UNS
ESCUELA DE POSGRADO

"Obtención y caracterización de una bebida fermentada elaborada con capulí (*Prunus serotina*) con maceración prefermentativa."

Tesis para optar el grado de Doctor en Ingeniería de Alimentos

AUTORA:

Mg. FALCÓN ROMERO, Paula Elvira

ASESOAR:

Dra. AGUIRRE VARGAS, Elza Berta

NUEVO CHIMBOTE - PERÚ
2020

UNS
ESCUELA DE
POSGRADO

CONSTANCIA DE ASESORAMIENTO

YO, **Elza Berta Aguirre Vargas**, mediante la presente doy conformidad de mi asesoramiento de la tesis Doctoral titulada: **"OBTENCION Y CARACTERIZACIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA CON CAPULÍ *(Prunus serotina)* CON MACERACIÓN PREFERMENTADA"** Que tiene como autor a la Mg. **PAULA ELVIRA FALCON ROMERO**, que ha sido elaborado de acuerdo al Reglamento de Normas y Procedimientos para obtener el Grado Académico de Doctor en Ingeniería de alimentos de la escuela de Posgrado de la Universidad Nacional del Santa.

Nuevo Chimbote, 22 de octubre, del 2020

Dra. ELZA BERTA AGUIRRE VARGAS
Asesora

UNS
ESCUELA DE
POSGRADO

CONFORMIDAD DEL JURADO EVALUADOR

"OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA ELABORADA CON CAPULÍ *(Prunus serotina)* CON MACERACIÓN PREFERMENTATIVA".

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE DOCTOR EN INGENIERÍA DE ALIMENTOS

Revisado y Aprobado por el Jurado Evaluador

Dr. Luz María Paucar Menacho
PRESIDENTE

Dr. Victor Castro Zavaleta
SECRETARIO

Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
VOCAL

DEDICATORIA

Agradezco a Dios por la vida y por
todo lo bueno que siempre puso
en mi camino.
A mis hijos Carla y Arturo por ser
el motivo de mi superación
profesional.

A mi padre Ruben por su amor
hacia mi persona, Por su ayuda y
comprensión que permitió culminar
mi estudio doctoral.

A mis mamitas Clotilde y Hortencia por
darme el aliento inspirador para lograr
mis objetivos.

A mis hermanitas Sonia y Gloria ejemplos
de valor y perseverancia, nunca los olvidaré.

AGRADECIMIENTO

A mi asesora a la Dra. Elza Berta Aguirre Vargas,

por creer en mí y compartir sus conocimientos

en la elaboración de esta investigación.

A todos los docentes de la Escuela

de posgrado por su experiencia

y contribución en este largo camino

del aprendizaje.

Y a todas aquellas personas que

de una u otra manera me

me acompañaron en el camino

del aprendizaje.

INDICE GENERAL

Aval de informe de tesis……ii

Acta de aprobación de jurado evaluado…… iii

Acta de aprobación de originalidad…… iv

Declaración jurada de autoría……v

Resultados de turnitin……..vi

Índice…….. viii

Lista de cuadros…….. xiv

Lista de gráficos…… xvi

RESUMEN…… xviii

ABSTRACT…….. xix

INTRODUCCIÓN……1

CAPÍTULO I…… 3

PROBLEMA DE INVESTIGACION……3

1.1. Planteamiento y fundamentación del Problema de Investigación…….3

1.2. Antecedentes de la investigación……3

1.2.1. Trabajos de investigación de Capulí (Prunus serotina)…….. 3

1.2.2. Compuestos bioactivos en bebidas fermentadas de frutas…….. .6

1.2.3. Técnicas de maceración prefermentativa y fermentativa empleadas en la elaboración de bebidas fermentadas de frutas y vinos…..……7

1.2.4. Capacidad antioxidante, contenido polifenólicos en vinos……..……10

1.3. Formulación del problema de investigación…….. 11

1.4. Delimitación del estudio…….. 11

1.5. Justificación e importancia de la investigación……... 12

1.6. Objetivos de la investigación…….. 12

CAPÍTULO II…….…… 14

MARCO TEÓRICO…… 14

2.1. Fundamentos teóricos de la investigación…….……14

2.2. Marco conceptual…….…… 14

2.2.1. Generalidades del capulí (Prunus serótina)……..14

2.2.2. Composición Nutricional – fisicoquímico- proximal……..……14

2.2.2. Composición químico proximal…….……16

2.2.3. Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante del Capulí… 18

2.2.4. Análisis fisicoquímicos y funcionales de frutas…… 20

2.2.5. Usos del capulí……..…… 21

2.2.6.Compuestos funcionales de las frutas nativas……..…… . 22

2.2.7. Bebidas fermentadas y salud…….…… 24

2.2.8. La maceración prefermentativa, fermentativa y posfermentativa en bebidas fermentadas de frutas y vinos…….…….. 26

2.2.9. Añejamiento y crianza……..……. 30

2.2.10. Alternativas de crianza: virutas de roble, taninos y micro oxigenación... 32

2.2.11. Determinación del color en los vinos (bebidas fermentadas)…… … 33

2.2.12. Fermentación alcohólica…….…… 33

2.2.13. Factores que afectan el crecimiento de las levaduras……. 34

2.2.14. Control de la fermentación alcohólica…… . 38

2.2.15. Limitaciones del Proceso Fermentativo……. 38

2.3. Definición de términos……..……. 38

CAPÍTULO III……..……. 40

MARCO METODOLÓGICO…… 40

3.1. Hipótesis central de la investigación…… 40

3.2. Variables e indicadores de la investigación…… …… 40

3.3. Métodos de la investigación…….…….. 43

3.3.1. Tipo y nivel de la investigación…….. 43

3.3.2. Lugar de ejecución…….. 43

3.4. Diseño o esquema de la investigación para la contratación de la hipótesis...43

3.5. Población y muestra……..…… 45

3.6. Actividades del proceso investigativo…….. 47

3.6.1. Etapa 1. Caracterización del fruto del capulí y maceración prefermentativa……..... 48

3.6.2. Etapa II. Maceración fermentativa y escalamiento…….. 52

3.6.3. Etapa III. Maceración posfermentativa, estabilización, embotellado y caracterización final…….. 57

3.7. Técnicas e instrumentos de la investigación…… 58

3.7.1. Composición química proximal de la materia prima: Capulí (Prunos serótina)……..… 58

3.7.2. Análisis Físico-Químicos del fruto del capulí……. 58

3.7.3. Análisis del color…….. 59

3.7.4. Medida de polifenoles totales…… 59

3.7.5. Analisis funcional……. 59

3.7.6. Análisis Físico químico durante el proceso maceración fermentativa del mosto de capulí…….. 59

3.7.7. Análisis físico químico de la bebida fermentada…… 59

3.7.8. Análisis organoléptico……..…….. 59

3.7.9. Calificación de la calidad estética (Jackson 2009)…….…. 59

3.7.10. Análisis funcional…….. 59

3.7. 11. Equipos…… 60

3.8. Procedimiento para la recolección de datos. …… 61

CAPÍTULO IV…… 62

RESULTADOS Y DISCUSIONES…… 62

4.1. Caracterización del fruto maduro del capulí (Prunus serótina)……..… 62

4.1.1. Componentes del fruto maduro.. …… 62

4.1.2. Composición química proximal del fruto del capulí……..……. 62

4.1.3. Análisis físico – químicos de la pasta de capulí……. 64

4.1.4. Contenido de compuestos fenólicos, capacidad antioxidante…… 64

4.2. Determinación de la influencia de la maceración prefermentativa en frio sobre la extracción de compuestos polifenólicos y la intensidad colorante.. 67

4.2.1. Determinación del índice de polifenoles totales de las borras después de la maceración prefermentativa……..…… 69

4.3. Evaluación de la influencia de la concentración de nutrientes y la concentración de azucares en la maceración fermentativa. …… 71

4.3.1. Efecto de la concentración de nutriente y azucares en el pH……..….71

4.3.2 Influencia de la concentración de nutriente y azucares en la variación del pH y variación de los ºBrix durante la maceración fermentativa. ……82

4.3.3 Contrastación de la hipótesis conceptual de la investigación planteada con los resultados experimentales de la investigación…… 84

4.3.4. Resultados del Análisis estadístico del Diseño Central Compuesto Rotacional. Utilizando el paquete estadistico STATISTICA 13.3……. 85

4.4. Descripción del Diagrama de flujo artesanal de la elaboración de la bebida fermentada de capulí…….. 93

4.5. Características fisicoquímicas funcionales y aceptabilidad de la bebida fermentada de capulí obtenida en la fase de escalamiento después de la fase de crianza de seis meses…..…….. 98

4.5.1. Características funcionales de la bebida fermentada de capulí del Tratamiento 6 del DCCR. ……..…… 99

4.5.2. Características funcionales de la bebida fermentada de miel y capulí (patrón comercial) de la empresa Márquez de Aranjuez de la ciudad de Andahuaylas-Perú…….…. 99

4.5.3. Evaluación sensorial. Prueba de aceptabilidad……. 101

4.5.4. Calificación estética de la bebida fermentada de capulí. ……..… 104

CAPÍTULO V……..…….. 106

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES……. 106

5.1. Conclusiones. …….. 106

5.2. Recomendaciones……..…… 107

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS……..…… 108

ANEXOS……..…… 118

Anexo 1. Técnicas para determinar los polifenoles totales. ……..….118

Anexo 2. Informe de ENSAYO S.A.C. Análisis Químico Proximal…….119

Anexo 3. Informe de ensayo Nº 001960-2019……..120

Anexo 4. Procedimiento para la cuantificación de las características Funcionales de la muestra de capulí fresco (puré de capulí)…… 121

Anexo 5. Procedimiento para el analisis estadistico del DCCR, realizado en la pantalla del paquete STATISTICA 13.3……..….. 125

Anexo 6. Norma Técnica Peruana 212.014-2011. Revisada el 2016……130

Anexo 7. Cuantificación de la capacidad antioxidante en la bebida fermentada de capulí…… 131

Anexo 8. Cuantificación de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles del patrón comercial. ……134

Anexo 9. Formato de evaluación sensorial: bebida fermentada de capulí (Prunus serótina). …… 138

Anexo 10. Formato para evaluación estética de una bebida fermentada. (Jackson 2009) …… 139

Lista de cuadros

Cuadro 1. Clasificación Taxonómica del capulí (Prunus serótina)…… 15

Cuadro 2. Análisis bromatologico del Capulí (100g de pasta) ……. 16

Cuadro 3. Composición Nutricional del capulí (en 100 g de pasta)……... 16

Cuadro 4. Composición Químico proximal del Capulí (100 g de pasta)…..... 17

Cuadro 5. Análisis fisicoquímico y funcional del Capulí (Prunus serótina)…….. 18

Cuadro 6. Análisis de fenoles totales y capacidad antioxidante del fruto del capulí comparado con otras frutas……..……20

Cuadro 7. Capacidad antioxidante total de algunas frutas……. 24

Cuadro 8. Tiempos de crianza en barricas, botella para vinos……. 32

Cuadro 9. Plan experimental para la obtención de la bebida fermentada……. 41

Cuadro 10. Variables e indicadores de la Investigación……... 42

Cuadro 11. Factores. Etapa II. Valores utilizados en el DCCR……. 44

Cuadro 12. Matriz del experimento. Tratamientos del DCCR variables independientes y dependientes……. 45

Cuadro 13. Componentes del capulí maduro por 100 gramos…… 62

Cuadro 14. Composición químico proximal de la de la pasta de capulí…… 62

Cuadro 15. Análisis fisicoquímico de la pasta del capulí maduro……. 64

Cuadro 16. Capacidad antioxidante (ABTS). Compuestos fenólicos (mg ácido gálico /100g) y vitamina C (mg/100g) (media +DE, n=2) ….. 65

Cuadro 17. Capacidad antioxidante, compuesto polifenólicos por 100 gramos de muestra (media +DE, n=3). ……..……. 65

Cuadro 18. Análisis fisicoquímico, parámetro de color y medida de polifenoles de los mostos de la dilución 1:2, 1:3, 1:4 antes de la Maceración prefermentativa..67

Cuadro 19. Análisis fisicoquímico, Intensidad colorante e Índice de polifenoles totales de los mostos de la dilución 1:2, 1:3, 1:4 después de la maceración prefermentativa de 30 días a la temperatura de - 8ºC…….. 68

Cuadro 20. Porcentaje de incremento de la intensidad colorante y el índice de polifenoles para las diluciones 1:2, 1:3 ,1:4 antes y después de la maceración prefermentativa…… 70
Cuadro 21. Variación de pH y variación de Brix para los Tratamientos 1, 2, 3, 4 del DCCR en la etapa de maceración fermentativa……. 73
Cuadro 22. Variación de pH y ºBrix para los Tratamientos 5, 6, 7, 8 del DCCR en la etapa de maceración fermentativa…… 74
Cuadro 23.Variación de pH y ºBrix) para los Tratamientos 9,10, 11 del DCCR en la etapa de maceración fermentativa. ……..75
Cuadro 24. Grado alcohólico y pH final vs duración de la fermentación…..……78
Cuadro 25. Tratamientos del DCCR, Factores, Variables independientes y dependientes ºGA, duración de la fermentación y pH final. …… 86
Cuadro 26. Variables independientes y variables dependientes de control final por tratamiento del DCCR para el análisis estadístico……..86
Cuadro 27. ANOVA para el grado alcohólico. ……87
Cuadro 28.Valores predictivos de la variable grado alcohólico……..89
Cuadro 29. ANOVA para la variable dependiente de control final pH……89
Cuadro 30. Valores predictivos para el pH final……90
Cuadro 31. ANOVA para la variable dependiente duración de la fermentación.....91
Cuadro 32. Valores predictivos para la variable duración de la fermentación…...91
Cuadro 33. Análisis Fisicoquímico de la bebida fermentada de capulí……98
Cuadro 34. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoes de la bebida fermentada de capulí de la investigación ……. 99
Cuadro 35. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de la bebida feremntada de miel y capulí (patrón comercial). ……100
Cuadro 36. Análisis sensorial prueba de aceptabilidad utilizando escala hedónica de 7 puntos……. 102
Cuadro 37. Prueba de T student para el análisis sensorial de la bebida fermentada de capulí…….…… ……..102
Cuadro 38. Calificación estética de la bebida fermentada de capulí…….. 104
Cuadro 39. Estadística de la prueba de calificación estética…… 105

Lista de gráficos

Gráfica 1. Mapa conceptual de la maceración prefermentativa, fermentativa y posfermentativa…… 27

Gráfica 2. Mecanismo de la extracción de los compuestos fenólicos ……..28

Gráfica 3. Fruto del Capulí en el árbol…… 48

Gráfica 4. Recepción y lavado del Capulí……... 48

Gráfica 5. Lavado del capulí……..…... 48

Gráfica 6. Selección de Capulí…… 48

Gráfica 7. Pesado, estrujado, despepitado del Capulí……. 50

Gráfica 8. Pasta de capulí……. 50

Gráfica 9. Vista de las diluciones en vaso y en placa Petri de derecha a izquierda 1:2, 1:3,1:4…….. 51

Gráfica 10. Ensayo para determinar la intensidad colorante y medida del índice de polifenoles totales…….. 52

Gráfica 11. Espectrofotómetro utilizado para el ensayo de la medida de polifenoles en las diluciones de la borra…….. 52

Gráfica 12. Levadura rehidratada…… 53

Gráfica 13. Once frascos conteniendo los pie de cuba para inocular a los mostos de fermentación de los tratamientos del DCCR…….. 54

Gráfica 14. Sistema de fermentación empleado…… 54

Gráfica 15. Levadura rehidratada y mosto de pie de cuba para inocular al mosto de 20 litros, sobre de levadura y Nutriente VACTIV, para la fase de escalamiento de la fermentación para la fase de escalamiento……. . 55

Gráfica 16. Fase de escalamiento. Mosto de Fermentación final después del primer trasiego…… 57

Gráfica 17. Fotografía de las diluciones antes y después de la maceración prefermentativa. ……..… 68

Gráfica 18. Tubos conteniendo la dilución de la borra de la maceración prefermentativa…… 69

Gráfica 19. Variación de los sólidos solubles (Brix) Vs Tiempo…… 76

Gráfica 20. Variación del pH Vs tiempo…….. 77

Gráfica 21. Grados Alcohólicos finales Vs tratamientos del DCCR…… 78

Gráfica 22. Función del modelo estimado y los valores aproximados de grado alcohólico a maximizar tridimensionalmente …… 88

Gráfica 23. Variación de la variable pH final Vs tratamientos del DCCR……..... 90

Gráfica 24. Superficie respuesta del modelo estimado para las variables dependientes duración de la fermentación, Brix y nutriente……. . 92

Gráfica 25. Diagrama de flujo de la elaboración de la bebida fermentada…… 94

Gráfica 26. Bebida fermentada de capulí elaborada en la investigación… 98

Gráfica 27. Patrón comercial. Bebida fermentada de miel y Capulí…….. 100

RESUMEN

La presente investigación tuvo el propósito de elaborar una bebida fermentada de capulí con las mejores características fisicoquímicas, funcionales y organolépticas, con maceración prefermentativa, fermentativa y posfermentativa. En la primera etapa se caracterizó la pasta de capulí, evaluándose la influencia de la maceración prefermentativa en congelación sobre las diluciones de la pasta de capulí. En la segunda etapa se evaluó la influencia de las variables independientes: nutriente y azúcares en la maceración fermentativa. Las variables dependientes: variación del ºBrix, variación del pH, grado alcohólico final, tiempo, pH final. Los resultados fueron: ºBrix 28%, pH 4.7, Nutriente 25g/hectolitro, tiempo 10 días. Se realizó la optimización mediante superficie respuesta, utilizando un diseño central compuesto rotacional con 11 tratamientos (4 factoriales, 4 axiales y 3 puntos centrales), la interpretación se realizó con statistica 13.3; dando como resultado en el análisis de varianza para las variables dependientes de control final grado alcohólico y duración de la fermentación que hay influencia significativa del ºBrix con un nivel del 95%, en el ANOVA de la variable dependiente de control final pH, el ºBrix no tuvo influencia significativa con un nivel del 95 **%.** En la tercera etapa se llevó a cabo la maceración posfermentativa, estabilización, embotellado. Los resultados de la caracterización fisicoquímica, y funcional fueron: Grado alcohólico 12.83±0.169, acidez acética volátil (g/l ácido acético) 0.673± 0.0047, ºBrix 0.33±0.47, acidez total (g/l ácido tartárico) 3.833±0.047, pH 3.49± 0.0047, Metanol (ppm) 179.6±0.471 mg. Capacidad antioxidante (µmolEtrolox/100ml) 1913.039±0.021, polifenoles (mgGAE/100ml) 118.59 ± 0.03. Las conclusiones más importantes fueron: la maceración prefermentativa en congelación extrae mayor cantidad de polifenoles, la concentración de azucares y nutriente tienen efecto positivo en la extractibilidad de polifenoles.

Palabras clave: Maceración prefermentativa, capulí (*Prunus serotina*), bebida fermentada, maceración fermentativa.

ABSTRACT

The research managed to elaborate a fermented capulí drink with the best physicochemical, functional and organoleptic characteristics, with pre-fermentation, fermentation and post-fermentation maceration. In the first stage, the capulí paste was characterized, evaluating the influence of the cold pre-fermentation maceration on the dilutions of the capulí paste. In the second stage, the influence of the independent variables nutrient and sugars in the fermentative maceration was evaluated. The dependent variables: variation of ºBrix, variation of pH, alcoholic degree, time, final pH. The results were: ºBrix 28%, pH 4.7, Nutrient 25g / hectoliter, time 10 days. Optimization by response surface was performed, using a rotational composite central design with 11 treatments (4 factorial, 4 axial and 3 central points), the interpretation was performed with statistica 13.3; resulting in the analysis of variance for the dependent variables of final control alcoholic degree and duration of fermentation that there is a significant influence of ºBrix with a level of 95%, in the ANOVA of the dependent variable of final control pH, ºBrix does not had significant influence with a level of 95%. In the third stage, post-fermentation maceration, stabilization, and bottling were carried out. The results of the physicochemical, functional characterization were: Alcoholic degree 12.83 ± 0.169, volatile acetic acidity (g / l acetic acid) 0.673 ± 0.0047, º Brix 0.33 ± 0.47, total acidity (g / l tartaric acid) 3.833 ± 0.047, pH 3.49 ± 0.0047, Methanol (ppm) 179.6 ± 0.471 mg. Antioxidant capacity (µmolEtrolox / 100ml) 1913.039 ± 0.021, polyphenols (mgGAE / 100ml) 118.59 ± 0.03. The most important conclusions were: cold pre-fermentation maceration extracts a greater quantity of polyphenols, the concentration of sugars and nutrients have a positive effect on the extractability of polyphenols.

Keywords: Pre-fermentation maceration, capulí (*Prunus serotina*), fermented drink, fermentation maceration.

INTRODUCCIÓN

Las bebidas con alcohol (segmento compuesto por cervezas, vino, bebidas fermentadas, bebidas espirituosas) muestran dos grandes tendencias: conveniencia y salud, innovación y surgimiento de productos Premium, que están estimulando el consumo. (Sánchez, 2018). Debido a ello la producción e investigación se centra en desarrollar nuevos productos que beneficien al consumidor con materias primas y procedimientos que aumenten la actividad antioxidante. La investigación que se presenta estudió la obtención y caracterización de una bebida fermentada con el objetivo de desarrollar un nuevo producto a partir del capulí (*Prunus serotina*) con la finalidad de revalorizar este fruto andino "que está siendo olvidado y amenazado por las costumbres que lo emplean para yunzas" (Municipio de Huari, 2013)." "Hay preocupación de la población huaracina y de otras localidades de Áncash**,** que esta tradición contribuya a la disminución de la población de este árbol. Es posible que esta tradición no sea del todo causante de esta merma. Tanto la expansión urbana y la ampliación de los cultivos en el área rural, podrían tener más efecto en la reducción de la población de esta valiosa especie. (Carrillo, 2020, p.1)

Hurtado y Pérez (2014), demostraron que tanto el capulí fresco como la bebida fermentada de capulí contienen un alto contenido de compuestos polifenólicos, taninos y flavonoides que le confieren poder antioxidante. Encina (2010) informó que las frutas nativas entre ellas el capulí contienen vitaminas, azucares, pectinas, ácidos, aromas y sabores que pueden ser aprovechados por la industria alimentaria para fabricar alimentos y bebidas innovadoras. El tomar bebidas fermentadas de frutas y cereales tiene efectos preventivos sobre patologías degenerativas como el cáncer, alzhéimer y enfermedades cardiovasculares siendo recomendable el consumo moderado de 30 g/ día hombres sanos y 20 g/ día en las mujeres. (Cátedra Extraordinaria de Bebidas 2013). Jiménez (2019) indicó que la fermentación enriquece el perfil fitoquímico de las materias primas de origen natural y preserva sus propiedades antioxidantes e inflamatorias.

