucciones: Caracterizar cada muestra según el atributo sensorial que se le presenta a continuación, haciendo una raya perpendicular a la línea horizontal según sea la intensidad del atributo evaluado

Sabor

Me desagrada — Me agrada

Color

Me desagrada — Me agrada

Olor

Me desagrada — Me agrada

Apariencia General

Me desagrada — Me agrada

Fuente: Elaboración Propia