El problema fue: ¿Cuáles serán los parámetros óptimos para la obtención y caracterización de una bebida fermentada elaborada con capulí (*Prunus*

serótina) con maceración prefermentativa? La hipótesis planteada fue: la dilución 1:2 Pulpa / agua, ºBrix 22 y concentración de 0.3 gr/litro de nutriente presentará mejores características fisicoquímicas, organolépticas y funcionales en la bebida fermentada elaborada con capulí con maceración fermentativa.

La delimitación del estudio se suscribe a las regiones andinas donde existe abundancia de capulí en los meses de noviembre a abril con la perspectiva de incrementar su consumo, reconocimiento de sus propiedades nutraceúticas y la reforestación por sus beneficios ecológicos. Los parámetros óptimos para elaborar la bebida fueron sólidos solubles (ºBrix) 28%, pH 4.7, nutriente (V ACTIV) 250 g/Hl, levadura Saccharomyces cereviciae variedad bayanus 40 g/ por Hl, dilución de la pasta 1:3, con maceración prefermentativa previa a - 8°C por 30 días.

Los objetivos de la investigación fueron:

- Caracterizar fisicoquímicamente y funcionalmente el Capulí *(Prunus serotina).*
- Determinar la influencia de la maceración prefermentativa en frio sobre la extracción de los compuestos polifenólicos y la intensidad colorante del capulí (*Prunus serotina*).
- Evaluar la influencia de la concentración de nutrientes y la concentración de azucares en la maceración fermentativa.
- Determinar el diagrama de flujo artesanal de la bebida fermentada de capulí (*Prunus serotina)*
- Caracterización físico-química-funcional, sensorial y calificación estética de la bebida fermentada de mayor capacidad antioxidante y contenido de polifenoles.

CAPÍTULO I
PROBLEMA DE INVESTIGACION

1.1. Planteamiento y fundamentación del Problema de Investigación.

En la región Ancash zona sierra el fruto del Capulí *(Prunus serotina) está* siendo olvidado ya "que es amenazado por las costumbres que lo emplean para yunsas" (Municipio de Huari, 2013). "Hay preocupación de la población huaracina y de otras localidades de Áncash**,** que esta tradición contribuya a la disminución de la población de este árbol. Aunque es posible que esta tradición no sea del todo causante de esta merma. Tanto la expansión urbana y la ampliación de los cultivos en el área rural, podrían tener más efecto en la reducción de la población de esta valiosa especie. (Carrillo, 2020 p.1).

Vásquez declaró que se encuentran plantas de capulí que crecen sin el cuidado del hombre, salvo escasos proyectos de reforestación impulsados por Agrorural- Ministerio de agricultura y que paradójicamente no es valorizada.

(W. Vásquez, comunicación personal 19 de enero del 2018). Toscano reportó que pese a sus bondades como fruta nutracéutica por los beneficios que aporta a la salud y por la madera por ser resistente y duradera ideal para la fabricación pisos (por su color oscuro brillante resistente a la humedad), ideal para la fabricación de instrumentos musicales (charango) y por qué es melífera (su néctar agradable hace que las abejas la prefieran para enjambrar) y otros aplicaciones no es valorizada. Subsiste esta planta gracias a la dispersión de las semillas causada principalmente por las aves (zorzal) y la naturaleza amigable con las lluvias, no requiere de agroquímicos sin embargo esta planta nativa de los andes se encuentra en peligro de extinción. (A. Toscano, comunicación personal 04 de diciembre del 2019).

1.2. Antecedentes de la investigación

1.2.1. Trabajos de investigación de Capulí (*Prunus serótina*)

Guijarro (2013), estudió la obtención de una bebida alcohólica macerada con: 1) aceite esencial de las hojas de (Prunus serotina). Con este aceite

preparó soluciones de varias concentraciones con etanol de 96ºgrados alcohólicos, que luego diluyó para obtener licores de 20 y 30º GA. 2) Mediante una extracción sólido líquido de las hojas con etanol, se obtuvo un extracto, cuyo destilado se utilizó para una nueva extracción con las pulpas y semillas. 3) Obtención de un licor mediante extracción sólido-líquido de la pulpa y semillas en etanol. Los productos resultantes de los procesos se los diluyó con jarabe de azúcar en agua destilada, llevando a cabo una prueba sensorial de los licores obtenidos de los tres procesos, siendo el tercer proceso y de 23°GA el de mayor aceptación.

Munive y Vega (2013), analizaron la composición químico proximal de (*Prunus serotina*) encontrando: humedad 70.68 %, proteína 2.37%, fibra 0.09%, grasa 2.83%, ceniza 1.39 % carbohidratos 17.64% en base húmeda , el análisis físico –químico reportó acidez titulable: 0.31% expresado en acido málico , pH a 20ºC : 5.82, º Brix a 20º C : 20.44, antocianinas : 148.00 mg/100 g de muestra y 3.7 mg de ácido ascórbico.

Jiménez, Castillo, Azuara y Beristaín (2011), evaluaron el potencial antioxidante y efecto antimicrobiano del capulí encontrando mayor porcentaje de antocianinas y polifenoles, mayor capacidad antioxidante en el extracto etanólico con respecto a los extractos acetónico, metanólico, resultando también efectivo contra las bacterias Gram (-) Proteus, *Salmonella typhimurium* estafilococcus, *Pseudomona aeruginosa*, E. cole, levaduras. Afirmando que el etanólico es más efectivo como aditivo de alimentos.

Ibarra, Rojas, Luna y Rivero (2009), elaboraron un extracto metanólico de las hojas de capulí (*Prunus serótina*) logrando purificar tres compuestos fenólicos: prunina, ácido ursólico, hiperósido los cuales demostraron tener propiedades antioxidantes y útiles para el tratamiento de la hipertensión.

En el trabajo de **Alveano, Rojas, Omahb y Drover (2011),** se reportó que el aceite de la semilla de (*Prunus serotina*) es único y su importancia radica en que es inhibidor de células cancerosa por su contenido de ácido a-eleostérico, efectivo para suprimir el crecimiento en las células cancerosas, disminuyendo los lípidos séricos, útil para contrarrestar el cáncer de mama.

Arbildo y Campos (2014), determinaron que las hojas del capulí tienen mayor nivel antioxidante (1231,8 mg EAG /g ES ±127,3) frente a la cascara más pulpa (616,7 mg EAG/g ES ± 31,9), concluyendo que las hojas tienen más capacidad antioxidante. Demostraron que la capacidad antioxidante se correlaciona con el contenido de sustancias polifenólicos, a mayor contenido de polifenoles mayor contenido de actividad antioxidante.

Hurtado y Pérez (2014), lograron obtener de la cascara del fruto del capulí dos extractos, Ec extracto crudo y ERAs extracto rico en antocianinas, identificaron dos polifenoles: cianidina -3-O-"6)-O-α-ramnopiranosil)-β-glucopiranósido y la cianidina:-3-O-β-glucopiranósido como las antocianinas mayoritarias de la cáscara del fruto de Capulí. En los extractos Ec y ERas y en el fruto se evaluó el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante (ABTS). Dado sus resultados afirmaron que "El fruto puede ser una potencial fuente de compuestos antioxidantes para su uso en la industria de alimentos, farmacéutica o cosmética "también identificaron sustancias polifenólicas. Se encontró que el pH tiene un efecto importante en la degradación de las antocianinas y dicha degradación se hace menor a valores de pH bajo, dado que las antocianinas son más estables frente a los cambios de pH.

Pacheco *et al.* (2010), lograron la cuantificación de los efectos farmacológicos de la pasta de capulí para la diarrea y la tos. Como resultado se logró conocer que el extracto acuoso de la pasta del capulí tiene sustancias polifenólicas entre ellas el ácido clorogénico que se encuentra en mayor proporción.

Rojas (2017), estudió los flavonoides de la cascara del capulí (*Prunus serótina*) recomendando su incorporación a alimentos como colorantes de alimentos y bebidas dada su alta capacidad antioxidante, indicó que la extracción de antocianinas es más efectiva en soluciones hidro alcohólicas a 20º grados.

Palomares *et al.* (2017), informaron de la actividad cística de extractos de la corteza de capulí contra quistes de Taenia crassiceps, además se realizó el aislamiento e identificación de los principales componentes del extracto más activo. Los resultados mostraron que todos los extractos presentaron

actividad quística in vitro (EC50 = 17.9-88.5 µg / ml), siendo el metanólico el más activo y selectivo. Además, el extracto metanólico mostró una eficacia in vivo de 300 mg/kg que fue similar al obtenido con albendazol. (El albendazol y praziquantel son dos medicamentos utilizados en el tratamiento de la neurocisticercosis); lograron el aislamiento Naringina como el principal compuesto activo. Afirmaron que hacen falta más estudios para explorar el potencial de esta flavanona como agente cisticida.

Santiago, García, Vargas, Arroyo y Herrera (2019), determinaron la capacidad antioxidante del extracto metanólico, acuoso, etanolico, hexanólico del capulí (*Prunus* serótina), determinando el perfil fitoquímico siendo el extracto etanólico más rico en sustancias antioxidantes (flavonoides, quinonas, glucósidos, terpenoides, cumarinas, taninos y alcaloides). El porcentaje más alto de actividad antioxidante fue de 55.71% para el extracto metanólico de capulí, frente a 23.21 % de inhibición del garambullo. Para el Capulí el extracto acuoso presentó el mayor valor de taninos condensables con un resultado de 4522.2 mg GAE/g de muestra, mayor contenido de fenoles totales por lo que su consumo debe ser revalorado. Afirmaron que estas frutas tienen grandes beneficios para la salud como aliviar procesos inflamatorios, cáncer, patologías cardiovasculares.

1.2.2. Compuestos bioactivos en bebidas fermentadas de frutas

Álvarez (2018), realizó el análisis de compuestos bioactivos en bebidas fermentadas y puré de fresa, pudiendo identificar 106 sustancias bioactivas producidas en la maceración alcohólica fermentativa (antocianos y fenoles) producidas por las levaduras, siendo la catequina, el p. cumárico, la epicatequina galato y la glucosa los más abundantes. Afirmaron que la bebida puede almacenarse hasta un mes sin sufrir alteraciones a temperatura normal y hasta dos meses. Temperaturas de 4 a 8 ºC.

Llona (2018), informó de la actividad antioxidante por el método DPPH y FRAP de diferentes combinaciones de zumo de maracuyá y concentrado de maíz morado en las formulaciones de cerveza artesanal, los resultados de la capacidad antioxidante por el método DPPH van desde 1467 ± 7 a

1534±7 µmolET/100ml (concentrado de maíz morado) y 2577±7 a 2599±7 µmolET/100ml para FRAP. Los resultados de polifenoles totales tuvieron 2082 mg GAE/100 ml para las formulaciones de 7/1 de concentrado de maíz morado/ zumo de maracuyá y 1911 mg GAE /100ml para una combinación de 5 /1 respectivamente.

Oro y Urcia (2017), reportaron que la bebida funcional a base de pulpa de aguaymanto 60% y Camu Camu 40% edulcorado con estevia tuvo 472.95mg de vitamina C/100g de muestra y 25817.564umolTE/100 g de muestra (base Humedad).

Escudero (2014), reportó los beneficios del consumo de una bebida fermentada de naranja, indicaron que el zumo de naranja y de cítricos en general contienen compuestos bioactivos con actividad antioxidante, alto contenido de carotenoides, vitamina C y flavonoides adicionado a ello el contenido de alcohol podrían sumar a los beneficios casi iguales a las que aportan el vino y la cerveza , sidra etc., así también reportaron que el zumo de naranja tiene un efecto protector y terapéutico, que contribuye a la defensa del organismo frente a enfermedades crónicas, envejecimiento, enfermedades neurodegenerativas.

Hornedo (2016), indicó que la fresa contiene gran cantidad de sustancias bioactivas, no obstante, se deteriora rápidamente, la fermentación es un proceso que alarga la vida útil, que salvaguarda los principios activos. Identificó compuestos polifenólicos, antocianos, manifestó que la fermentación ayuda a conservar las sustancias activas.

1.2.3. Técnicas de maceración prefermentativa y fermentativas empleadas en la elaboración de bebidas fermentadas de frutas y vinos

Moreno (2013), estudió procedimientos en frio, enzimáticos y con hielo seco buscando extraer más sustancias polifenólicos, evaluando el efecto de estos procedimientos antes y después de la aplicación de los procedimientos diferentes, en su color, en el aspecto sensorial, en comparación con procesos fermentativos habituales. Los resultados indicaron que los tratamientos de frío y enzimáticos tuvieron un efecto positivo sobre la

extracción de compuestos fenólicos y sobre las características cromáticas, aromáticas y sensoriales de los vinos.

Apolinar (2012), indicó que la calidad de un vino está íntimamente relacionada con la calidad de la uva de partida. Recomienda que es necesario conocer la localización de los compuestos fenólicos en las pieles y su extractibilidad: facilidad con que se difundirán los compuestos fenólicos de las pieles al mosto. Aconsejó la utilización de distintas técnicas de vinificación (empleo de enzimas exógenos o la aplicación de tecnología del frío) puede ayudar a degradar las pieles y para favorecer la extractibilidad. Todas las técnicas englobarían la aplicación de enzimas, la congelación del hollejo de la uva, la aplicación de temperaturas frías, el uso de hielo seco previa a la fermentación alcohólica. Estos estudios del efecto de la adición de enzimas y técnicas de frio indican, que el uso de enzimas logra conseguir la degradación de la piel de uva.

Kountoudakis *et al.* (2009), reportaron con respecto a la maceración en frio, utilizando nieve carbónica) y una muestra control, demostraron que se incrementó en 31% el contenido de antocianos (de 257 mg/ a 387mg) y la intensidad colorante se incrementó de 11 a 13 (18%), y el índice de polifenoles totales (IPT) se incrementó de 44 a 67 resultando un incremento del 52%, con respecto a la muestra control. Además, señala que la maceración fermentativa es un procedimiento efectivo para obtener bebidas fermentadas de mayor calidad ya que se consigue mucho más extractibilidad, por lo que se detiene la fermentación y se mejora la extractibilidad de los antocianos dejando de extraer taninos.

Del Carmen, Canals a, Cabanillas, Canals b, y Zamora (2005) estudiaron el efecto de la maceración con hielo seco antes de la fermentación alcohólica sobre la extractibilidad de los compuestos fenólicos de la uva a distintos grados de madurez. Se logró determinar que la concentración de antocianos aumenta, con el nivel de maduración y con el tiempo de maceración.

Sáez (2012), explica que son dos tipos de maceración prefermentativa donde la diferencia radica en la temperatura y son:

- **Maceración prefermentativa en frío.** Que intenta retrasar por algún tiempo la fermentación para tener los hollejos en contacto con el mosto, se utilizan temperaturas bajas 13-14ºC, 4 a 6 días. Se consigue mayor extractibilidad aromas, antocianas, taninos y polisacáridos. La maceración a temperaturas bajas mejora la extractibilidad.
- **Crio maceración**. Se procede congelando las uvas con hielo seco se rompen las células y se mejora mucho más la extractibilidad, los resultados son mejores organolépticamente, además de su aumento de la capacidad antioxidante, baja ligeramente la acidez y su procedimiento consiste bajar la temperatura bajo cero por tres o más días

Casassa (2015), evaluó el efecto de tres tratamientos de maceración prefermentativa:1 la maceración prefermentativa en frio (6 ºC y 7 días), 2 maceración clásica (sin maceración prefermentativa con temperatura de 30 ºC , y un testigo con maceración clásica de mostos de uva merlot que tuvieron 23 ºBrix , acidez total de 7.5 g/l de ácido tartárico, pH 3.2, los dos últimos se inocularon con levadura vínica, y se procedió a la maceración fermentativa a 30ºC por 16 días, para la muestra con MPF después de 7 días se inoculo con la misma levadura y tuvo una maceración fermentativa de 16 días, después de los cuales se llevó a los tres tratamientos a una maceración posfermentativa en caliente a 40ºC y 12 horas, los resultados fueron: para el tratamiento de maceración prefermentativa en frio 13.91 de grado alcohólico, 6.39 g/l de ácido tartárico, 0.63g/l de ácido acético , pH 3.28 , índice de polifenoles 49.80 e intensidad colorante 2.28 , para la maceración prefermentativa en caliente 13.33, 6.23, 0.59,3.34, 45, 1.83, para la maceración clásica 13.67, 5.78, 0.63,3.38, 43.40, 1.23 respectivamente. Se concluyo que la maceración clásica tuvo los valores más bajos de intensidad colorante 53%menos referido a la maceración prefermentativa en frio e índice de polifenoles totales y que la maceración prefermentativa en frio tuvo los más altos valores de IC e IPT y mayor tiempo de duración de la maceración fermentativa y que la maceración

posfermentativa en caliente consigue una mayor extracción de polifenoles, con la MPC y MPF se mejoró la extracción de polifenoles y se potenció el perfil aromático de las uvas.

Falcón, Toscano y Rosales (2016), informaron de un trabajo de investigación experimental- correlacional en la cual se elaboró una bebida fermentada de aguaymanto utilizando bajas temperaturas para proteger de la destrucción por calor la vitamina C, carotenoides, capacidad antioxidante. Las bebidas se elaboraron siguiendo el método de vinificación en tinto resultando tres tratamientos T_0 sin maceración pre fermentativa. T_1 con maceración pre fermentativa -8ºC y 30 días. T_2 con maceración prefermentativa de 60 días y -8º C. Los resultados indicaron que la relación del tiempo de la maceración pre fermentativa sobre: la vitamina C: T0 > T1, > T2, carotenoides T2 > T1 > T0. Capacidad antioxidante T2> T1 > T0.

Falcón, Reeves y Mejía (2013), elaboraron una bebida fermentada de aguaymanto en la que utilizaron técnicas de maceración por congelación y temperaturas frías a 6°C y a - 2°C por dos semanas, logrando demostrar que la maceración antes de la fermentación a temperaturas de congelación son mucho más efectivas que las temperaturas de refrigeración.

Picardo y Gonzáles (2013), estudiaron la maceración en caliente a 60-65ºC por seis horas y maceración en frio por 5 días a temperaturas de 5 ºC y una tradicional a temperatura ambiente, sus resultados indicaron que la extracción de fenoles fue mayor a temperaturas de 60ºC- 65ºC.

1.2.4. Capacidad antioxidante, contenido polifenólicos en vinos

Muños, Fernández, Ramos y Alvarado (2007), indicaron que:

Estudiaron 13 tipos de vinos producidos en Perú.

El contenido de compuestos fenólicos se estimó usando el método Folin-Ciocalteau, los valores hallados van de 627 a 3321 mg GAE/L. La actividad antioxidante se realizó usando dos métodos: DPPH y ABTS, los valores estuvieron entre 32 a 873 µMTrolox para DPPH y por el método ABTS los resultados se expresaron en TEAC (capacidad antioxidante trolox equivalente) obteniéndose valores entre 2,4 a 17,6 µMTrolox. Los compuestos fenólicos se cuantificaron por HPLC encontrándose ácido

clorogénico, cafeico, ferúlico, rutina, quercetina y kaemferol, estas sustancias de carácter antioxidante aportan beneficios para los consumidores e incrementarían la demanda de estos vinos. (p.1).

Salazar, Espinoza, Ruiz, Fernández y Rojas (2011), reportaron una investigación que permitió conocer las propiedades fisicoquímicas, actividad antioxidante, componentes del aroma y contenido de resveratrol y quercetina de 8 vinos peruanos. Se encontró que las densidades relativas de los vinos están dentro del rango de 0,9916 a 1,0174 g/ml, mientras que los valores de pH varían de 3,18 a 3,97, informaron la concentración de fenoles totales (2374,25 a 3610,43 mgGAE/L), flavonoides totales (1869,19 a 3138,85 mg/L) y antocianinas totales (102,64 a 317,50 mg/L). Se detectó trans-resveratrol en 6 de los 8 vinos examinados. El vino Tabernero contiene la mayor concentración de trans resveratrol (0,56 ± 0,03 µg/ml) y, además, es el que presenta la mejor actividad antioxidante en el test de DPPH.

Gutiérrez (2017), evaluó la capacidad antioxidante y contenido polifenólico en vinos tintos macerados con adición de semillas de uva, realizo dos tratamientos (ensayo corto con adición de 12 gramos de semillas por litro de vino, ensayo largo con adición de 12 gramos/litro en dos momentos durante la maceración posfermentativa y un testigo sin adición de semillas El testigo alcanzó 1019 mg/l y el vino con maceración corta de semillas 1725 mg/l (ensayo corto) de contenido polifenólico y 2000 mg/l para el ensayo largo, demostró que la capacidad antioxidante fue significativamente más elevada en los vinos del ensayo largo con respecto a los vinos del ensayo Corto y Testigo (1893, 1181 y 867 µmolesTE/L respectivamente).

1.3. Formulación del problema de investigación

¿Cuáles serán los parámetros para la obtención y caracterización de una bebida fermentada elaborada con capulí (Prunus serótina) con maceración prefermentativa?

1.4. Delimitación del estudio

Se definió tomando en cuenta las zonas en las cuales se produce el fruto del Capulí (*Prunus serotina*) en la zona sierra del departamento de Ancash que involucra las provincias de la zona de Conchucos (Asunción, Antonio Raymondi, Carlos Fermin Fitzcarral, Huari, Mariscal Luzuriaga, Pomabamba, Sihuas y Yungay (distrito de Yanama) (Portal Regional Agrario-Región Ancash 2015) y las provincias de Huaylas, Yungay, Carhuaz, Huaraz, Ayja, Recuay, Bologñesi y Ocros. (Gobierno regional de Ancash, 2014) donde crece el capulí en forma abundante en los meses de noviembre a abril y que no es valorado por el poblador andino por desconocimiento de sus propiedades nutraceúticas de su fruto, corteza, hojas, semillas y efecto restaurador, remediación además otros beneficios. Es más, se podría generalizar a la sierra del país y América (Munive y Vega 2013 p.16) donde las condiciones climáticas y la altura de 2200 hasta 3500 que favorecerían el crecimiento del capulí (Carrillo, 2020).

1.5 Justificación e importancia de la investigación

Con el aprovechamiento del fruto del Capulí *(Prunos serotina)* se revalorizará las frutas nativas presentes en el departamento de Ancash lo cual representaría un gran beneficio para el poblador rural , pues las frutas nativas contienen vitaminas, azúcares, materias gelificantes (pectinas), materias antioxidantes, ácidos, aromas y sabores que pueden ser aprovechados por la industria alimentaria para fabricar alimentos y bebidas innovadoras que tengan aceptación en los mercados (Encina, 2010). Así también algunos de estos componentes exhiben un “comportamiento químico o físico típico de un compuesto o sustancia que influye en su funcionalidad” **(Tesauro, 2013).**

Luna *et al.* (2013), citados por Ocaña y Tadeo (2018), indicaron que el capulí se ha considerado un alimento funcional altamente efectivo para las inflamaciones respiratorias, hipertensión diarrea, fiebre, prevención y tratamiento de enfermedades cardiovasculares etc.

Urcuanjo (2014), manifestó que el gran poder antioxidante del capulí se debe al contenido de taninos que tienen características antioxidantes

efectivo contra bacterias y gran capacidad para remover los radicales libres.

Pantoja (2012), indicó que el capulí es muy útil para la reforestación y los suelos degradados, recomendó sensibilizar a las poblaciones para que, si cortan un árbol de capulí para los carnavales, se siembre otros para garantizar el futuro ambiental.

1.6 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN.

GENERAL.

Obtención y caracterización de una bebida fermentada elaborada con capulí (*Prunus serotina)* con maceración prefermentativa.

ESPECÍFICOS.

1. Caracterización fisicoquímica, proximal y funcional del Capulí *(Prunus serotina).*
2. Determinar la influencia de la maceración prefermentativa en frio (30 días -8ºC) sobre la extracción de los compuestos polifenólicos y la intensidad colorante del capulí (*Prunus serotina*).
3. Evaluar la influencia de la concentración de nutrientes y la concentración de azucares en la maceración fermentativa.
4. Determinar el diagrama de flujo de la elaboración de la bebida fermentada.
5. Caracterización físico-química-funcional, sensorial y calificación estética de la bebida fermentada de mayor capacidad antioxidante y contenido de polifenoles.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Fundamentos teóricos de la investigación.

DSPACE.UNIVERSIA. NET (2016), reportó que “El fundamento teórico de una investigación o proyecto es una explicación basada en ideas que están relacionadas con un tema en particular. Es una revisión crítica de los elementos teóricos que sirven de marco de referencia en una investigación”.

El fundamento teórico involucra la presentación organizada de las fuentes bibliográficas, libros de autores diferentes, internet, periódicos revistos entrevistas y de otras fuentes donde la investigación se apoya. Cada instrumento utilizado debe aportar información y se debe estudiar exhaustivamente para decidir su empleabilidad (Guedes, 2016)

2.2. Marco conceptual

2.2.1. Generalidades del capulí (*Prunus serotina*)

Guijarro (2013), indicó que el “Capulí proviene del nahua *capolli á*rbol de América, de la familia de las Rosáceas, con una altura quince metros da un fruto oscuro de gusto y olor agradables. Llamado también cereza negra, no es un producto andino nativo ya que, capulí (la pronunciación *Ka-poo-lee*) es una palabra azteca y que los españoles habrían introducido el árbol en México o Centroamérica en los tiempos Coloniales” (p.5)

Guzmán, Segura y Alamaguer (2020), indicaron que:

El capulí (*Prunus serotina*) es un árbol nativo de Norteamérica y casi todas sus partes tienen algún uso potencial. Esta especie conforma un complejo botánico de cinco subespecies morfológicamente distintas que crecen en hábitats diversos. La hoja, flor, corteza, fruto por sus propiedades bioquímicas y la madera por su calidad pueden usarse para promover, coordinar, apoyar y realizar actividades con fines de conservación y aprovechamiento sustentable que beneficien a las comunidades que habitan sus zonas de distribución natural y debe impulsarse el aprovechamiento forestal y maderero de esta especie nativa y su utilidad para evaluar y mitigar los efectos del cambio.

Carrillo (2020), indicó que el capulí se encuentra en toda la sierra andina del Perú, entre los 1500 hasta los 4200 msnm. Florece entre abril y julio, dando frutos entre diciembre y abril. Indicó que es un árbol caducifolio de 5 a 15 metros de altura y de 20 a 50 centímetros de diámetro, follaje denso, hojas simples alternas, ovaladas, corteza liza, flores pequeñas y blancas. El fruto es una drupa redonda y una sola semilla esférica rodeada de hueso leñoso.

La clasificación Taxonómica se muestra en el cuadro 1

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del capulí (*Prunus serótina*)

Jerarquía	Descripción
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae
Subfamilia	Prunuideae
Género	Prunus
Subgénero	Padus
Especie	Prunus serotina
Nombre Científico	*Prunus serotina ssp capulí*
Sinonimia de la especie	*Prunus capuli* Cav
Prunus salicifolia Kunth	
Prunus serotina Sal.	
Prunus capulli	
Cerasus capollin DC.	

Fuente: CONABIO (2012) citado por Urcuanjo (2014)

2.2.2. Composición Nutricional –análisis fisicoquímico y proximal

Guijarro (2013), afirmó que la importancia de este fruto radica en su valor alimenticio ya que contiene calcio, hierro, aminoácidos, ácido ascórbico. El análisis bromatológico según el mismo autor se presenta a continuación.

Cuadro 2. Análisis bromatológico del capulí (en 100g de pasta)

Alimento	Prunus serotina
Valor energético (Kcal)	81
Humedad (g)	77
Proteína (g)	1.3
Grasa (g)	0.2
Hidratos de Carbono (g)	20.7
Fibra (g)	0,6
Ceniza (0.6)	0,6
Calcio (mg)	24
Fosforo (mg)	24
Hierro (mg)	0.8
Vitamina A (mg)	45
Riboflavina (mg)	0.04
Tiamina (mg)	0.04
Niacina (mg)	1.1
Ácido ascórbico (mg)	18

Fuente: Gavilánez 1990 citado por Guijarro (2013 p. 5)

Urcuanjo (2014), presenta la composición nutricional en el cuadro 3

Cuadro 3. Composición Nutricional del capulí (en 100 g de pasta)

Nutrientes	Cantidad
Energía (kcal)	84
Proteína (g)	1.30
Grasa Total (g)	0.20
Colesterol (mg)	-
Glúcidos	21.70
Fibra (g)	1
Calcio (mg)	28
Hierro (mg)	1.20
Yodo (µg)	-
Vitamina A (mg)	15
Vitamina C (mg)	26
Vitamina D (µg)	-
Vitamina E (mg)	0
Vitam. B12 (µg)	-
Folato (µg)	0

Fuente: FUNIBER (2012) citado por Urcuanjo (2014 p.7)

Respecto a la composición nutricional del capulí (*Prunus serotina*) **Melo *et al.* (2013 p.15), r**eportaron el siguiente análisis en base seca: proteína 8.86 (g), Lípidos 9.7 (g), Fibra 0, Extracto libre de nitrógeno (E.L.N.) 75.54 (g), Humedad 76.30 g. Los resultados arrojados demostraron que la

pulpa del capulí posee una elevada concentración de carbohidratos (E.L.N.), indispensable fuente de energía para el ser humano; sin embargo, la presencia de proteínas y lípidos es mínima. “Gil (2010), señaló que, para la dieta recomendada para la población, la ingesta de estos tres macronutrientes debe contener un balance que va de un aporte no superior al 60% de carbohidratos, lípidos de entre 20 y 30% y proteínas para adultos de 1.2 g/kg de peso.

Chisaguano (2012, p. 24), menciona que la importancia de este fruto es su valor alimenticio, debido a su contenido de calcio, hierro, aminoácidos, ácido ascórbico. Tradicionalmente ha constituido parte de la dieta diaria del habitante de varias provincias de la sierra ecuatoriana, peruana y comunidades que lo tienen como alimento básico y hasta hoy lo consumen.

2.2.2. Composición químico proximal

En el cuadro 4 se presenta la composición químico proximal del Capulí

Cuadro 4. Composición Químico proximal del Capulí (100 g de pasta)

Componente	Cantidad Villarroel (2008)	Cantidad Munive y Vega (2013)
Humedad (g)	73.62	70.68
Ceniza (g)	2.48	2.37
Proteína (g)	5.58	1.39
Grasa (g)	2.31	2.38
Fibra (g)	1.77	5.09
Carbohidratos (g)	14.24	17.64

Fuente: Munive y Vega (2013) y Villarroel (2008) citado por Munive y Vega (2013 p. 14)

Composición fisicoquímica del capulí (*Prunus serotina*)

En el cuadro 5 se presenta la composición físico química y funcional del capulí, se observa que Munive y Vega reportan antocianos y vitamina C, Villarroel no.

Cuadro 5. Composición fisicoquímica y funcional del Capulí (*Prunus serotina*)

Componentes	Cantidades Villarroel (2008)	Cantidades Munive y Vega 2013
Índice de madurez	62.53	65.94
pH a 20°C	5.02	5.82
ºBrix a 20°C	26.00	20.44
Acidez titulable	0.42	0.31
Antocianos	No reportado	148 mg/100g de muestra
Vitamina C	No reportado	3.7mg de ácido ascórbico

Fuente: Villarroel, (2008). Citado por Munive y Vega (2013 p.16) y Munive y Vega 2013 p. 68)

2.2.3. Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante del Capulí.

Pacheco *et al.*, (2010) reportaron un contenido de fenoles totales de 12.6 ± 0.85 mg equivalentes de ácido gálico / gramo de muestra de extracto acuoso de Capulí liofilizado y un contenido de flavonoles totales de 8.2 ± 0.4 mg equivalentes de epicantina /g de muestra de extracto liofilizado, afirmaron que el contenido de estos compuestos son similares a los encontrados en la uva roja 12.0 mg de ácido gálico/g de muestra seca y de la fresa 12.3 mg de ácido gálico /g de muestra, así también dijo que el constituyente más abundante es el ácido clorogénico como el constituyente fenólico más abundante 0.55mg/ g de muestra de extracto liofilizado.

Como referencia a fin de comparar la capacidad antioxidante de la pasta capulí medido por el Método DPPH que se ha realizado en la presente investigación y la capacidad antioxidante medida por el método del DPPH de frutas congeladas: mora, uva, acai guayaba fresa mango y acerola que se comercializan en Brasil, kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini y Feett (2005) encontraron 82.6±2.6,105.9±0.4, 108.5±2.2, 100.7±2.2, 132,8±0.3, 174.3±0.5 959.01±19 umolEtrolox/100g de muestra. Finalmente demostraron que existe correlación entre la capacidad antioxidante contenido de polifenoles y antocianos.

En el cuadro 6 se presenta el contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante del capulí (Prunus serotina) y otras frutas según Hurtado y Pérez

(2014), por el método (ABTS) y Vasco *et al*. (2008) citado por Hurtado y Pérez (2014).

Cuadro 6. Análisis de fenoles totales y capacidad antioxidante de la cascara y pulpa del fruto del capulí comparado con otras frutas

Análisis	Resultados
% de cascara en 100 g de fruto	17.5 % [2]
Fenoles totales (100g de pulpa). Método Folin C.	
Guayaba	83.0 ± 0.1 mg GAE[1]
Fresa	132.1 ± 3.8 mg GAE[1]
Uva	117.1 ± 0.6 mg GAE[1]
Acai	136.8 ± 0.4 mg GAE[1]
Capulí	242 mg GAE[2]
Fenoles en 100 g cascara de capulí	
100 g cascara EC	1382.5 ± 165 mg GAE[2]
100 g de cascara ERAs	8099.4 ± 81 mg GAE, [2]
100 g cascara EC	1494 mg GAE[3]
Capacidad Antioxidante (Método ABTS)	
1g cascara EC	100.5 ± 4.3 µmol Trolox [2]
1g cascara ERAs	494.3 ± 24,6 µmol Trolox[2]
1g fruto capulí	17.6 µmol Trolox [2]
1 g fruto mora	7.10 ± 0.22 µmol Trolox[1]
1 g guayaba	8.23 ± 0.40 µmolTrolox[1]
1 g uva	9.21 ± 0.20 µmolTrolox[1]

[1] Kuskoski *et al*. (2005) citado por Hurtado y Pérez, (2014).

[2] Hurtado y Pérez (2014).

[3] Vasco *et al*. 2008 citado por Hurtado y Pérez (2014).

2.2.4. Análisis fisicoquímicos y funcionales de frutas

A modo de comparación con el análisis fisicoquímico de la pasta de capulí que fue realizado en esta investigación se presenta los análisis fisicoquímicos de otras frutas investigadas (Oro y Urcia, 2017, p.47): para el caso de

aguaymanto señalaron: ºBrix 15.3, pH 3.63, Acidez 1.44%, humedad 83.5%, cenizas 0.1 g, vitamina C 42.97/100g.

Para el Camu Camu: ºBrix 5.35, pH 2.71, acidez 2.72, cenizas 0.3 g, vitamina C 2498.24mg/100g de muestra.

2.2.5. Usos del capulí

Los usos que presenta:

"La bebida del cocimiento de sus hojas es diurética y expectorante, además las ramas pequeñas y los peciolos junto con las hojas, se utilizan también para calmar los cólicos y molestias del reumatismo, (Bartholomaus, *et al*. (2000) citado por Urcuanjo (2014).

Ibarra *et al.* (2009) señala los siguientes usos del capulí:

Combustible [madera]. Leña y carbón. Construcción [madera]. Construcción rural.

Comestible (fruta, dulces) [fruto]. Fruto muy apreciado como complemento alimenticio por su agradable sabor. Se come crudo o en conserva (jalea o mermelada) y bebidas frescas. En los mercados suelen venderse tamales de capulí. Estimulante [fruto]. Elaboración de bebidas embriagantes con el fruto fermentado.

Industrializable [semilla]. La semilla contiene 30 a 40 % de aceite semisecante apropiado para la fabricación de jabones y pinturas.

Maderable [madera]. Decoración de interiores, postes, carpintería en general, ebanistería. La madera tiene un color rojizo brillante; es fácil de labrarse y adquiere un bello pulimento.

Medicinal [corteza, hoja, fruto]. Corteza, hojas (en infusión): se usa como expectorante, estimulante, febrífugo, antiespasmódico, tónico, sedante y para combatir las diarreas. El polvo de la corteza "aplicado en los ojos desvanece las nubes, aclara la vista y cura las inflamaciones. El fruto en jarabe se usa contra la tos. Los extractos, infusiones y jarabes preparados con las ramas, corteza y raíces, se usan como tónicos y sedantes en el tratamiento de la tisis pulmonar y en la debilidad nerviosa (p.170)

Faria *et al*. (2005) citado por Rojas (2017, p. 22) mencionaron que es "imprescindible encontrar nuevas formas de aprovechar el fruto de capulí. En los mercados se venden macerados , compotas y otros que no tienen buena calidad sensorial, por ello recomienda dado el alto contenido de fitonutrientes y antocianos su utilización para la obtención de colorantes naturales y extracción de compuestos bioactivos, por su perfil fitoquímico posee altas concentraciones de antocianos y antioxidantes, que pueden ser extraídos y aplicarse en productos elaborados por la industria alimentaria y farmacéutica con efectos beneficiosos en la salud.

Efecto restaurador

"Esta planta se ha empleado para rehabilitar sitios donde hubo explotación minera. Es usado para reforestar suelos sódicos, reduciendo el pH de 9.5 a 7.9, aumentando la capacidad de retención de agua" (CONABIO, 2012).

2.2.6. Compuestos funcionales de las frutas nativas

Los compuestos funcionales son muchos y tienen una estructura variada previenen la acción del oxígeno, contrarrestan el daño celular causado por especies reactivas de oxígeno (EROS) como los radicales libres y los compuestos fuertemente oxidantes como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y los hidroperóxidos de lípidos (ROOH). Estas son moléculas inestables que se forman en el cuerpo cuando las células usan oxígeno cuya formación se evidencia ejemplo al fumar y/o la exposición a la radiación ultravioleta, a la contaminación y a otros factores de estrés biológico y medioambiental. **(Prior y Cao (2015) citado por Pelayo (2018).** A continuación, se describen los compuestos funcionales de frutas.

Vitaminas carotenoides fitoesteroles

Las frutas y hortalizas tienen muchas vitaminas (C, E, B) antioxidantes, los carotenoides beta caroteno (provitamina A) y licopeno, compuestos fenólicos y fitosteroles. Todas las frutas y hortalizas frescas son fuente de vitamina C, ejemplo la guayaba (*Psidium guajava* L.) 100 mg/100g de pulpa, algunos tipos pueden contener hasta 700 mg/100 g, el arándano (*Vaccinium*

macrocarpon) 1,500 mg/100 g. Así también refiere que la vitamina E se encuentra presente en numerosos aceites de origen vegetal, incluyendo los de leguminosas como la soya. La vitamina E es muy antioxidante, previene algunos tipos de cáncer y enfermedades del corazón. **(Prior and Cao (2015), citado por Pelayo (2018).**

Los compuestos fenólicos en las frutas

Son muchos y muy variados entre ellos el ácido elágico, de gran potencia antioxidante, presente en las fresas, los taninos y los flavonoides o bioflavonoides, presentes en frutas y hortalizas. Se les reconoce un beneficio en la prevención de enfermedades coronarias, acción anti-inflamatoria y capacidad para reducir la agregación de plaquetas en sangre (Encina, 2010).

Wargovich (2012) citado por Urcuanjo (2014), menciona que las catequinas y compuestos relacionados del té verde (*Camellia sinensis* L.) y frutos rojos son muy potentes antioxidantes, anticancerosos.

Los bioflavonoides constituyen más de 4000 que incluyen antocianinas, flavonas, isoflavonas y flavonoles, poseen actividades antialérgicas, antiinflamatorias y antivirales. Las antocianinas son pigmentos solubles en agua presentes en frutas y hortalizas se ha constatado la inhibición de la oxidación *in vitro* de las lipoproteínas de baja densidad, protegen de la arteriosclerosis.

Según Murillo (2005) citado por Encina (2010), reportó que las vitaminas, minerales y enzimas protegen el cuerpo humano de la formación de los radicales libres. Las enzimas son la superóxido dismutasa, metionina reductasa, catalasa y glutatión peroxidasa. Son generadas en el cuerpo, también pueden ser suplementadas en la alimentación.

Gutiérrez, Ledesma, García y Grajales (2007), indicaron que existen alimentos que contienen una gran variedad de Fito nutrimentos, como las vitaminas C y E y los carotenoides y otros compuestos como los flavonoides (incluyendo flavonas, isoflavonas, flavononas, antocianinas y catequinas en

conjunto denominados compuestos polifenólicos) y que contribuyen significativamente a la capacidad antioxidante total.

En el cuadro 7 se muestra la capacidad antioxidante total expresada en milimoles de equivalentes de Trolox/g de alimento de algunas frutas

Cuadro 7. Capacidad antioxidante de algunas frutas.

Frutas	**Capacidad antioxidante total (milimET/ g de alimento.**
Guayaba	28.5± 0.25
Manzana	27.1± 0.32
Papaya	25.2± 0.21
Naranja	20.1±20.1
Plátano	8.2 0±13
Limón	6.7± 0.15

Fuente. Gutiérrez *et al.* (2007).

Garay (2019), realizó la caracterización de los compuestos bioactivos del sauco (Sambucus peruviana HBK), en estado maduro deshidratado al 50% determinando 133.433 µmoTE/g m.s., 3326.483 mg GAE/100 g m.s., 6.08 Cyd-3-glc/g m.s. Refirió que a mayor estado de madurez mayor cantidad de compuestos bioactivos**.**

Repo y Encina (2008), reportaron las características físico-químicas, nutricionales, proximales y funcionales de frutas nativas: tomate de árbol, tuna, aguaymanto y papaya del monte. Demostraron que, dadas sus características, se puede considerar estas frutas como alimentos nutracéuticos, el contenido más alto en fibra fue del tomate de árbol 4,5 g/100 g de fruta. Escasa proteína, siendo el aguaymanto y el tomate de árbol los que tuvieron más proteína, grasa mínima. Todas las frutas tuvieron gran contenido de minerales fosforo, Zinc potasio, hierro, calcio. El orden en cuanto a la capacidad antioxidante fue la papaya del monte, tomate de árbol, aguaymanto, tuna. Los valores oscilaron entre 2141±71 a 651± 40 g equivalente trolox/g de fruto por el método ABTS. Por el método DPPH el orden fue papaya del monte, tomate de árbol, aguaymanto, tuna roja, varían entre 1936± 228 g equivalente trolox/g de fruto a 482 ± 35 g equivalente trolox/g de fruto.

2.2.7. Bebidas fermentadas y salud

Vinetur (2013), reportó que las “bebidas fermentadas tienen su origen en las culturas clásicas mediterráneas. Muchos expertos afirman que nacieron al mismo tiempo que la agricultura, probablemente por fermentación espontánea y casual de granos húmedos (cebada, trigo, uvas, dátiles)”.

Cátedra extraordinaria de bebidas fermentadas (2013), reportó que las bebidas fermentadas se elaboran de frutos, cereales, bayas algunos tubérculos; son de bajo contenido alcohólico que proviene de la fermentación, presentan micronutrientes (vitaminas: B6, B12, niacina, antioxidantes, fibra y minerales: magnesio, selenio, zinc, hierro, silicio que no se alteran durante la fermentación) proveen energía, no tienen de grasa, algunas como la cerveza tienen ácido fólico.

Jiménez (2019), indicó que los procesos de fermentación son esenciales para la calidad y seguridad de alimentos y bebidas, contienen bacterias que favorecen el crecimiento de una microbiota que beneficia a la salud, las levaduras juegan un papel clave, la fermentación enriquece el perfil fitoquímico de las materias primas de origen natural y mantiene sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias.

Ronald y Ellison (1992) citados por Mayen (2006), presentaron:

Una hipótesis acerca del efecto beneficioso atribuido al consumo de vino se ha asignado tanto al aporte moderado de alcohol (el alcohol eleva el contenido en HDL, lipoproteínas de alta densidad, llamada comúnmente colesterol "bueno"), como a los polifenoles, compuestos presentes en el vino, cuya estructura química los hace ser potentes antioxidantes, poseen anillos aromáticos con sustituyentes hidroxilos, lo que les permite actuar como donantes de hidrógeno o electrones y atrapan radicales libres, deteniendo el proceso oxidativo, protegiendo con ello la estructura de los ácidos nucleicos, de las proteínas y de los lípidos, evitando así, entre otras reacciones, la oxidación de las LDL que generan la arterioesclerosis (LDL, lipoproteína de baja densidad, llamada comúnmente colesterol "malo"). Estudios in vitro demuestran que muchos polifenoles naturales son mejores antioxidantes que las vitaminas E y C.

Mayen (2006), dijo: “Los principales constituyentes fenólicos del vino con capacidad antioxidante son: los derivados de ácidos fenólicos (como el á. gálico), ácidos cinámicos (como el ácido cafeíco) y tirosina (tirosol); los estíbenos (como el resveratrol), los flavonoles (rutina y quercetina) y los antocianos y taninos”.

Consumo moderado de bebidas fermentadas

El consumo moderado de bebidas fermentadas por adultos sanos (máximo de 30 g/día hombres y 20 g/día mujeres) puede ser saludable por su baja graduación y las materias primas con las que están elaboradas (Cátedra extraordinaria de bebidas fermentadas, 2013).

2.2.8. La maceración prefermentativa, fermentativa y posfermentativa en bebidas fermentadas de frutas y vinos

Definición de la maceración. Macías (2018), indicó que la “maceración es la acción de poner los alimentos sólidos en un medio líquido con el fin de extraer los componentes que hay en el interior” consistiendo esta operación en sumergir el alimento durante un tiempo en un líquido que puede ser agua, vino, aceite, vinagre, licor o un solvente a diversas temperaturas ambiente, congelación, refrigeración o ultra congelación.

Tipos de maceración.

Macías (2018), señaló que existen tres tipos: maceración prefermentativa, fermentativa, posfermentativa, constituyen operaciones que se deben llevar a cabo para elaborar una bebida fermentada de calidad.

Requena (2015), indicó que la trasformación que da lugar a la bebida fermentada es muy compleja y la fermentativa es la etapa más importante, divide a este proceso en tres etapas:

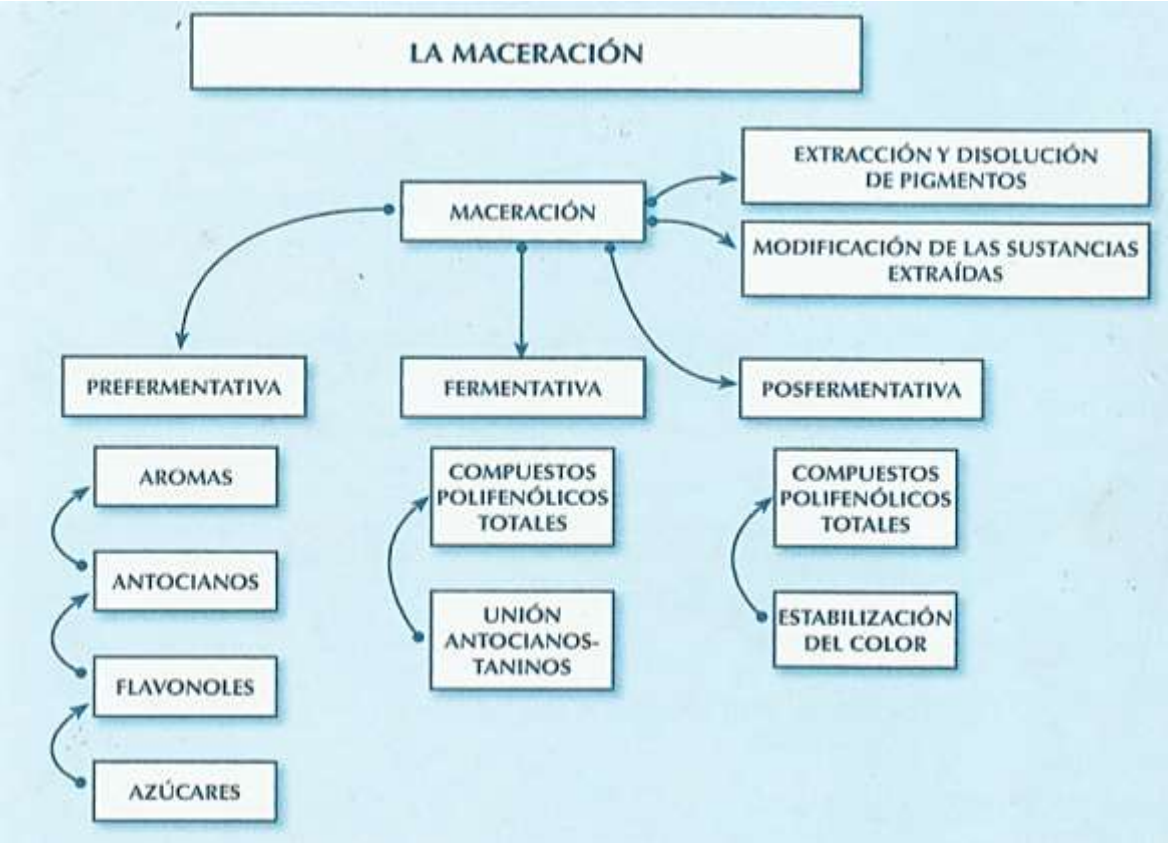
Prefermentación: es el conjunto de operaciones anteriores a la fermentación.

Fermentación: es la etapa de trasformación de carbohidratos fermentecibles a alcohol.

Posfermentación: que es el conjunto final de las operaciones.

Añadió que el control de estas permite vinos, bebidas fermentadas de calidad.

En la gráfica 1 se presenta el mapa conceptual de la maceración prefermentativa, fermentativa y posfermentativa.



Gráfica 1. Mapa conceptual de la maceración prefermentativa, fermentativa y posfermentativa.

Fuente: Macías (2018). p. 70.

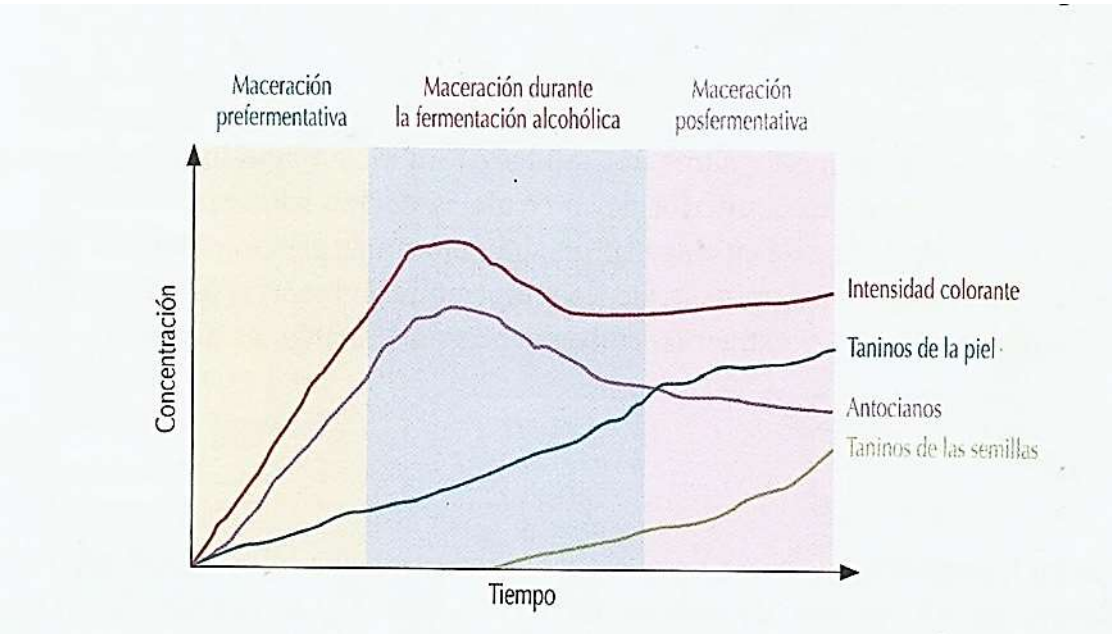
Principios de la maceración prefermentativa

Macías (2018), reportó que la maceración prefermentativa tiene lugar cuando se pone en contacto el mosto estrujado con los hollejos, pepitas y demás partes sólidas de las frutas, uva dando como resultado:

1) La extracción y disolución de los pigmentos (color), por la que se extraen los pigmentos de la piel, la concentración de los pigmentos depende de la madurez fenólica, de la variedad, el grado de hidrólisis depende del estado de madurez del fruto, también señala que el uso de enzimas, el estrujado, la adición de sulfito, la formación de alcohol inciden en la estructura de la piel favoreciendo la extractibilidad.
2) Modificación de las sustancias extraídas: en la prefermentación cuando aún no hay producción de alcohol son los antocianos los que se liberan por ser

hidrosolubles luego los taninos, cuando se incrementa el alcohol se produce la reacción antocianos- taninos que es más estable.

En la gráfica 2 se presenta la cinética de la extracción de compuestos fenólicos en la etapa prefermentativa, fermentativa y posfermentativa.



Gráfica 2. Mecanismo de la extracción de los compuestos fenólicos. Fuente. Zamora (2003) citado por Macías 2018.p.72.

Requena (2015), señaló que el objetivo de la pre fermentación es "adecuar la materia prima y convertirla en mosto" tratando de evitar trasformaciones indeseables como la contaminación y trasformaciones bioquímicas, estas operaciones indicaron son: cosecha, trasporte, estrujado, desporronado, despalillado, prensado o no prensado según el tipo de vinificación, encubado, sulfitado, corrección del mosto.

Etapa de maceración prefermentativa.

Macías (2018), indicó que en la maceración prefermentativa al igual que lo dicho por **Requena (2015**), consiste en despalillar, estrujar y encubarla, sulfitar etc., señaló además que los mostos con maceración prefermentativa se enriquecen en aromas terpenicos, compuestos polifenólicos, acidez, poliosidos (azucares) y compuestos nitrogenados. Aconseja controlar el tiempo de la maceración debido a que mucha extracción de polifenoles puede

dar problemas de oxidación y pardeamiento, puede haber extracción de potasio, que trae la disminución del pH , además señaló **Macías (2018),** se consiguen efectos según la madurez del fruto, en frutos maduros concentración de antocianos, flavonoles y aromas varietales; en frutos poco maduros aromas más afrutados, es mejor indica en estos casos alargar la maceración prefermentativa y acortar la maceración fermentativa para evitar la extractibilidad de sabores herbáceos.

Etapa de maceración fermentativa

Macías (2018), indicó que en la etapa fermentativa la maceración pasa a ser una maceración fermentativa, produciendo alcohol, gas carbónico y un incremento de la temperatura en el medio, indica que se empiezan a extraer los taninos de la piel y de las pepitas, los taninos según manifiesta **Macías (2018),** se combinan con los antocianos formando un compuesto estable que no precipita, los remontados favorecen la unión, los remontados igualmente favorecen la extracción de polifenoles que aumentan la capacidad antioxidante de los mostos en fermentación.

Requena (2015), al respecto de la maceración fermentativa indicó que durante esta maceración el mosto cambia de composición, pasa de ser un mosto rico en azucares a un mosto alcohólico que se caracteriza por la presencia de alcohol, con cambios en el sabor y aroma dando lugar a la bebida fermentada de gran complejidad, señaló que las operaciones en esta etapa, la levadura empleada, la siembra de las mismas, el control de la fermentación alcohólica, la refrigeración, bazuqueos, remontados son muy importantes.

Etapa de maceración posfermentativa

Macías (2018, indicó que, en esta etapa, “una larga maceración fermentativa y posfermentativa retrasando el momento del descube, aunque la fermentación haya finalizado aumenta las cualidades organolépticas de la bebida fermentada que va a pasar a la crianza en barrica, afirmó que es en este momento que se extrae más polifenoles debido al contenido de alcohol, los taninos que se extraen se unen a los antocianos y se estabiliza el color.

Requena (2015), indicó que en esta etapa es necesario cuidar la evolución del vino (bebida fermentada) con operaciones que logren la estabilización tanto de las nuevas sustancias generadas como de las procedentes del mosto, el objetivo es eliminar la materia en suspensión, turbidez (partículas y gases disueltos) y mejorar las cualidades sensoriales de la bebida fermentada, afirma que en esta etapa la fermentación debe ser lenta y terminada la fermentación cerrar el depósito herméticamente una vez evacuado todo el gas carbónico, para que se produzca una fermentación sin la presencia de oxígeno (fermentación maloláctica) previo un trasiego y posterior enfriamiento, el cual debe de mantenerse a la bebida fermentada a temperaturas frías, no superior a los 18ºC, sin exceso de acidez ni con sulfuroso. El enfriamiento afirma es necesario para la precipitación de las borras que enturbian al vino, los trasiegos deben ser varios y luego desencubar y clarificar, aunque la bebida este clara y trasegar oportunamente.

2.2.9. Añejamiento y crianza

Macías (2018), denomina esta etapa como la de envejecimiento y recomienda el uso de barricas de roble donde se guarda el vino o bebida fermentada, afirma que en el interior de la barrica se dan fenómenos complejos que hacen evolucionar al vino (bebida fermentada) lográndose mayor estabilidad en color y complejidad en aromas.

Requena (2015), indicó que en esta etapa los vinos se someten a un proceso llamado crianza, afirma que el vino en contacto con la madera extrae de ella ciertas sustancias que mejoran sus cualidades sensoriales.

Vinetur (2018), indicó que “La crianza es un proceso de envejecimiento de cierta duración, donde el vino evoluciona, modifica y mejora sus características debido a fenómenos de origen físico, químico y biológico. Son muy pocos los vinos que salen al mercado para su consumo inmediatamente después de su elaboración sin ser sometidos a un mínimo periodo de reposo”.

Aspectos positivos de la crianza

Vinetur (2018), indicó que durante la crianza se mejora las características de todos los vinos y se hacen más agradables al paladar, terminada la

elaboración los vinos ya sea para venderse como vino joven o como vino de crianza es recomendable una guarda. la crianza puede ser llevada a cabo en diferentes envases, con adición de productos enológicos como taninos comerciales y sometida a condiciones de almacenamiento variables, que pueden ser de las siguientes categorías: oxidativa (cuando el oxígeno entra en contacto con el vino), reductora (cuando la ausencia de oxígeno es en la botella principalmente, es la que hace evolucionar al vino) y biológica (en la que organismos vivos ,levaduras modifican las características del vino, como en generosos, espumosos)

La madera y el vino

La madera es el material más utilizado para la conservación del vino modifica las características del vino y no solo lo conserva. La madera de roble aporta características olfativas y gustativas particulares, marcados por notas de vainilla que se conjuntan perfectamente con los aromas y sabores afrutados de los vinos jóvenes. Los aspectos positivos de la crianza en madera son: decantación de partículas; oxidación progresiva y permanente dependiendo de la porosidad del roble e Integración de algunas sustancias de la madera en el vino influyendo el origen, especie, secado y la técnica de fabricación (Macías, 2018)

Crianza en botella

Macías (2018), dijo que después del embotellado, se lleva a un periodo de crianza en botella, que se denomina reductora. En ausencia de oxígeno dando lugar a la aparición del bouquet. Las transformaciones son las siguientes:
Leves oxidaciones, evolución de la materia colorante, cambio leve de aromas y sabores.

El tiempo de crianza

Vinetur (2018), reportó que los tiempos de crianza se pueden establecer como en el cuadro 8.

Cuadro 8. Tiempos de crianza en barricas, botella para vinos

Tipo de vino	En barrica	En botella	Total
Blanco y rosado jov	De 6 a 9 meses	De 15 a 18 meses	24 meses
Tinto crianza	12 meses	12 meses	24 meses
Tinto reserva	12 meses	24 meses	36 meses
Tintos G.R	24 meses	36 meses	60 meses
Generosos	Larga duración	Larga duración	
Especiales	Larga duración	Larga duración	

Vinetur (2018).

2.2.10. Alternativas de crianza: virutas de roble, taninos y micro oxigenación

Macías (2018), menciona que la crianza en barrica es costosa y que existen alternativas más baratas, afirma que la crianza se puede resumir en dos: la micro oxigenación y la aromatización con fragmentos de roble muy utilizado en países como Chile, Perú, Australia y otros. Los cuales se pueden adquirir en forma de chips de roble, estos se pueden colocar en los depósitos de crianza o durante la fermentación alcohólica. Indicó que la adición de estas virutas o chips de roble incrementan los aromas e influyen en el sabor del vino, en contribución con la micro oxigenación ayudan a producir bebidas fermentadas comerciales a bajo costo y buena aceptabilidad. Añade que la "micro oxigenación es una "técnica que se fundamenta en la introducción en el vino de cantidades mínimas de oxígeno, sus efectos son mejorar el color y la estabilización".

Requena (2015), indicó que en contacto con la madera se propicia una saludable evolución del vino (bebida fermentada) se produce una lenta oxidación progresiva que favorece las combinaciones entre los taninos de la madera y los antocianos del vino.

Vazallo (2017), aconsejó la aplicación de taninos en la vinificación y crianza de vinos, analizó la aplicación de 11 tipos de taninos comerciales aplicados a vinos tintos durante la crianza, antes y después de un almacenamiento de 90 días, luego de los cuales realizó análisis espectrofotométricos para evaluar

el efecto en el contenido polifenólico, antioxidantes totales y sensoriales, el resultado permitió demostrar un comportamiento variable en las composiciones fenólicas, valores de taninos hidrolizables y ácidos fenólicos, los vinos enriquecidos con taninos de uva presentaron valores más altos de catequinas, epicantina, los enriquecidos con taninos de madera exhibieron valores más altos de fenoles totales y otros. Gustativamente no hubo diferencias significativas en astringencia y tuvieron buena calidad sensorial.

APARCANA SAC (2019), aconsejó para la fase de crianza como alternativa del uso de barricas: astilla de roble francés, tamaño medio, tostado ligero. Aplicado durante la crianza, logra un aporte lento que junto a la micro oxigenación asemeja la crianza en barrica. Dosis de 5 a 10 gr/Hl.

Tanino. Tan Red. Tanino elágico proveniente de la castaña. Usado para la estabilización de color de los vinos tintos, para la protección frente a la oxidación. Otorga un bouquet más complejo y mayor cuerpo. Dosis 3 a 30 g/Hl de mosto.

2.2.11. Determinación del color en los vinos (bebidas fermentadas).

Macías (2018), indicó que en las bebidas fermentadas el color es una característica importantísima para controlar en la fermentación alcohólica y que gracias a la aplicación cuidadosa de las técnicas de maceración prefermentativa, maceración fermentativa y posfermentiva se puede intensificar. **Macías (2018), reportó** dos métodos espectrofotométricos que son usados para determinar el color en los vinos. En la determinación del color se mide: la intensidad colorante (IC), el matiz (T), los cuales se pueden aplicar tanto a vinos blancos como a los vinos tintos. La IC es la suma de las absorbancias del vino correspondiente a las longitudes de onda de 420 nm y 520 nm para bebidas fermentadas oscuras y para bebidas fermentadas claras se suma adicionalmente la absorbancia a 620 nm la tonalidad (T) se expresa como A420/A520. Así también define otro valor para el análisis colorimétrico del vino: el índice de polifenoles totales (IPT) el cual se halla midiendo la absorbancia a 280 nm fuera del espectro visible. En el anexo 1 se describe la

metodología para realizar y cuantificar la Intensidad colorante (IC) y el índice de polifenoles totales (ITP).

2.2.12 . Fermentación alcohólica.

Macías (2018), define como un conjunto de rutas metabólicas que suceden dentro de las células, por las cuales algunos organismos obtienen energía por la acción incompleta de compuestos orgánicos, cuyo producto final es el alcohol etílico, lo llevan a cabo las levaduras en ausencia de oxígeno. Macías (2018), indicó que en la fermentación alcohólica cada molécula de glucosa o fructuosa tiene seis átomos de carbonos y se escinde en dos moléculas de tres átomos de carbono con la presencia de ion fosfato, deshidroxiacetona-fosfato (se transforma en glicerina) y el gliceraldehido fosfato se trasforma en acido pirúvico y después en etanol y en otros productos de la fermentación tales como el ácido acético, láctico, succínico etc.

2.2.13. Factores que afectan el crecimiento de las levaduras

Azucares

Macías (2018), reportó que el contenido inicial de azucares en los mostos es de 170-220g/l, la graduación alcohólica que se consigue es de 10 a 13 grados alcohólicos cuando el consumo es igual a 20 g/l se consigue un incremento de la velocidad de la fermentación, cuando se llega a 20-200g/l se llega velocidad constante a mayores consumos la velocidad disminuye.

Navarre (1994) citado por (Poma 2016), indicó que los azúcares, son fuente de carbono y de energía para las levaduras y que deben encontrarse en concentración superior a 20 g/L para que la fermentación alcohólica, transcurra a su velocidad máxima.

Sustancias nitrogenadas

Navarre (1994) citado por Poma (2016), indicó que las sustancias nitrogenadas las sales y vitaminas están presentes normalmente en mostos de uva, pero cuando los mostos son pobres en estas sustancias puede adicionarse nutrientes, complejos vitamínicos y sales de amonio.

El nitrógeno es un activador del crecimiento celular, es parte del mosto de uva, constituye del 3 al 10 % de amonio y 25 a 30 % de aminoácidos y el resto polipéptidos y proteínas, cuando la concentración de amonio es menor al 25mg/l se aumenta la fase de latencia y puede existir parada de fermentación, un exceso de amonio también es inadecuado ya que pueden producirse aminas biógenas **(Macías, 2018).**

Activantes de la fermentación

APARCANA (2019), reportó que distribuye activantes de fermentación:

V ACTIV, compuesto que contiene nitrógeno amoniacal, fosfatos y vitamina B1, todo lo que requiere la levadura para su metabolismo. Se emplea dosis 10-40 g/Hl para mostos para fermentar. 10-20 g/Hl para refermentación y paradas de fermentación.

V ACTIV SCORZE, compuesto por paredes celulares de las levaduras especiales para la adsorción de elementos indeseables en el vino que pueden afectar su calidad. Se emplea Dosis 20 g/Hl prevención de paradas de fermentación 40 g/Hl paradas de fermentación.

Corteza de levaduras

Son paredes de células de levaduras, se usan cuando los mostos son ricos en azucares y pueden ocasionar paradas de fermentación, estimulan el crecimiento de las levaduras y ayuda a que los mostos con alta concentración de azucares se fermenten totalmente **(Macías, 2018).**

Tiamina o vitamina B

Macías (2018), indicó que la tiamina aumenta la capacidad fermentativa de la levadura.

Aeración

Macías (2018), indicó que la aeración es necesaria para el metabolismo de las levaduras. Contribuye a la formación de la membrana y la pared celular, mejora la permeabilidad y la funcionalidad de la membrana, favorece el ingreso de los azucares y sustancias nitrogenadas por ayudar al trasporte intracelular, se aplica por bazuqueos y remontados durante la siembra y en la fermentación tumultuosa.

Temperatura

Macías (2018), indicó que es el factor más importante, la intensidad y duración de la fermentación dependen de la temperatura la temperatura a la que se alcanza la máxima velocidad es a 35ºC a 37-38º es la temperatura de muerte A 25ºC se produce todo el consumo de azucares a mayores temperaturas las levaduras no agotan los azucares. **Álvarez (1991) citado por Poma (2016**) dijo que la temperatura ideal para la fermentación y reproducción de levaduras esta entre 22 a 27°C y se reproducen más rápido 25°C.

Suárez (1997) citado por Poma (2016) indicó que, a temperaturas de refrigeración y bajas, se disminuye la velocidad, pero el Grado alcohólico es mayor que a temperaturas altas, se frena la pérdida por volatilización y que la menor temperatura de fermentación logra vinos más frescos, desciende el crecimiento de bacterias lácticas y la generación de ácidos volátiles es reducida. Lo que facilita el control de la fermentación. Entre 15 y 35°C disminuye la duración de la fase de latencia, sube la velocidad de fermentación al subir la temperatura, sube también el consumo de azúcar y nitrógeno, cambia el metabolismo de las levaduras, varía la composición del vino final, alcanzando mayor producción de alcoholes superiores, cuya temperatura de máxima producción es a 20ºC.

El pH del mosto se puede ajustar usando ácidos orgánicos (ácido tartárico, cítrico) el pH adecuado estaría alrededor de 3.5, a este pH se evita el crecimiento de bacterias contaminantes **(Macías 2018).** De Rosa (1998), citado por Poma (2016) menciona que el pH es muy importante sensorialmente el pH influye en la sensación de acidez, porque depende más de la concentración hidrogeniónica que de los ácidos contenidos. Sobre la quiebra fosfática, el rango óptimo se sitúa sobre el valor de 3.3 a valores inferiores o superiores no hay enturbiamientos.

2.2.14. Control de la fermentación alcohólica

Centro Tecnológico Ainia (2020), informó que para garantizar las características adecuadas del vino elaborado. Controlar las condiciones en las que se produce la fermentación es fundamental. Hay que comprobar con una monitorización continuada que el microorganismo esté funcionando, se

implanta en el mosto y va dando los parámetros de calidad que se quieren lograr. El ccontrol de los procesos fermentativos permite:

- Garantizar una buena calidad en todos los productos.
- La personalización de la marca, reconocimiento de la misma por las características y emociones que despierta en el consumidor. Para ello se identifica el microorganismo, selección, definiendo las condiciones óptimas de cultivo y monitoreando el proceso fermentativo.

Acosta (2012), para el control de la fermentación recomendó los parámetros básicos de análisis pH, acidez, ºBrix y grado alcohólico, el seguimiento de la acidez y el pH se realiza por análisis de la acidez titulable y el pH con un potenciómetro, estas variables son consideradas como variables de seguimiento y el grado alcohólico, contenido de alcoholes y congéneres, la acidez volátil como ácido acético y contenido de monosacáridos son consideradas variables de control final.

2.2.15. Limitaciones del proceso fermentativo

Las más importantes limitaciones según Scott, Escalona y Fernando (2001), son:

- Concentración de alcohol resultante. Es la resistencia de las levaduras a las concentraciones alcohol, producidas en la fermentación. Saccharomyces cerevisiae pueden a soportar hasta el 20% de azucares.
- Acidez del medio. El pH limita el proceso por que las levaduras se encuentran afectadas en ambientes alcalino o ácido. Un rango de supervivencia va desde 3.5 a 5.5 pH. Los ácidos como ácido tartárico, málico limitan a veces la fermentación.
- Nivel de azúcares. Alta concentración de hidratos de carbono en forma de monosacáridos y disacáridos frenar la actividad bacteriana. La baja concentración puede frenar el proceso, el nivel de carbohidratos afectan a los procesos de ósmosis dentro de la membrana celular.
- Contacto con el aire. Excesivos airamientos detienen por completo la fermentación.
- La temperatura. Temperatura cercana o superior a 55 °C causan muerte en un tiempo de 5 minutos. Temperatura de 30 °C es óptima.

- Ritmo de crecimiento de las cepas. Si encuentran condiciones favorables.

2.3. Definición de términos

Capulí

El Capulí pertenece a la familia de las Rosaceae. El árbol crece en forma silvestre, tiene de 5 a 15 m de altura y un diámetro a la altura del pecho de hasta 1.2 m. Su fruto es redondo; con diámetro de 1 centímetro en promedio, de color verde que se torna morado al llegar a la madurez. Aunque la planta crece en varios países tropicales; su fruto es consumido fresco o preparado en forma de jugos o mermelada casera (Hurtado y Pérez, 2014).

Maceración prefermentativa en frio.

Técnica de elaboración que consiste en macerar en frío las uvas antes de ser prensadas. También se llama maceración previa en frío, maceración pelicular en frio. Así, al originarse una ruptura celular en frío, se consigue una mayor extracción de los pigmentos y de los aromas que están depositados en los hollejos, a la vez que se retrasa el inicio de la fermentación. **(Sáez, 2012).**

Bebidas fermentadas. Cátedra extraordinaria de bebidas fermentadas (2013), indicó que las bebidas fermentadas están elaboradas exclusivamente a partir de la fermentación de alimentos como la uva, los cereales, los frutos carnosos o bayas, de baja graduación alcohólica, mantienen inalterados muchos micronutrientes de los alimentos que les dan origen, proporcionan cantidades de proteínas, aportes variables de vitaminas: B2 y B6, niacina, ácido pantoténico, B12 y ácido fólico y de minerales: hierro, magnesio, silicio, selenio y zinc.

Maceración fermentativa. Es la que se produce solapadamente con la fermentación alcohólica comprendiendo un período de 3 a 10 días, según la cinética fermentiva, alcanzando para casi todos los compuestos de interés, el máximo de su nivel de extracción. (Macías, 2018)

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Hipótesis central de la investigación.

La dilución 1:2 pulpa/agua, ºBrix 22 y concentración de 0.3 gr/litro de nutriente presentara mejores características físico-químicas organolépticas y funcionales en la bebida fermentada elaborada con capulí con maceración prefermentativa.

3.2. Variables e indicadores de la investigación.

Con el esquema de la investigación que se presenta en el cuadro 9, se identificaron tres etapas en la investigación y se elaboró el cuadro 10 donde se especifica las variables de la investigación y sus indicadores.

Cuadro 9. Plan experimental para la obtención de la bebida fermentada de capulí (*Prunos serotina*) con maceración prefermentativa

Etapa I		Etapa II		Etapa III	
Fase 1: Caracterización de la materia prima	Fase 2: Maceración Prefermentativa	Fase 1: Maceración fermentativa	Fase 2: Escalamiento	Fase 1: Crianza Maceración posfermentativa.	Fase 2: Caracterización de la bebida fermentada
Pasta de Capulí Composición químico prox. Análisis físico químico Análisis funcional	Diluciones 1:2, 1:3, 1:4 Variables Independientes Temperatura -8°C* Tiempo 30 días* Variables dependientes pH, ºBrix, Índice de poli fenoles, intensidad colorante, acidez total rendimiento	Dilución 1:3 Obtención de de fermentación 11 tratamientos del DCCR Variables Ind. Nutriente 10-40 g/lt, ºBrix 20-28 Variables depend. acidez volátil ºBrix, acidez total Grado alcohólico Densidad Duración de la fermentación	Tratamiento seleccionado Elaboración de la bebida fermentada con parámetros seleccionados pH 4.7, ºBrix 28 Nutriente 25g/HL Dosis de levadura 40g/HL	Tanino 3g/ Hl Astilla de roble tiempo 6 meses temperatura 17°C. Estabilización Embotellado	Análisis Físico – químico Análisis funcional Evaluación sensorial Calificación estética

Cuadro 10. Variables e indicadores de la Investigación

Etapa I. Fase 1 Maceración Prefermentativa

Variables Independientes	Indicadores	Escala de medición	Valor final
Dilución	nivel de dilución	Peso/vol.	
	Grado de dilución,	peso / peso; vol./vol.	1:4
Temperatura *	Grados Celcios	0- 100ºC	100ºC
Tiempo*	Duración dela maceración PF	días	variable
Variables dependientes			
pH	Concentración de hidrogeniones	0 a 7	3 – 4
ºBrix	concentración de solidos solubles	0 - 28 g/litro	28g/L (28ºBrix)
Polifenoles Totales	Índice de Polifenoles Totales	10 - 25 (sin unidades)	25*
Color	Intensidad colorante	0 – 20	20*
Rendimiento	volumen o peso inicial mas		
	El diluyente	200% a 400%	400 %

Etapa II. Fase 1. Maceración fermentativa

Variables Independientes	Indicadores	Escala de medición	Valor final
Nutriente	Concentración (g /HL)	10-40 g/Hl	40 g/HL
Solidos solubles	ºBrix	0 -28%	280g/ Hl
Variables dependientes			
pH	Concentración de hidrogeniones	1-7	3-4
Acidez total	Concentración de ácidos presentes	0-5 .7 g/l de ác.	3-4 g/l de
		Tartárico	ácido tar.
ºBrix-variación	Concentración de solidos solubles	0-28%	280g/l
Grado alcohólico	Concentración de alcohol	0-14ºGl	14ºGL
Tiempo	Duración de la fermentación	días	variable
Acidez volátil	concentración de ácido acético	0.20-0.1.2 g/l de acido	
		Acético	0.60g/l
		Áci. Acét	
Características órgano-	color, olor, sabor, limpidez	Escala hedónica 1-7	7
Calificación estética	Atributos sensoriales	0-20	20
Características Funciona-	Capacidad antioxidantes	umolEtrolox/100 g	variable
les	Polifenoles totales	mg EAG. /100 g	variable

* García y Xirau (2010)

3.3. MÉTODOS DE LA INVESTIGACIÓN.

3.3.1. Tipo y nivel de la investigación.

El tipo de investigación: experimental cuantitativa con fundamento en el método hipotético –deductivo. El nivel de conocimiento corresponde a una investigación de causa y efecto.

Nivel de la investigación: aplicada

3.3.2. Lugar de ejecución:

Laboratorio de Fermentaciones industriales, Lab. Luis Pasteur, Lab. de química de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo de Ancash. Lab. Investigación y Desarrollo de Productos agroindustriales de la Universidad Nacional del Santa. Laboratorio de Asesoramiento Técnico S.A.C. La Molina Calidad total laboratorios.

3.4. DISEÑO O ESQUEMA DE LA INVESTIGACIÓN PARA LA CONTRATACIÓN DE LA HIPÓTESIS

Para la contrastación de la hipótesis se diseñó el esquema de la investigación que se presentó en el cuadro 9. La hipótesis señalaba dos puntos: 1. Elección de la mejor dilución, 2. El ºBrix de 22 y concentración de 0.3 g de nutriente por litro. Para contrastar el primer punto se desarrolló:

La Etapa **1. Fase 1 Maceración prefermentativa** se realizó la interpretación comparativa de los resultados de los análisis efectuados que permitió seleccionar la dilución que logro capturar mayor contenido de polifenoles.

Para ello se trabajó teniendo como variable independiente a la dilución de la pasta de capulí, efectuándose tres diluciones 1:2, 1:3, 1:4, las variables temperatura y tiempo fueron tomadas de la bibliografía (Falcón, Toscano y Rosales, 2016) las variables dependientes fueron: índice polifenoles totales, intensidad colorante y rendimiento en mosto. El objetivo fue evaluar la influencia de la dilución en la intensidad colorante y en el índice de polifenoles totales.

Para contrastar el segundo punto se desarrolló:

Etapa II. Fase 1. Maceración fermentativa. Para contratación de la hipótesis con respecto a la influencia de la concentración de nutriente y concentración de sólidos solubles se utilizó el diseño estadístico: Diseño Compuesto Central Rotacional (DCCR) con 11 tratamientos. En el cuadro 11 se muestran los factores de la Investigación (concentración de nutrientes y concentración de azucares), el análisis estadístico se efectuó con un nivel de 95% de confianza. Nombre del Diseño: Factorial de 3^2 Diseño Base
Número de factores experimentales: 2
Número de bloques: 1
Número de respuestas: 4
Número de corridas: 11, incluyendo dos centrales por bloque
Grados de libertad para el error: 5
Aleatorizar: Sí
El diseño Central Compuesto Rotacional propuesto por Box y Wilson (1951) citado por Velásquez (2017) como una alternativa a la factorial 3k consiste en un núcleo factorial 2, cuyos niveles de los factores se codifican con +1 y -1, en la presente investigación las variables independientes (variación de los ºBrix (desde 18 a 28 ºBrix) y variación de la concentración del nutriente (de 10 a 40 gramos por hectólitro de mosto).

Cuadro 11. Factores. Etapa II. Valores utilizados en el DCCR.

Factores	- α	-1	0	+1	+α
ºBrix	18	19.5	23	26.5	28
Nutriente	10	14.5	25	35.5	40

El Stat Advisor determino un diseño Factorial de 3 niveles: 3^2 el cual estudio los efectos de 2 factores en 11 corridas. El diseño fue corrido en un solo bloque. El orden de los experimentos fue completamente aleatorizado.

En el cuadro 12 se presenta la matriz del experimento donde DCCR =>

[2V => α = 1.4142; 3V => α = 1.68; 4V => α = 2]

Cuadro 12. Matriz del experimento. Valores codificados y reales.

Tratamientos Nº	Valores codificados	Valores codificados	Valores reales ºBrix	Valores reales Nutrientes
1	-1	-1	19.5	14.5
2	+1	-1	26.5	14.5
3	-1	+1	19.5	35.5
4	+1	+1	26.5	35.5
5	-α	0	18	25
6	+α	0	28	25
7	0	-α	23	18
8	0	+α	23	40
9	0	0	23	15
10	0	0	23	15
11	0	0	23	15

Variables dependientes de seguimiento: variación de los sólidos solubles (ºBrix) y variación del pH.

Variables de control final: duración de la fermentación, grado alcohólico final alcohólico y pH final.

Los resultados se analizaron con el software STATISCA 13.3, que permitió resolver los cálculos estadísticos del DCCR y "ajustar el modelo predictivo de segundo orden" (Velásquez 2017: pág. 196). Así también se llevó a cabo la evaluación sensorial del color, olor, sabor y limpidez para el mejor tratamiento mediante una escala hedónica de 7 puntos y 30 panelistas y la calificación estética de la bebida fermentada utilizando la ficha de evaluación de la calidad estética del vino **(Jackson 2009, p. 174).**

3.5. POBLACIÓN Y MUESTRA

Población.

Frutos del capulí. (*Prunus serotina*) de la provincia de Carhuaz. Esta provincia tiene una superficie de 803,95 Km.2. Se encuentra ubicada al norte

de Huaraz, a una altura de 2,638 m.s.n.m., su clima es templado seco en el día y frío en las noches, tierras fértiles con abundante agua productor de verduras hortalizas y variedad de frutales.

Muestra.

La Muestra fue no probabilística, se eligió un subgrupo de la población, la cantidad de muestra fue 50 kilogramos recolectada en estado de madurez. No se usaron formulas, si no causas relacionadas con la investigación, por criterio del investigador y basada en la cantidad final del producto a obtener y cuyo volumen final permita tener muestra para los análisis físico –químicos, funcionales y organolépticos; por ser una investigación de carácter experimental.

Insumos

- Agente fermentativo: Levadura seleccionada vínica comercial. Saccharomyces cereviciae Variedad BAYANUS P.C., Maurivin made in Australia, ideal para fermentaciones difíciles. Distribuida por APARCANA S.A.C. Lima Perú.
- Azúcar blanca refinada. Paramonga S.A.C.
- Bentonita sódica activada. OENOFRANCE. Distribuida por APARCANA S.A.C. Lima Perú.
- Metabisufito potásico. El metabilsulfito potásico: polvo cristalino, compuesto de azufre y potasio, utilizado frecuentemente para la sulfitación de mostos o vinos por su capacidad para generar anhídrido sulfuroso en disolución. Producto ecológico distribuido por APARCANA S.A.C. Lima Perú.
- V ACTIV, es un compuesto que contiene nitrógeno amoniacal, fosfatos y vitamina B1, todo lo que requiere la levadura para su metabolismo. Dosis 10-60 g/hl para mostos para fermentar. 10-20 g/hl para Re fermentación y paradas de Fermentación. APARCANA S.A.C. Lima Perú.
- Astilla de Roble francés, tamaño medio, tostado ligero. Distribuido por APARCANA SAC; aplicado durante la crianza, logra un aporte lento que junto a la micro oxigenación asemeja la crianza en barrica. Dosis de 5 a 10 gr/Hl.

- Tanino. Tan Red. Distribuido por APARCANA SAC. Tanino elágico proveniente de la castaña. Usado para la estabilización de color de los vinos tintos, protección frente a la oxidación. Otorga un bouquet más complejo y mayor cuerpo. Dosis 3 a 30 g/Hl de mosto.
- Agua potable.

Reactivos

Carbonato de sodio (MercK Lab. Chemical)
Acido gálico (Sigma- Aldrich)
Metanol 99% J.T. Baker Chemical
Reactivo Folin Ciocalteu (Sigma- Aldrich)
2,6 diclorofenolindofenol (MercK Lab. Chemical)
Ácido ascórbico (Sigma- Aldrich)
Acido oxálico (Sigma- Aldrich)
DPPH (2,2-difenil-1-picrihidracilo) (Sigma- Aldrich)
Indicadores. Fenolftaleína, rojo de metilo, verde de bromocresol, azul de metileno. (MercK lab. Chemical)
Bentonita PLUS GRAM
Solución Baffer (MercK lab. Chemical)
Hidróxido de sodio (MercK Lab. Chemical)
Etanol 95° (MercK lab. Chemical)
Agua destilada
Biftalato de potasio (MercK Lab. Chemical)
Ácido sulfúrico (MercK Lab. Chemical)
Reactivo DNS (MercK lab. Chemical)
Reactivos para kjeldahl (MercK Lab. Chemical)
Helio (MercK lab. Chemical)
Hidrogeno (MercK Lab. Chemical)
Reactivo para determinación de grasa (MercK Lab. Chemical)

3.6. ACTIVIDADES DEL PROCESO INVESTIGATIVO.

Las actividades desarrolladas correspondieron al esquema experimental que se presentó en el cuadro 12 y se estructuro en 3 etapas:

Etapa I. Fase 1 y Fase 2.

Etapa II. Fase 1 y Fase 2.

Etapa III. Fase 1 y Fase 2.

A continuación, se describen:

3.6.1. Etapa 1. Caracterización del fruto del capulí y maceración prefermentativa

3.6.1.1. Fase 1. Caracterización físico química y funcional de la materia prima.

Se caracterizó la pasta de capulí (cascara más pulpa) obtenida despepitando el fruto, se incluyó solo cascara y pulpa) se llevó a cabo el análisis químico proximal, análisis físico –químico, análisis de capacidad antioxidante, vitamina c, fenoles totales. Los análisis de caracterización fisicoquímica y funcional del capulí fresco se realizaron por triplicado. En la gráfica 3 se presenta el fruto del capulí en el árbol, en la gráfica 4 la recepción, en la gráfica 5 lavado por inmersión. En la gráfica 6 selección del capulí, en la gráfica 7 pesado estrujado y despepitado. Con la pasta obtenida realizó la caracterización físico-química, proximal y funcional.



Gráfica 3: Capulí en el árbol.



Gráfica 4. Recepción



Gráfica 5. Lavado del Capulí.



Gráfica 6: Selección de capulí. Solo los frutos maduros de color rojo oscuro.



Gráfica 7: Pesado, estrujado, despepitado



Gráfica 8. Pasta de capulí

3.6.1.2. Etapa 1.

Fase 2. Maceración prefermentativa. Obtención de las diluciones 1:2,1:3,1:4, a partir de la pasta de capulí tal como se indica:

Dilución 1:2 (1 parte de pasta de capulí: 1 parte de agua).

Dilución 1:3 (1 parte de pasta de capulí: 2 partes de agua).

Dilución 1:4 (1 parte de pasta de capulí: 3 partes de agua).

En la gráfica 9 se presenta las diluciones



Gráfica 9: Vista de las diluciones 1:2, 1:3,1:4 en vaso y en placa petri.

Estas preparaciones se sometieron a una sulfitación para protegerlos de la oxidación y del ataque de microorganismos, dejando reposar por 4 horas, se extrajo una alícuota de cada uno para evaluarlas en cuanto a su contenido de azucares fermentables, pH, medida de polifenoles, e intensidad colorante antes de la maceración prefermentativa.

Una muestra de la pasta de capulí fue enviado a La Molina Calidad Total laboratorios, para los análisis de composición químico proximal, vitamina C, contenido polifenólico y capacidad antioxidante por el método ABTS.

El resto de las diluciones se sometieron a la maceración prefermentativa de 30 días y - 8ºC. Luego del periodo se descongelo, se desfangó y fueron evaluados fisicoquímicamente, y se procedió al análisis de intensidad colorante y medida de polifenoles totales. En la gráfica 10 se presenta las diluciones después del descongelado- desfangado posterior a la maceración prefermentativa y el espectrofotómetro listo para el ensayo para determinar la intensidad colorante e índice de polifenoles totales.



Gráfica 10: Ensayo para determinar la intensidad colorante y medida del índice de polifenoles totales



Gráfica 11. Espectrofotómetro utilizado para el ensayo de la medida de polifenoles en las diluciones de la borra.

3.6.2. Etapa II. Maceración fermentativa y escalamiento

3.6.2.1. Fase 1. Obtención de mostos de fermentación y determinación de la influencia de la concentración de azucares y nutrientes en la maceración fermentativa.

Los mostos de fermentación se elaboraron a partir de la dilución 1:3 (5.5 litros), se corrigió el pH a 4. Luego se vertió en botellas de néctar de 1 litro de capacidad. El volumen fue de 500 ml, haciendo un total de 11 botellas para

los 11 tratamientos, luego se agregó los azucares y el nutriente según la matriz del experimento. (Cuadro 8). Las botellas se dispusieron en el ambiente del laboratorio a la temperatura de 17ºC, acondicionadas con un orificio para la salida del CO2 conectado a una manguera cuyo extremo fue introducido en una botella de vidrio. Seguidamente se realizaron las siguientes operaciones:

Rehidratación de la levadura de vinificación

Se rehidrato la levadura Saccharomyces cerevisiae bayanus 0.2 gramos /10 ml de jarabe a 5 ºBrix, previamente esterilizado y enfriado a 35ºC de acuerdo a la dosificación recomendada por el fabricante y se incubo por 30 minutos a la temperatura de 35ºC. El número de levaduras por gramo de levadura seca se contabiliza en 25 millones de células por gramo que antes de la rehidratación se encontraban en un estado de vida vegetativo y que en el periodo de 30 minutos pasan el estado viable, durante esta etapa no aumento el número de células.

En la gráfica 12 se presenta la levadura rehidratada



Gráfica 12: Levadura rehidratada.

Elaboración del pie de cuba

Los 10 ml de levadura rehidratada fueron llevados a un volumen de 50 ml con mosto de la dilución 1:3 previamente esterilizado y corregido a pH 4. Se le añadió nutriente V ACTIVIT 0.15 gramos, incubándose a 35ºC por 4 horas, en botellas de néctar de 200 ml, durante este periodo las levaduras se multiplican por gemación y en progresión aritmética.

En la gráfica 13 se presenta los 11 pies de cuba elaborados



Gráfica 13: Once frascos conteniendo los Pie de cuba para inocular a los mostos de fermentación de los tratamientos del DCCR.

Inoculación del pie de cuba a los mostos de fermentación de los 11 tratamientos del Diseño Central Compuesto Rotacional

Se le añadió el pie de cuba elaborado con levadura rehidratada a cada mosto con un volumen de 500 mililitros cada uno y se colocaron a temperatura ambiente del laboratorio 17ºC Luis Pasteur de la Facultad de Ingeniería de industrias alimentarias de la UNASAM. En la gráfica 14 se presenta el sistema de fermentación empleado.



Gráfica 14. Sistema de fermentación empleado.

Control de la fermentación durante la fase de maceración fermentativa de los 11 tratamientos del DCCR.

Se realizó con un monitoreo Inter diario de las características fisicoquímicas básicas, pH y variación de los ºBrix durante el proceso fermentativo.

Fin de la fermentación.

De los 11 tratamientos que se empezaron, se iba descartando los tratamientos que terminaban en el menor tiempo (días) a la espera de uno o más tratamientos que alcance mayor duración en días y mayor grado alcohólico, cuando se determinó que el tratamiento 6 fue el que tuvo una mayor duración para el consumo de solidos solubles y mantuvo constante el ºBrix final a 3 por dos días consecutivo se dio por terminada la fermentación.

Reposo de 48

Los 11 tratamientos se dejaron reposar a temperatura ambiente por 48 horas antes de proceder a la filtración y centrifugación para la determinación del grado alcohólico y pH.

Elección del mejor tratamiento del Diseño Central Compuesto Rotacional

Una vez determinado el grado alcohólico de los 11 tratamientos se eligió al tratamiento 6 fijándose los parámetros hallados que fueron dilución 1:3, ajuste de pH inicial de 4.7 a 4, ajuste de la concentración de sólidos a 28ºBrix y 25 gramos de nutriente / 100 L, de mosto, 40 gramos de levadura Sacharomyces cereviciae variedad bayanus.

3.6.2.2. Etapa II.

Fase II. Determinación del flujo artesanal de la bebida fermentada mediante el escalamiento a nivel piloto en reactor de vidrio.

En base a los parámetro óptimos hallados en la etapa 2 fase 1, mosto de la dilución 1: 3, ajuste de pH inicial de 4.7 a 4 con ácido cítrico, sólidos solubles 280 gramos por litro (ºBrix 28) considerando el ºBrix inicial de 6.5 se agregó la diferencia para llegar al ºBrix de 28, nutriente O.25 g/l (25g /hl de mosto), dosis de levadura 0.4 gramos por litro, elaboración de pie de cuba e inoculación a mosto de fermentación 20 litros y se dispuso a la maceración fermentativa en tinto a la temperatura de 17ºC.

Se rehidrato la levadura Saccharomyces cerevisiae bayanus 0.40 gramos por litro (8 gramos para 20 l) y se agregó a 100 mililitros de jarabe de 5 ºBrix estéril y enfriado a 35ºC se dejó reposar 30 minutos a 35ºC.

Seguidamente se procedió a la elaboración del pie de cuba de dos litros a partir del mosto 1:3 corregido a pH 4 con ácido cítrico, de 6.5 ºBrix inicial del mosto se elevó a 15ºBrix con azúcar blanca, luego se esterilizo y se dejó enfriar a 35ºC.

En la gráfica 15 se presenta el pie de cuba de dos litros de mosto de la dilución 1:3, con los parámetros de ºBrix y pH para la fase de escalamiento.



Gráfica 15: Lev rehidratada y mosto de pie de cuba, sobre de levadura y Nutriente de la fermentación para la fase de escalamiento.

Maceración fermentativa y control de fermentación. Fase de escalamiento

Se llevo a cabo monitoreando las variables respuesta durante la fermentación con maceración fermentativa (pH, variación de los sólidos solubles ºBrix). al final de la fermentación, se reposo durante 48 horas luego se realizó el primer trasiego, filtración.

Reposo: Se mantuvo por 48 horas a la misma temperatura 17ºC para continuar la extracción de taninos y polifenoles.

Primer trasiego y reposo en frio: Consistió en retirar el sobrenadante con una manguera y filtración posterior con manga filtrante de 5 micras. El sobrenadante se guardó a temperaturas de 0ºC por 48 horas y posterior descongelación a temperatura ambiente.

Segundo trasiego y fermentación maloláctica: Se trasegó a un depósito limpio y se procedió a la fermentación maloláctica por 21 días en depósito herméticamente cerrado sin aire.

Tercer trasiego y clarificado: se usó el clarificante Bentonita en la dosis de 100 gramos por hectolitro de mosto fermentado, con adición de 0,2 gramos de metabisulfito por hectolitro. Para evitar cualquier oxidación y se dejó en reposo por 72 horas.

En la gráfica 16 se presentó el mosto de fermentación en la fase de escalamiento después del primer trasiego.



Gráfica 16. Fase de escalamiento. Mosto de Fermentación final después del primer trasiego.

Filtración: Se retiro el sobrenadante y se filtró con una manga filtrante de 5 micras.

3.6.3. Etapa III. Maceración posfermentativa, estabilización, embotellado y caracterización final.

3.6.3.1. Fase 1.

La bebida fermentada se guardó en un recipiente herméticamente cerrado y se le agrego chip de roble francés y taninos en un lugar oscuro por seis meses. Al termino de los cuales se procedió a la estabilización y embotellado.

La operación de estabilización comprendió:

1. Filtración. Consistió en retirar el sobrenadante y eliminar la borra, el sobrenadante se filtró con una manga filtrante de 5 micras. Para el caso de la bebida fermentada de capulí después del reposo se encontró grasa en la superficie que fue retirada antes del filtrado.
2. Estabilización química se añadió sorbato de potasio 10 gramos por hectolitro, se disolvió en una alícuota y luego se vertió al filtrado. Se tuvo cuidado con disolver el soluto en la bebida fermentada.
3. Estandarizado. Se le añadió estevia en la dosis de 0.3 gramos por litro para endulzarlo.
4. Embotellado**.** Se procedió a embotellar en botellas de 500 ml.

3.6.3.2 Etapa **III.**

Fase 2. Caracterización físico-química –funcional y sensorial (color, olor, sabor, limpidez) y calificación estética de la bebida fermentada.

3.7. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE LA INVESTIGACIÓN

Las técnicas se basaron en la observación experimental a partir de la manipulación de las variables independientes en las condiciones de trabajo, que permitieron obtener los datos experimentales de las variables respuesta organizados en las tablas de resultados.

Se consideran a los métodos empleados en los análisis de las materias primas, durante el procesamiento y del producto final. A continuación, se detalla:

3.7.1. Composición química proximal de la materia prima: Capulí (*Prunus serótina).*

Humedad. A.O.A.C.920.177.20 th .Ed. 2016 solids total in fruits products.

Ceniza. A.O.A.C, 940.26.20th. Ed 2016. Ash of fruits and fruits products.

Protein AOAC 920.152. 20 th. ED. Protein in fruits products. Kjeldahl Method.

Grasa. AOAC 920. 177, 20 th Ed (2016). Ether extract of confectionary

Fibra cruda. AOAC 962.09 (2016). Cap 4, ed XVIII. Pág 44 (fiber (crude) in fruit food.

Carbohidratos totales (g/100) por diferencia. Collazos 1993

%carbohidratos totales = 100-(humedad%+minerales%+ proteína%+ grasa%)

Carbohidratos disponibles (g/100) Collazos 1993.

Energía Kcal/100g) Total. Por cálculo Collazos 1993.

Energía (kcal/100g) = (%Proteína*4) + (%grasa*9) + (%HC*4)

3.7.2. Análisis Físico-Químicos del fruto del capulí

pH. Método potenciométrico. A.O.A.C 981.12 (2005)

Sólidos solubles. ºBrix. Método refractométrico. A.O.A.C 931.12 (2005)

Acidez total. Método A.O.A.C titulación volumétrica AOAC.942.15 (2005)

Índice de madurez. NTP 203.121

3.7.3. Análisis del color

Determinación de la Intensidad colorante. Método recomendado por Glories (1984) como citado por **Macías (2018)** pág. 80.

3.7.4. Medida de polifenoles totales

Determinación del Índice de polifenoles totales (IPT). Método recomendado García y Xiurus (2005) citado por Macías (2018), pág. 80.

3.7.5. Análisis funcional.

Capacidad antioxidante

Método ABTS. Arnao. Cano y Acosta 2001

Método DPPH. Brand Williams *et al.* (1995)

Vitamina C. AOAC 967.21 Cap, 45 pág. 21-22. “0TH Edición 2016

Compuestos fenólicos. Método Swain y Hillis 1959.Folin-Ciocalteu

3.7.6. Análisis Físico químico durante el proceso maceración fermentativa del mosto de capulí obtenido con maceración prefermentativa de 30 días a temperaturas de -8º C.

- Sólidos solubles. (ºBrix) Método refractométrico A.O.A.C (1995).
- pH. Método potenciométrico .A.O.A.C (1995)
- Temperatura con un termómetro ambiental.

3.7.7. Análisis físico químico de la bebida fermentada.

- Grado alcohólico. NTP. 212.030. Revisión última 2016 y método del vinometro.
- Acidez titulable. Método AOAC. 964.08 19 th ed. 2012.
- Acidez volátil. Adaptado de García Tena. Citado en Gonzales et al. 2005
- Alcohol metílico NTP 212.032 2001)
- Sólidos solubles. Método densimetría A.O.A.C (1995).
- pH. Método potenciométrico AOAC (1995)

3.7.8. Análisis organoléptico. Color Olor Sabor Limpidez.

3.7.9. Calificación de la calidad estética (Jackson, 2009)

3.7.10. Análisis funcional

Capacidad antioxidante. Método ABTS. Arnao. Cano y Acosta

Método DPPH. Brand Williams et al., (1995).

Vitamina C. AOAC 967.21 Cap., 45 pág. 21-22. “0TH Edición 2016

Compuestos fenólicos. Método Swain &Hillis 1959.Folin-Ciocalteu

3.7. 11. Equipos

- Espectrofotómetro uv visible JASCO 670, modelo LSE-701 (UNS)
- Espectrofotómetro Spectronic 20 Bausch y Lomb (UNASAM- Lab de Química)
- Agitador magnético maxi mix marca thermoline modelo 37615
- Agitador de tubos. Vortex. Boeco (UNS)
- Ultrasonido marca Col-pamer. (UNS)
- Estufa de secado Memert Germany. -1200
- Reactor de vidrio de 20 litros de capacidad.
- Balanza analítica, Modelo GR-200
- Termómetro digital de 0 a 110ºC.
- Refrigeradora
- Congeladora Imaco.

- Equipo soxlet completo.
- Centrifuga. Marca selecta, Modelo Gt 119-100T (UNASAM)
- Centrifuga sigma modelo 2-16 (UNS)
- Cromatógrafo a gas Shimadzu (UNASAM)
- Equipo de baño maría. Marca biotrom BTR -65
- Equipo de titulación. Acidómetro.
- Potenciómetro Marca CRISON, modelo P4-506
- Micro pipetas 100- 1000 ul. Marca Brand. Modelo tranferpette
- Pipetas de 01, 05, 10 ml.
- Erlenmeyer de 125, 250, 500, ml.
- Pinzas de crisol y crisol
- Probetas de 100 y 250 ml.
- Balanza comercial de reloj de 0 a 10 kg.
- Refractómetro portátil de 0 a 80ºBrix
- Mostimetro triple escala ºBrix, ºOHesle, densidad, ºGrado alcohólico potencial con termómetro incorporado.
- Cocina eléctrica 220 voltios.
- Cocina gas semiindutrial
- Botellas de vidrio (licor de 500 ml.), capuchones y tapones sintéticos

3.8. Procedimiento para la recolección de datos.

Las recopilaciones de los datos para obtener información para el desarrollo de la investigación fueron a partir de:

Datos primarios. Se obtuvieron de datos de los resultados experimentales en forma directa durante las pruebas preliminares y definitivas, obtenidas mediante el proceso y las pruebas de laboratorio correspondientes.

Datos secundarios. La recolección documentada se realizó de bibliografía especializada, internet, revistas, normas y trabajos de investigación afines, además de consultas con especialistas en el área.

3.9. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos

De acuerdo a las etapas de estudio:

I Etapa. Fase I. Se realizo una interpretación comparativa de los resultados **obtenidos** en la evaluación del incremento de la intensidad colorante, e índice de polifenoles totales antes de la maceración prefermentativa y después de la maceración prefermentativa con la finalidad de determinar si había cambios en el contenido de polifenoles totales y la intensidad colorante.

II Etapa. Fase I. Se utilizó el diseño estadístico: Diseño Compuesto Central Rotacional (DCCR) de segundo orden con resultados en superficie respuesta. El planteamiento factorial completo “K incluido 2k puntos axiales y tres puntos centrales K2 por ser dos factores y 3 variables dependientes haciendo un total de 11 tratamientos.

III Etapa. Análisis de los datos.

Prueba de hipótesis utilizando la T-Student para el análisis sensorial y calificación estética de la bebida fermentada.

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSION0ES

4.1. Caracterización del fruto maduro del capulí (*Prunus serótina*).

4.1.1. Componentes del fruto maduro.

Cuadro 13. Componentes del capulí maduro por 100 gramos de fruta

Componente	gramos
Pulpa	57.16 ± 0.28
Cascara	11.03 ± 0.05
Pepa	31.00 ± 0.02
Total	100

Con respecto a los componentes del fruto maduro se observa que el fruto del capulí de la zona sierra de Ancash, tuvo 68 gramos de pulpa más cascaras, 11 gramos de cascara y 58 gramos de pulpa, aprovechables para la elaboración de bebidas fermentada y/o otros subproductos, 32 gramos de pepa que puede ser aprovechada para elaborar snack, para obtener semillas certificadas o para la extracción de aceite que según **Alveano *et al*. (2011)** dijo que las pepas son inhibidoras de células cancerosas. Con respecto a la cantidad de 11 gramos de cascara hallados en esta investigación, como lo mencionan Hurtado **y Pérez (2014),** encontraron 17.5 gramos de cascara por 100 gramos de fruta, esto podría deberse a que ciertos frutos provenientes de otras regiones del Perú como en el Cuzco existe una variedad de mayor tamaño que la variedad que existe en Ancash. (Carrillo, 2020). Lo cual es importante considerar dado que los antocianos y compuestos polifenólicos están presentes en la cascará por ende a mayor porcentaje de cascará se tendrá mayor capacidad antioxidante.

4.1.2 Composición química proximal de la pasta de capulí (*Prunus serotina*)

En el cuadro 14 se presenta la composición química proximal del capulí.

Cuadro 14. Composición químico proximal de la pasta de capulí

Análisis	Valores hallados (g)
Humedad (g/100g)	75.8
Cenizas (g/100g)	0.77
Proteínas ((N*6.25) g/100g)	2.14
Grasa (g/100g)	0.43
Carbohidratos totales por cálculo (g/100g)	20.78
Energía total (kcal/100g)	95.55
Fibra cruda g/100	3.78

Fuente: Informe de ensayo Nº DT-00275-01-2019. Laboratorio de Asesoramiento Técnico S.A.C.

Los datos reportados por el informe de ensayo **Nº DT-00275-01-2019** difieren en lo reportado por **Munive y Vega (2013),** quienes reportaron los siguientes resultados en base humedad: Humedad 70.68 g, Proteína 2.37g, Fibra 5.09g, Grasa 2.83, Ceniza 1.39g, Carbohidratos 17.64g, debido a que la pasta de capulí de la presente investigación tuvo 20 visto en el cuadro 378 g/100 de carbohidratos (E.L.N.), es decir tuvo un índice de madurez mayor. El contenido de grasa y proteína es mínimo, lo cual concuerda con lo expresado por Melo *et al.* (2013), el nivel de carbohidratos (E.L.N) mayor a 20 g/100g de pasta de capulí, lo cual ratifica que es un alimento que provee mucha energía para el consumidor. Así también lo reportado por Gavilanes (1990), citado por Guijarro (2013), visto en el cuadro 3, que presenta una humedad de 77.2 g, proteína 1.3 g, grasa 0.2 g, fibra 0.6 g, hidratos de carbono 20. 7 g, comparado con los resultados de la investigación, la humedad, fue de 75.8 g, siendo más alto el contenido de proteína 2.14 g, en cuanto a grasa el doble, fibra 6.3 veces más, que lo hace útil para el estreñimiento, ligeramente mayor la ceniza (0.77 versus 0.66 de Gavilánez), siendo mayor la energía total 95.5 frente a 81 kcal. Estas diferencias podrían deberse al tipo de suelo, momento de la cosecha, Índice de madurez y procedencia. Así también en lo reportado por **FUNIBER (2012)** el fruto del capulí es rico en calcio, hierro, yodo, vitamina C, vitamina D, vitamina E, vitamina B12, que hacen que este producto sea rico en nutrientes, lo cual incrementa la velocidad de fermentación por ser alimento saludable y

benéfico para el metabolismo de las levaduras. En el anexo 2 se presenta el informe de ensayo N.º DT- 00275-01-2019.

4.1.3. Análisis fisicoquímico de la pasta de capulí (Prunus serotina)

Los resultados de los análisis físico-químicos se presentan en el cuadro 15.

Cuadro 15. Análisis fisicoquímicos de la pasta de capulí maduro.

Análisis	Valores hallados
pH	5.13 ± 0.0057
Sólidos Solubles Totales (ºBrix)	22 ± 0.2886
Acidez titulable (g. ác. cítrico)	0.23 ± 0.0009
Índice de madurez	95.1 ± 0.09

El contenido de sólidos solubles es relativamente alto en comparación con el resultado que muestra Villarroel (2008), en el cuadro 5, esta variación puede deberse al estado de madurez del fruto que indica que corresponde a un fruto maduro, así como al origen de la fruta. A diferentes condiciones ecológicas puede variar en su composición, como su pH determinado 5.13 ± 0.0057 esta entre 4 y 5. 5 se clasifica como alimento de baja acidez.

Comparando los análisis fisicoquímico del capulí con otras frutas tales como el Aguaymanto, Camu Camu el capulí tiene al estado maduro 22- 24 ºBrix, el aguaymanto maduro puede tener según Oro y Urcia, (2017) 15ºBrix , Falcón Toscano y Rosales encontraron hasta 17ºBrix en aguaymanto, en lo referente al Camu Camu solo se encontró 5.5ºBrix (Oro y Urcia, 2017) esta característica es importante para elaborar bebidas fermentadas pues a mayor cantidad de azucares mayor grado alcohólico y no hace necesario aumentar los ºBrix con sacarosa.

4.1.4. Contenido de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

En el cuadro 16 se presenta los resultados de los análisis de capacidad antioxidante, vitamina C y contenido de polifenoles de la pasta de capulí.

Cuadro 16. Capacidad antioxidante (ABTS). Compuestos fenólicos mg ácido gálico /100g) y vitamina C (mg/100g) (media +DE, n=2) de la pasta de capulí de la investigación.

Ensayos	Resultados
Capacidad antioxidante (umolEtrolox/100g)	744.18 ± 11.02
Compuestos polifenólicos (mg GAE /100g muestra	248 ± 0.07
Vitamina C (mg. Vitamina C/100g)	2.205 ± 0.007

Fuente. Informe de ensayos Nº 001960- 2019. La Molina Calidad total Laboratorios.

En el anexo 3 se presenta el informe de ensayos citado.

Observando los resultados de Hurtado y Pérez (2014), en cuanto a capacidad antioxidante del fruto del capulí comparado con la capacidad antioxidante de otras frutas se observó que la capacidad antioxidante de la pasta del capulí es 2.5, 2.1, 1.9 veces mayor que la mora, guayaba, uva. Comparando con los resultados de la Molina Calidad total Laboratorios siendo el método de análisis ABTS, Hurtado y Pérez (2014), hallaron 2,36 veces más capacidad antioxidante (1760 umolEtrolox /100g de muestra versus 744.185± 11.023 umolEtrolox /100g de pasta de capulí de la Investigación).

En el cuadro 17 se presenta los resultados de los análisis funcionales realizados en la UNS. Laboratorio de investigación y nuevos productos.

Cuadro 17. Capacidad antioxidante, compuesto polifenólicos por 100 gramos de pasta de capulí (media +DE, n=3)

Ensayos (base humedad) Método DPPH	Resultado
Capacidad antioxidante (umol E trolox/100g de pasta)	950.40±0.1
Compuestos polifenólicos (mg GAE /100g de pasta)	904.79±0.01

En el anexo 4. Se presenta la secuencia de los pasos seguidos para la cuantificación de la capacidad antioxidante del puré de capulí fresco

En los resultados de **Munive y Vega (2013),** se presentó un contenido de antocianos de 148mg/ 100g de muestra y 3.7 mg de vitamina C/100g de muestra, en la investigación que se presenta según el informe de ensayo de

la Molina Calidad Total laboratorios cuadro 16 el contenido de compuestos fenólicos (ABTS) es mayor por 100 mg. 248 mg/100g de pasta de capulí, debido probablemente al estado de madurez que es más alto ya que la muestra analizada tuvo 22 ºBrix frente a 20 de la muestra de Munive y Vega (2013), con respecto a la Vitamina C fue menor en 1.7 mg, muy por debajo de lo que indicó Gavilánez (1990) citado por Guijarro (2013), que indicó que el contenido de vitamina C fue de 18 mg /100 g. Si se compara con otras frutas el contenido de vitamina C en el capulí es bajo, de acuerdo con lo reportado por Guash (2020), el contenido de vitamina C/100g en: **Grosella negra**: 189 mg, **Guayaba:** 180 mg, **Perejil:** 166 mg, **Pimiento rojo:** 140 mg, col **de Bruselas:** 112 mg, **Brócoli:** 110 mg, **Kiwi:** 100 mg, **Naranja:** 50 mg. Comparando con el Aguaymanto y el Camu que según Oro y Urcia (2017) encontraron 42.97 y 2498.24 mg de vitamina C/100g de fruta , el valor de 2.2 mg/ 100g de fruta que fue el resultado del análisis de la pasta de capulí fue mínimo.

Con respecto al contenido polifenólicos según **Pacheco *et al.* (2010**), el contenido de polifenoles y flavonoides cuantificados en el extracto acuoso del capulí (Prunus serótina) es similar a los reportados para las uvas rojas (12.0 mgGAE/g de muestra seca) y las fresas (12.3 mg GAE/g de muestra seca), indicando que el capulí (*Prunus serótina*) posee una alta concentración de estos metabolitos secundarios. Indicó que identificó al ácido clorogénico como el constituyente fenólico más abundante (0.55 mg/mg extracto liofilizado). Los resultados de capacidad antioxidante y compuestos polifenólicos por el Método DPPH, son altos debido que se utilizó un extracto acuoso en base humedad, y **Pacheco *et al.* (2010)** reportó sus resultados en base seca.

Muños *et al.* (2010), concluyó que el capulí tiene un alto contenido de fenoles en comparación con otras frutas, como las uvas rojas y las fresa, dentro de los cuales el más abundante es el ácido clorogénico. Lo que se acredita con el reporte del contenido de polifenoles según el informe de ensayo La Molina Calidad Total laboratorios presenta de compuestos polifenólicos 248± 0.07, y lo realizado en la UNS reportó 904.79±0.01 mg de ácido gálico /100g de pasta de capulí. Ambos análisis en base húmeda en base húmeda, con una

diferencia notable, hay que considerar que efectivamente puede ser el dato hallado correcto dado que el capulí es un fruto de color oscuro, con antocianos, así también datos reportados de otras plantas como el mesocarpio del fruto de maracuyá según **Huamancondor y Milla (2013),** encontraron valores de 5934± 0,137 en base seca.

Con respecto a lo reportado por kuskoski *et al.* (2005) que informó la capacidad antioxidante de frutas como la acerola (959 ±19 umolEtrolox/100g de muestra), mango 174.3 ± 0.5 por el método DPPH al igual que el resultado de la pasta de capulí de la investigación (950.04±0.1 umolEtrolox/100g de muestra) por el mismo método, se acredita su gran capacidad antioxidante, motivo para fundamentar su consumo, industrialización y la revalorización de este fruto andino. El método del DPPH arrojó un mayor valor de capacidad antioxidante y contenido polifenólico que el método ABTS. El pH del fruto del capulí al estado maduro (5.13) es mayor que muchas frutas, esta característica hace que sea más antioxidante.

4.2. Determinación de la influencia de la maceración prefermentativa en frio sobre la extracción de compuestos polifenólicos y la intensidad colorante

Cuadro 18. Análisis fisicoquímico, parámetro de color y medida de polifenoles de los mostos de la dilución 1:2, 1:3, 1:4 de la pasta de capulí antes de la Maceración prefermentativa.

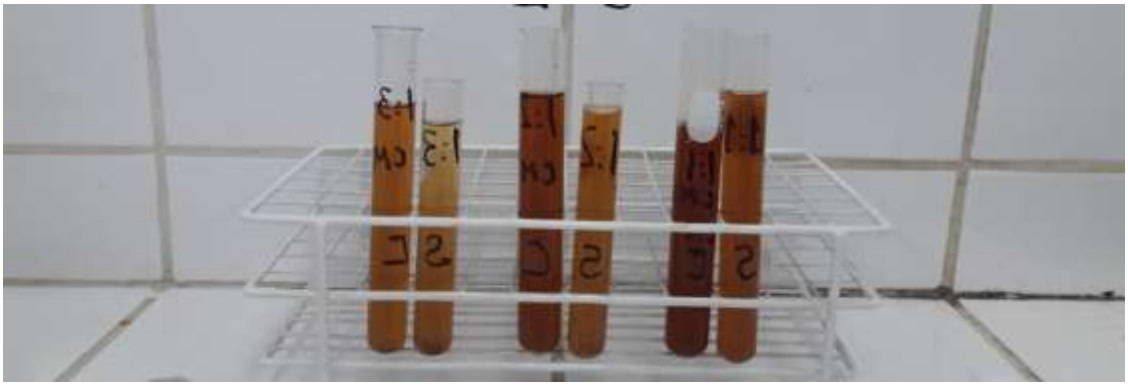
Análisis/dil.	**1:2**	**1:3**	**1:4**
pH	4.80±0.05	4.706±0.01	4.76±0.05
ºBrix	13±0.3	6.5± 0.06	5.5±0.05
Acidez Total	0.78±0.04	0.75 ± 0.09	0.76±0.31
Intensidad colorante	11±0.03	13.2±0.05	5.3± 0.09
Índice de polifenoles	10±0.02	14±0.08	8±0.06
Rendimiento en mosto	200 ml.	300 ml	400ml

Cuadro 19. Análisis fisicoquímico, Intensidad colorante y medida del Índice de polifenoles totales de los mostos de la dilución 1:2, 1:3, 1:4 de la pasta de capulí después de la maceración prefermentativa de 30 días a la temperatura de - 8ºC.

Análisis/dil.	**1:2**	**1:3**	**1:4**
pH	4.45± 0.01	4.39± 0.09	4.05±0.03
ºBrix	13±0.04	6.5±0 .009	5.5±0.9
Acidez total	0.68±0.09	0.70±0.07	0.73±0.05
Rendimiento en mosto	200ml	300ml	400ml
Intensidad colorante	16.5±0.01	20.4±0.08	7.4±0.03
Índice de polifenoles	12.6±0.08	45± 0.01	12.1 ±0.06

Existe diferencias en cuantas a las características físico-químicas de pH y ºBrix antes y después de la maceración prefermentativa, lo cual se debe a que los análisis antes de la maceración prefermentativa se hicieron sobre muestras recién estrujadas sin la adición de metabisulfito y los análisis después de 30 días a temperaturas de congelación de -8 ºC, estas condiciones tienen un efecto en la composición de la dilución en el tiempo de almacenado dado que la dilución se contrae en volumen (aumento ligero de los ºBrix) y la disminución de la temperatura.

Con respecto a la acidez se observa una relación inversa baja el pH, sube la acidez. Cabe recalcar que las mediciones de estas variables se hicieron a 20 ºC. En la gráfica 17 se puede observar tubos conteniendo las diluciones antes y después de la maceración prefermentativa.

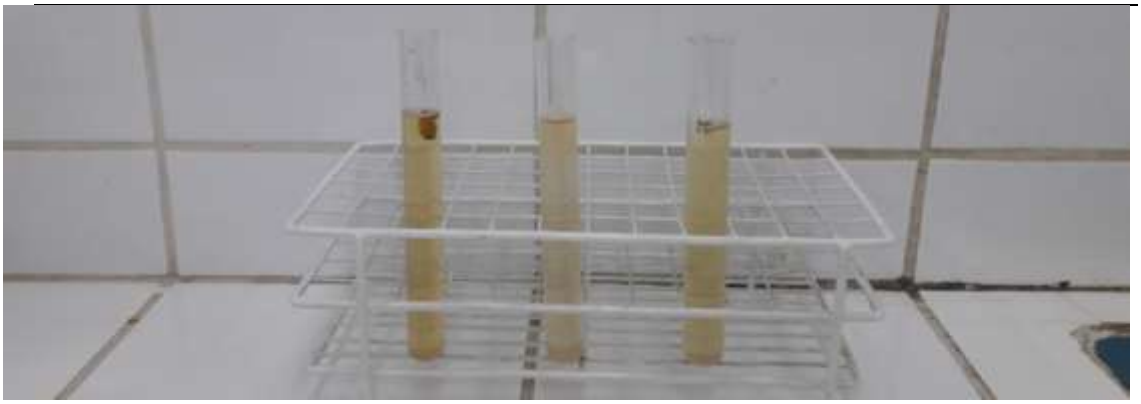


Gráfica 17: Fotografía de las diluciones antes y después de la maceración prefermentativa, de derecha a izquierda dilución 1:2,1:3,1:4.

4.2.1. Determinación del índice de polifenoles totales de las borras de las diluciones 1:2, 1:3, 1:4 después de la maceración prefermentativa.

Para la realización de este análisis se siguió la sugerencia Velázquez (P. Velásquez, comunicación personal, 3 de setiembre 2018) indicó que se debe realizar el análisis del índice de polifenoles totales de cada borra resultante de la maceración prefermentativa a la concentración de 30 gramos de borra con 500 ml de agua al enrace agitando la mezcla, dejando reposar y centrifugar para luego realizar la lectura a 280 nm con un espectrofotómetro. Comparando con la lectura de la absorbancia de un blanco elaborado con agua destilada, la medida del índice de polifenoles totales de la borra de las diluciones 1:2,1.3,1:4 y el blanco fue: 1.8±0 para 1.2; 0.98±0.3 para 1:3; y 0.088±0.08 para el blanco.

Como se observa el Índice de polifenoles totales, está más cercano al blanco en la dilución 1:3, lo que acredita que los polifenoles han sido extraídos con mayor efectividad dejando la borra casi exenta de polifenoles. En la gráfica 18 se presenta 3 tubos conteniendo las diluciones de la borra 30 g. /500 ml de agua.



Gráfica 18. **Tubos conteniendo la dilución de la borra de la maceración prefermentativa, de derecha a izquierda, el tubo del centro corresponde a la dilución 1:3.**

Se observa que el Índice de polifenoles totales de la borra de la dilución 1:3 (30g/500ml de agua), presenta el menor índice de polifenoles totales, lo cual indica que la dilución 1:3 absorbió más color, mayor índice de polifenoles totales y por ende la borra tiene menor color y menor IPT.

En el cuadro 20 se presenta el % de incremento de la intensidad colorante polifenoles antes y después de la maceración prefermentativa en frio.

Cuadro 20. Porcentaje de incremento de la intensidad colorante y el índice de polifenoles para las diluciones 1:2, 1:3 ,1:4 de la pasta de capulí antes y después de la maceración prefermentativa.

Dilución	parámetros	MPF^A	MPF^D	% de incremento
1:2	IC	11	16.5	47.5
	IPT	10	12.6	26
1:3	IC	13.2	20.4	54.5
	IPT	14	45	68
1:4	IC	5.3	7.4	37
	IPT	8	12	12.5

MPF^A Maceración prefermentativa antes

MPF^D Maceración prefermentativa después

El porcentaje de incremento para la intensidad colorante y el índice de polifenoles totales se obtiene de la diferencia entre los valores antes y después de la maceración prefermentativa dividido entre el valor inicial.

Estas diferencias de IPT, IC se debe a que como señala kountoudakis *et al*. (2009) la maceración en frio, por congelación o por nieve carbónica tiene un efecto en la desintegración de las pieles y libera los compuestos flavonoides enriqueciendo el mosto, Gómez (2000) citado por kountoudakis *et al.* (2009) afirma que es vital optimizar la extracción del color y su estabilización con técnicas macerativas y que es muy importante trabajar con frutos maduros.

Del cuadro 20 se observa de acuerdo al % de incremento de la IC y del IPT de las tres diluciones antes de la maceración fermentativa (a 0 días) y después de 30 días de maceración a - ºC y 30 días, la dilución 1:3 es la

óptima porque presento mayor porcentaje de incremento, IC (54.5% y mayor IPT(68%) en comparación de las diluciones 1:2, 1:4 que tuvieron % de incremento en la IC de 47.5 y 37 y en cuanto a la medida del índice de polifenoles totales del 26 % y el 12.5% para la dilución 1:2, 1:4. Si se compara estos resultados con lo encontrado por Apolinar (2012), quién refirió que en una maceración en frio con nieve carbónica encontró un % de incremento de antocianos mg/l de 51%, y de IC de 18%, un poco más bajos a los valores encontrados en esta investigación porque uso menos tiempo de maceración prefermentativa y temperaturas de 6 ºC, ratificándose que la maceración prefermentativa en frio es una estrategia para mejorar los vinos, debido a que retrasa el inicio de la fermentación y logra la extracción lenta y progresiva de la materia colorante.

Por lo tanto, la maceración prefermentativa a temperaturas frías, congelación tiene un efecto positivo al influir en el aumento del índice de polifenoles totales y la intensidad colorante.

El aumento de la intensidad colorante y el Índice de polifenoles totales en la fase de maceración prefermentativa es explicado por Álvarez et al., 2005 y Timberlaque y Bridle (1976) citados por Casassa (2015) quiénes indicaron que en esta fase ocurre una difusión de antocianos y taninos de bajo peso molecular y la ausencia de etanol favorecería la formación de especies polifenólicos de mayor peso molecular y aumento del color, estas afirmaciones justifican el aumento logrado en la investigación que se presenta.

De acuerdo al resultado que se observa en el cuadro 18 la dilución 1:3 es la que extrae más intensidad colorante y mayor índice de polifenoles totales.

Macías (2018), indicó la conveniencia de que la maceración prefermentativa se realice a bajas temperatura para evitar la fermentación, logra extraer más aromas, polifenoles, compuestos nitrogenados y acidez.

4.3. Evaluación de la influencia de la concentración de nutriente (V ACTIV) y la concentración de azucares en la maceración fermentativa,

En los cuadros 21,22,23 se presenta los resultados de la evaluación de la influencia de las variables independientes: concentración de nutriente (V ACTIV) de 10 gramos a 40 gramos por hectolitro y la concentración de

azucares de 18% a 28%) en la maceración fermentativa, las variables dependientes se agruparon en dos categorías: variables dependientes de seguimiento: variación de pH y variación de los azucares, para cada tratamiento del DCCR, teniendo constante la temperatura(17ºC), las variables de control final fueron : duración de la fermentación, grado alcohólico, pH final, cuyos resultados se muestran en el cuadro 24 y en la gráfica 20.

Acosta (2012), utilizó las mismas variables de seguimiento y variables de control final para evaluar la fermentación alcohólica para la producción de hidromiel. Según Macías (2018), el objetivo de la maceración fermentativa es la extracción de los compuestos polifenólicos, taninos de las pieles y la formación de la unión con antocianos (que se han logrado extraer en la fase prefermentativa) con los taninos. Requena (2015), indicó que en la maceración fermentativa el mosto pasa a ser un mosto alcohólico, donde a mayor concentración alcohólica, mayor extracción de polifenoles.

Una medida indirecta de la concentración de polifenoles y taninos es entonces el grado alcohólico, por ello en esta investigación se hizo la medición de los grados alcohólicos, pH final y la duración de la fermentación de los 11 tratamientos del DCCR, ya que la medición de estas variables es en la práctica por procedimientos sencillos comparado con otras variables respuesta que se podrían haber elegido (capacidad antioxidante, contenido de polifenoles)

Cuadro 21. Variación de pH, ºBrix para los Tratamientos 1, 2, 3, 4 del DCCR en la etapa de maceración fermentativa.

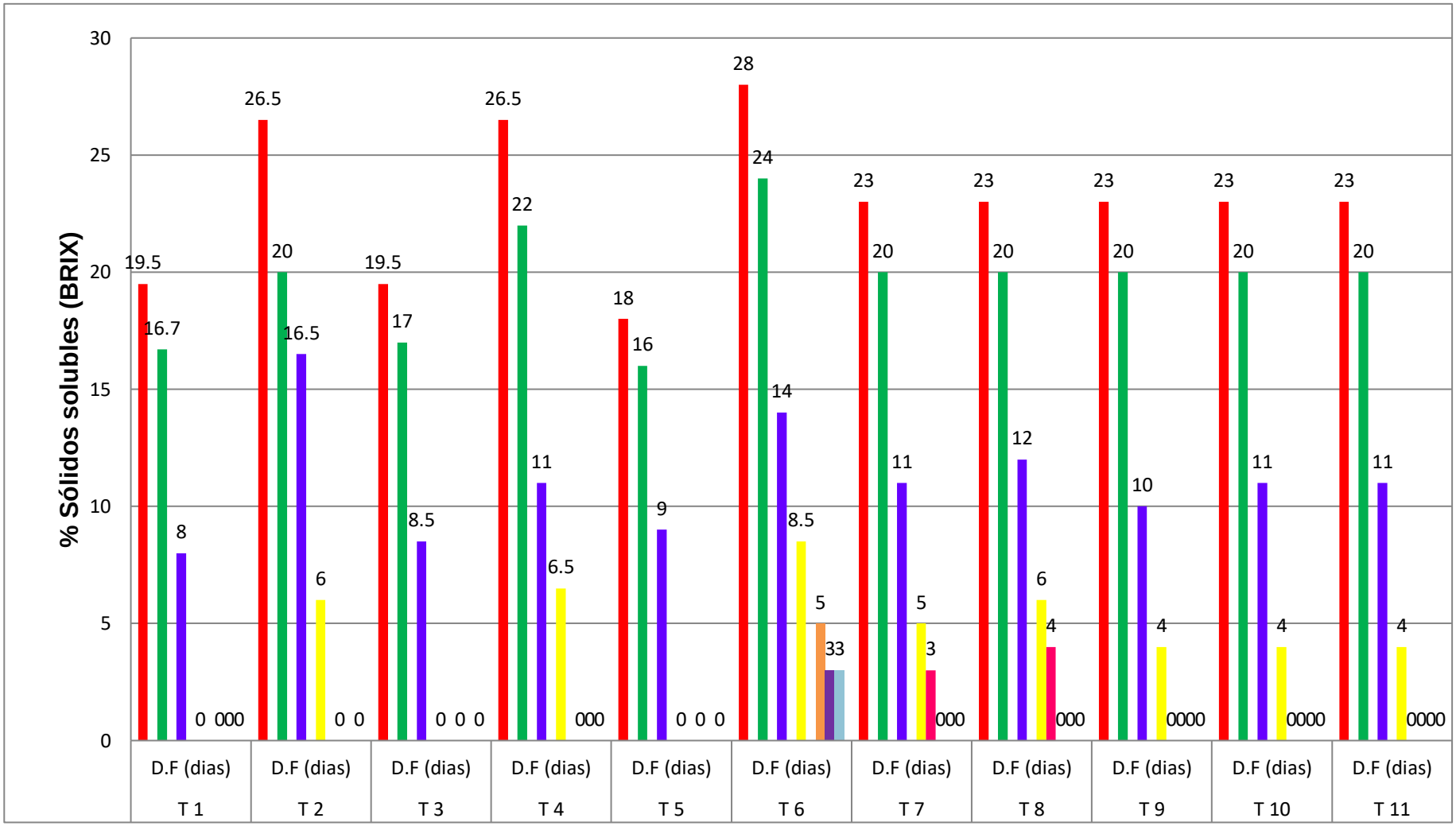
Días / Aná.	Tratamiento 1		Tratamiento 2		Tratamiento 3		Tratamiento 4	
	ºBrix	pH	ºBrix	pH	ºBrix	pH	Brix	pH
0	19.5	4.4	26.5	4.5	19.5	4.8	26.5	4.8
1								
2	16.7	4.4	20	4.5	17	4.8	22	4.7
3								
4	8	4	16.5	4.1	8.5	4.5	11	4.3
5								
6	0	3.68	6	3.7	-0	3.66	6.5	3.64
7								
8			0	3.65				
9							0	3.5
10								

Cuadro 22. Variación de pH y ºBrix para los tratamientos 5, 6, 7, 8 del DCCR en la etapa de maceración fermentativa

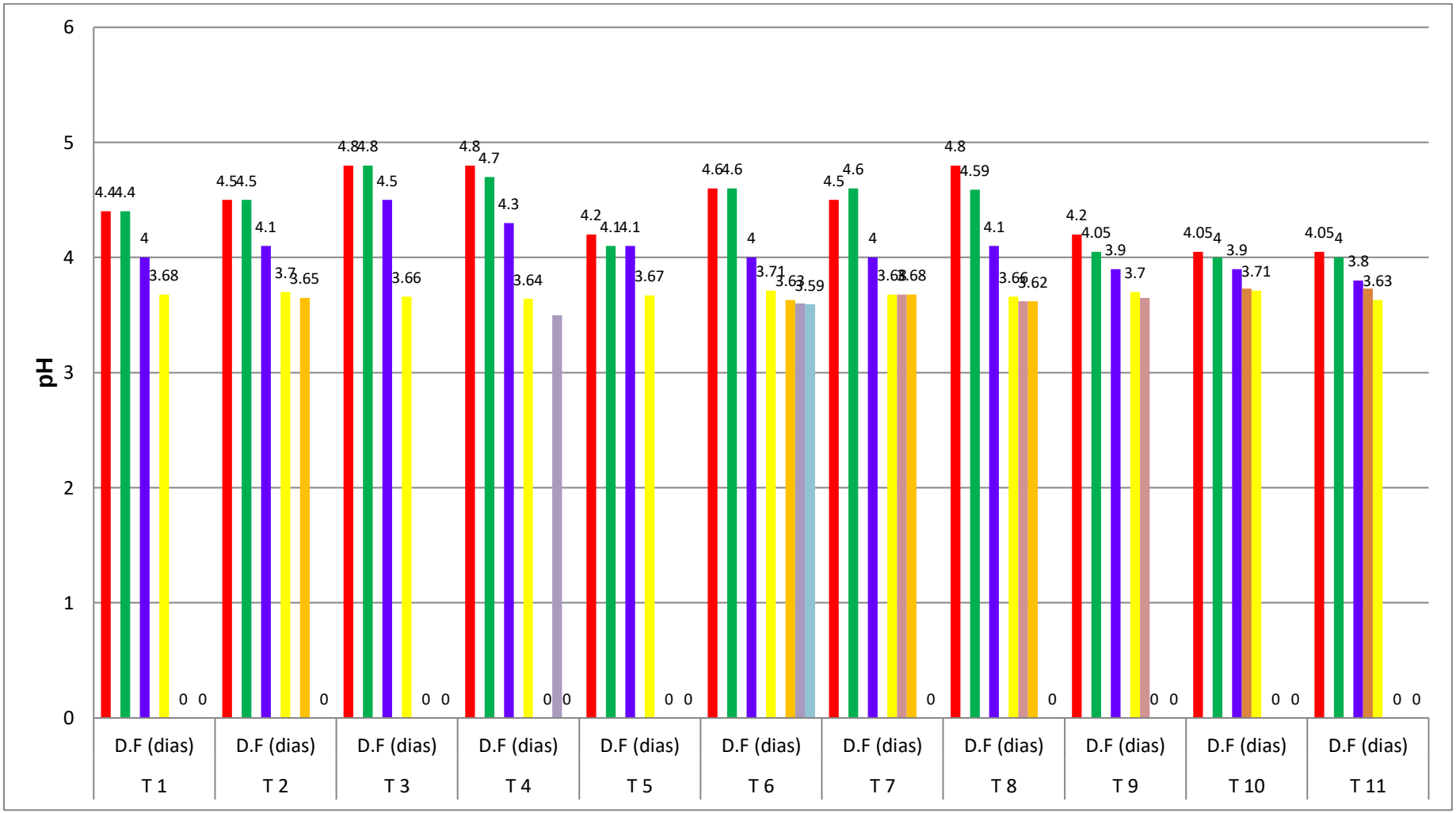
Días /	Tratamiento 5		Tratamiento 6		Tratamiento 7		Tratamiento 8	
Aná.	ºBrix	pH	ºBrix	pH	ºBrix	pH	ºBrix	pH
0	18	4.2	28	4.6	23	4.5	23	4.8
1								
2	16	4.1	24	4.6	20	4.6	20	4.59
3								
4	9	4.1	14	4	11	4	12	4.10
5								
6	0	3.67	8.5	3.71	5	3.68	6	3.66
7					3	3.68	4	3.62
8			5	3.63	0	3.68	0	3.62
9			3	3.60				
10			3	3.59				

Cuadro 23. Variación del pH, ºBrix para los Tratamientos 9,10, 11 en la etapa de maceración fermentativa

Días / Aná.	Tratamiento 9		Tratamiento 10		Tratamiento 11	
	ºBrix	pH	ºBrix	pH	ºBrix	pH
0	23	4.2	23	4.05	23	4.05
2	20	4.05	20	4.00	20	4.00
4	10	3.9	11	3.9	11	3.8
6	4	3.7	4	3.73	4	3.73
7	0	3.65	0	3.71	0	3.63



Grafica 19. Variación de los Sólidos Solubles (Brix) Vs Tiempo



Gráfica 20. Variación del pH versus Tiempo

Cuadro 24. Grado alcohólico final, pH final versus duración de la fermentación.

Tratamientos del DCCR	Resultados del análisis (media +De, n=3)		
	Duración (días)	ºGA	pH
1	6	9.8±0	3.68
2	8	11±0.3	3,65
3	6	10±0	3.66
4	9	11±0	3.55
5	6	9 ±0	3.67
6	10	12.6 ±0	3.49
7	08	9 ±0	3.68
8	08	10±0	3.62
9	07	9 ±0	3.65
10	07	9 ± 0	3.73
11	07	9±0	3.6

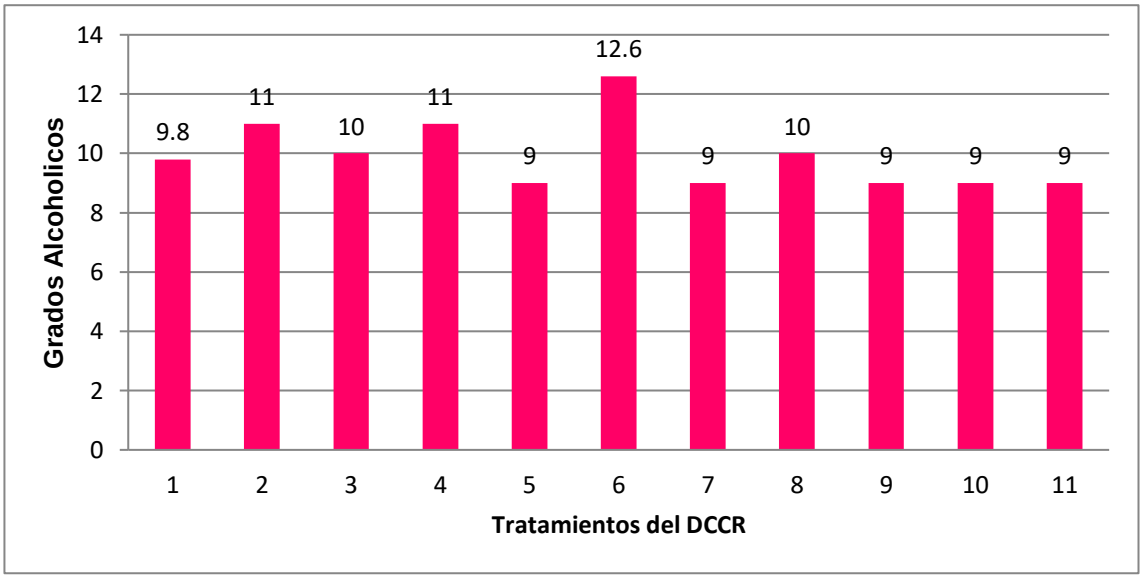


Gráfico 21. Grados Alcohólicos finales Vs Tratamientos del DCCR

Teniendo constante la temperatura 17 ºC, la dosis de levadura, el empleo de pie de cuba, se observó en los cuadros 21, 22,23, gráfico 18 que los tratamientos tiene un porcentaje de azucares desde 18 % (T5) y 28 % (T6) ambos tratamientos tuvieron el mismo % de nutriente 0.25g/l, se observa que el T6 tuvo 12.6 grados alcohólicos y 10 días de duración y el T5 tuvo 6 días de duración de la fermentación (gráfico 20 y gráfico 19), se concluyó que el mayor % de azúcar influye en el grado alcohólico más azúcar y cantidad moderada de nutriente, mayor grado alcohólico, más polifenoles se extrae. En el gráfico 20 y cuadro 24 se observa claramente que el grado alcohólico de los otros tratamientos es menor comparado con el T6 ; en la gráfica 19 se observa que todos los tratamientos tiene un pH final dentro del rango establecido por la norma técnica nacional que señala un pH entre 3.3 y 3.6 y que cuanto más bajo es el pH de arranque de la fermentación y % de nutrientes (T1) es más corta la duración de la fermentación, en el caso de T3 comparado con el T1 es el mismo % de solidos solubles19.5 % pero 2.45 veces más nutriente se acelera la duración de la fermentación, se concluye que un exceso de nutriente disminuye el tiempo de la fermentación y sirve de amortiguador para que no baje el pH a valores indeseables y protege a las levaduras de la temperatura baja (17°C), y que cuando más bajo es el pH de arranque de la fermentación la duración de la fermentación es menor en días como en el tratamiento 1, si unido a esto la concentración de nutriente es mayor se observa una menor duración de la fermentación tal como se observa en el tratamiento 3 (cuadro 21) dado que las

levaduras se encontrarían con una alta concentración de nutriente que amortiguaría el descenso del pH y da protección a las levaduras de la baja temperatura. Los T2 y T4 tuvieron 8 y 9 días de duración de la fermentación, los T1,T3,T5, tiene 6 días y T 7,T8,T9,T10,T11, tienen 8, 8, 7,7,7 días respectivamente (gráfico 18) . Estos resultados demuestran que la maceración fermentativa llevada a cabo en el tratamiento 6 fue adecuada con el uso del nutriente y concentración de sólidos solubles para lograr la máxima extracción de polifenoles. La duración de la fermentación se ve influenciado por el pH del tratamiento y la cantidad y calidad de nutriente adicionado.

Acosta (2012), utilizó como único nutriente fosfato de amonio (nutriente destinado para la agricultura) cuya composición es de nitrógeno amoniacal, sin vitaminas en dosis de 40 - 80 y 0 g/100 l de mosto de miel de abeja y levadura vínica Saccharomyces cerevisiae 20 g/hl, obtuvo 9.5 grados alcohólicos con una duración de la fermentación de 16 días por ello sus resultados no fueron óptimos a pesar que trabajo con temperatura de 25ºC, a diferencia de lo sucedido en esta investigación que uso V ACTIV, que es un nutriente enológico, que está compuesto de nitrógeno amoniacal, fosfatos y vitamina B con una dosificación de hasta 40 gramos por hectolitro, **Acosta (2012),** no elaboro pie de cuba y su fase de rehidratación fue de tres días, a concepto de la investigadora de este trabajo fue mucho tiempo dado que la fase de activación debe ser de 30 minutos y la incubación del pie de cuba debe ser máximo de 4 a 6 horas, evitando que el crecimiento celular pase a fase de desaceleración. Ficha técnica de Saccharomyces cerevisiae var. Bayanus.

Poma (2016), refiere una duración de la fermentación de 5 días, tiempo insuficiente para extraer principios activos lo cual podría deberse a que uso una alta temperatura y alta concentración levadura, bajo pH (3,5) de inicio que acelero la fermentación y no consiguió agotar los sólidos solubles.

Hidalgo (2011), citado por Galán (2018), indicó “que la mayor concentración alcohólica en el proceso fermentativo hará aumentar la extracción de los polifenoles, al ser el alcohol una sustancia destructora de los tejidos celulares y actuar como un gran disolvente”. El grado alcohólico está relacionado con el contenido polifenólico a mayor grado alcohólico mayor extracción de polifenólicos y si aumentan polifenoles aumenta la capacidad antioxidante.

Según Códax (2016), la mayor extracción de polifenoles en la maceración fermentativa se da a los diez días, es en este momento que los compuestos aromáticos y principios activos de los hollejos y pepitas pasan al mosto, lo cual está relacionado directamente al grado alcohólico obtenido en la investigación presentada y la duración de la maceración fermentativa.

En base a estos considerandos, técnicamente se determinó que el tratamiento 6 fue más adecuado para lograr una mayor extractibilidad de compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante.

4.3.1. Efecto de la concentración de nutriente y azucares en el pH

La Dilución 1:3 de la pasta de capulí un pH inicial de 4.7 y una concentración de azucares de 6.5 ºBrix tuvo que corregirse para llevar a cabo la maceración fermentativa, se ajustó el pH a 4 con ácido cítrico antes de la adición de azucares y nutriente, después de la adición de azucares y nutrientes para llegar a los parámetros señalados por DCCR ,el pH se incrementó a valores por encima de 4, Falcón Toscano y Rosales (2016), señalaron cambios drásticos de pH en la fermentación de una bebida fermentada de aguaymanto durante la maceración fermentativa cuando el pH de arranque fue menor a 4, llegando a incrementarse la acidez volátil a valores no deseados, por ello a criterio del investigador de este trabajo, ya no se volvió a corregir el pH y se continuo con la maceración fermentativa con los pH resultantes. **Macías (2018),** ratifica que “existe una relación inversa entre el pH y la acidez de una bebida fermentada”, se deduce que si el pH de arranque de la maceración fermentativa es bajo , puede haber parada de fermentación, incremento de la acidez volátil, lo cual no es conveniente organolépticamente, alargándose el tiempo de la fermentación, si se hubiera optado por corregir la acidez a 4 después de la adición de azucares y nutriente. El nutriente y el azúcar actuaron como tampones para evitar una drástica disminución del pH, logrando que el tiempo de fermentación alcance 10 días y permitió una mayor extracción de compuestos polifenólicos en la bebida fermentada que se obtuvo.

Tenorio *et al.* (2014), afirmó que “La acidez es una característica de los vinos, es un atributo, ya que, de su nivel, depende gran parte el equilibrio gustativo”. El

adecuado nivel de acidez mejora la sensación gustativa. En la bebida fermentada que se obtuvo se alcanzó un pH de 3.59 y grado alcohólico 12.6 dentro de los parámetros que señala la norma técnica peruana. 212.014 (2011). Tenorio *et al*. (2014) indicó que el pH en un vino tinto debe estar entre 3.3 y 3.6 y una acidez entre 0.6 y 0.9 expresado en ácido acético

4.3.2. Influencia de la concentración de nutriente y azucares en la variación de los ºBrix durante la maceración fermentativa.

Observando el comportamiento de la variación de los ºBrix en la etapa de la maceración fermentativa versus la duración de la fermentación para los 11 tratamientos (grafico 18) las levaduras alcohólicas pueden vivir en un rango de 18 ºBrix hasta 28 ºBrix (Poma 2016). Al hacer el ajuste con el azúcar blanca refinada y el nutriente V ACTIV de acuerdo a los tratamientos del DCCR se aumenta la concentración osmótica y se incrementó el pH, pero no fue a valores mayores de 4,7 que hubiera sido indeseable, en los casos en que fue excesivo el nutriente T3,T4,T8 (35,5, 40 g/Hl se aceleró la fermentación pero el pH no bajo a valores indeseables, lo que demostró que el nutriente sirve de amortiguador evitando el drástico descenso del pH, como se observó, en los cuadros 21,22,23 y grafico 19, Para esta corrida ya no se ajustó nuevamente el pH por que el proceso de fermentación es un proceso de cambios bioquímicos que tienden a bajar el pH. Falcón, Toscano y Rosales (2016), reportaron cambios drásticos en el pH en la fermentación alcohólica de una bebida fermentada de aguaymanto llevada a cabo a la temperatura de 17ºC sin nutriente. Al parecer el nutriente sirvió como un amortiguador del pH, de lo contrario el pH final de la bebida fermentada hubiera sido más bajo lo cual podría haber incrementado la acidez volátil, por ello a criterio del investigador se prefirió conducir la fermentación con los pH resultantes. En este caso la corrección del pH hubiera sido preferible efectuarla después de la adición de los azucares y nutrientes al mosto, pero había la dificultad de que se tenía que corregir 11 mostos de los 11 tratamientos del DCCR. Cuando mayor es la concentración de azucares y nutrientes más alto es el pH de arranque de la fermentación. En el trabajo de **Poma (2016**), reportó que utilizo tres concentraciones de levadura Saccharomyces cerevisiae bayanus 0.2, 0.5, 0.8

g/litro, (siendo la recomendación del fabricante el uso de 0.2 a 0.40 g/l), llevando la fermentación a temperatura de 25ºC, no uso nutriente, ni maceración prefermentativa, ni pie de cuba, en sus resultados no llego a agotar los azucares fermentecibles ya que al final de la fermentación obtuvo 8, 7 y 5 ºBrix, lo cual ratifica la importancia del uso de nutrientes y el pie de cuba. En mostos de fruta que no tienen los suficientes nutrientes como proteína que si tiene los mostos de uva. El empleo del pie de cuba, la concentración del nutriente, y la concentración adecuada de azucares en la investigación que se presenta tuvo un efecto protector en el desarrollo de la fermentación favoreciendo el consumo de los azucares fermentecibles porque no hubo parada de fermentación, ni azucares residuales aún a la temperatura de 17ºC, lo cual podría deberse al empleo del pie de cuba. Según **Macías (2018),** el pie de cuba "es un cierto volumen de mosto en plena fermentación (levaduras en fase exponencial de crecimiento"), que al inocularse al mosto metabolizan y agotan los azucares fermentecibles por la mayor población a diferencia de cuando no se emplea el pie de cuba llegan menos levaduras al mosto y la duración de la fermentación se hace más lenta, probablemente muerte de algunas levaduras que no se adaptan rápidamente a las nuevas condiciones de temperatura, pH, ºBrix etc. Se sabe que la temperatura óptima para la fermentación alcohólica es de 25ºC, pero esta temperatura a las condiciones climáticas de Huaraz y bajo sombra no se logra. **Acosta (2012),** reportó que realizó la evaluación de la fermentación alcohólica de un mosto de miel de abeja, uso como nutriente fosfato de amonio en dosis de 80, 40, 0 mg por litro de mosto a 17, 19 , 22 ºBrix, y tres tipos de levadura no empleo pie de cuba, uso una dosis de 0.3 g/l de levadura/l de mosto, en sus resultados al comparar la fermentación con la levadura Saccharomyces cerevisiae variedad bayanus semejante a la usada en la investigación encontró que la muestra sin nutriente alcanzo el más bajo nivel de alcohol y que dosis bajas de nutriente (4-8 g/litro) generan poco alcohol lo cual ratifica que el nutriente es necesario para la actividad de la levadura, pero un exceso puede inhibir el crecimiento microbiano por aumento de la presión osmótica y sales, generando menor grado alcohólico, lo cual es compatible con los resultados de la investigación con la misma levadura. En el caso del consumo de sólidos solubles encontró que a menor ºBrix del mosto mayor

grado alcohólico lo cual difiere de la investigación dado que se encontró mayor grado alcohólico a la mayor concentración de azucares, se podría explicar debido al efecto amortiguador del nutriente V ACTIV de la investigación que da protección a las levaduras de la baja temperatura y la menor concentración de nutriente (O.25 g/l) y su composición no solo en fuente proteica, si no que a la vez le aporta vitaminas, sustancias polifenólicos, antocianos y otros, propias de la composición de la pasta del capulí a pesar de la diferencias de temperatura 17ºC frente a 25ºC reportados por **Acosta, (2018**).

4.3.3. Contrastación de la hipótesis central de la investigación planteada con los resultados experimentales de la investigación.

La hipótesis central fue: La dilución 1:2 (pasta de capulí / agua), 22ºBrix y concentración de 0.3 g/l de nutriente presentará las mejores características fisicoquímicas, organolépticas y funcionales en la bebida fermentada elaborada con Capulí con maceración prefermentativa. Al contrastar los resultados experimentales se rechazó la hipótesis central dado que no se cumplió en la práctica, debido a que el tratamiento que presentó las mejores características fisicoquímico, organolépticas y funcionales fue el tratamiento 6 que se llevó a cabo con 28% de sólidos totales, dilución 1:3, concentración de nutriente 0.25g/l. Esta afirmación se corrobora con los análisis funcionales, fisicoquímicos, organolépticos y los resultados experimentales que se presentaron en los cuadros 21, 22, 23. López (2008), citado por Espinoza (2018), al referirse a este aspecto de demostración de la hipótesis lo explica de la siguiente manera «La demostración, como procedimiento metodológico, es el proceso de determinación de la verdad mediante acciones teóricas - prácticas suficientes y convincentes». Señaló además que la sola percepción no funciona para la demostración, se tiene que comprobar, mediante acciones prácticas o la operación de manipulación de objetos reales, con datos obtenidos suficientemente para considerarse demostrada.

Moreno (2013), al respecto de la demostración indicó que las hipótesis científicas deben ser probadas para tomar decisión (rechazarlas o aceptarlas) de acuerdo a lo que el investigador observe en la realidad, señala que si las

hipótesis no se aceptan, no acredita que la investigación no tenga sentido, de hecho el no cumplimento de la hipótesis en una Investigación al igual que su comprobación aumenta el conocimiento. En el caso de esta investigación se ha puesto a prueba la hipótesis con los experimentos realizados se ha observado los fenómenos y se han utilizado los instrumentos de medición y pruebas estadísticas, a través de operaciones observables, documentación y se ha demostrado en base a ello que la hipótesis era falsa.

4.3.4. Resultados del Análisis estadístico del Diseño Central Compuesto Rotacional.

Para la evaluación de la influencia de la concentración de azucares y concentración de nutriente en la etapa de maceración fermentativa se utilizó un Diseño Central Compuesto Rotacional. En el cuadro 25 se presenta los tratamientos del DCCR y los resultados experimentales obtenidos en la medición de las variables dependientes duración de la fermentación, Grado alcohólico, pH final, como punto de partida para el análisis estadístico.

Cuadro 25. Tratamientos del DCCR, Factores, Variables independientes y dependientes Grado Alcohólico, duración de la fermentación y pH final.

	Factores		V. Independientes		Variables dependientes		
N° Tratamientos	X1	X2	ºBrix	Nutriente	duración de la fermentación	ºGA	pH final
1	-1	-1	19,5	14,5	6	9.8	3.68
2	1	-1	26,5	14,5	8	11	3.65
3	-1	1	19,5	35,5	6	10	3.66
4	1	1	26,5	35,5	9	11	3.5
5	- α	0	18	25	6	9	3.67
6	+ α	0	28	25	10	12.6	3.59
7	0	- α	23	18	8	9	3.68
8	0	+ α	23	40	8	10	3.62
9	0	0	23	15	7	9	3.65
10	0	0	23	15	7	9	3.71
11	0	0	23	15	7	9	3.63

En el cuadro 26 se ha interpolado estos valores en el paquete statistica 13.3

Cuadro 26. Variables independientes y resultados de las variables dependientes de control final por tratamiento del DCCR para el análisis con statistica 13.3

Standard Run	2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) + 1 center points				
	° Brix	**Nutrientes**	**Duración de la fermentación**	°GA	pHfinal
1	19.50000	14.50000	6.00	9.80	3.68
2	26.50000	14.50000	8.00	11.00	3.65
3	19.50000	35.50000	6.00	10.00	3.66
4	26.50000	35.50000	9.00	11.00	3.55
5	18.00000	25.00000	6.00	9.00	3.67
6	28.00000	25.00000	10.00	12.60	3.49
7	23.00000	18.00000	8.00	9.00	3.68
8	23.00000	40.00000	8.00	10.00	3.62
9 (C)	23.00000	15.00000	7.00	9.00	3.65
10 (C)	23.00000	15.00000	7.00	9.00	3.73
11 (C)	23.00000	15.00000	7.00	9.00	3.63

En el anexo 5 se presenta el procedimiento de interpolación en la pantalla del paquete de statistica 13.3.

A continuación, se presenta el ANOVA para la variable respuesta grado alcohólico.

Cuadro 27. ANOVA para el grado alcohólico

ANOVA; Var.:°GA; R-sqr=.91822; Adj:.83643 (2**(2) ce
2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.2251856
DV: °GA

Factor	SS	df	MS	F	p
(1)° Brix(L)	5.96207	1	5.962073	26.47627	0.003629
° Brix(Q)	3.56226	1	3.562256	15.81920	0.010559
(2)Nutrientes(L)	1.00713	1	1.007135	4.47247	0.088082
Nutrientes(Q)	0.59885	1	0.598848	2.65935	0.163871
1L by 2L	0.01000	1	0.010000	0.04441	0.841416
Error	1.12593	5	0.225186		
Total SS	13.76727	10			

El ANOVA particiona la variabilidad de Grado alcohólico en piezas separadas para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, 2 efectos tienen una valor-P menor que 0.05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 91.822% de la variabilidad en Grado alcohólico. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 83.643%. El error estándar del estimado de la muestra o la desviación estándar de los residuos es 0.2251856.

En el gráfico 22 se presenta la pantalla de statistica 13.3 para la variable dependientes ºGA y los factores ºBrix y Nutriente, en el gráfico se aprecia la función del modelo estimado y los valores aproximados al maximizar los valores de los factores para el grado alcohólico. Para el valor hallado experimentalmente de 12.6 de ºGA, el gráfico indica un ºBrix de 27 y un contenido de nutriente aproximado de 25 g/Hl (0.25g/l)

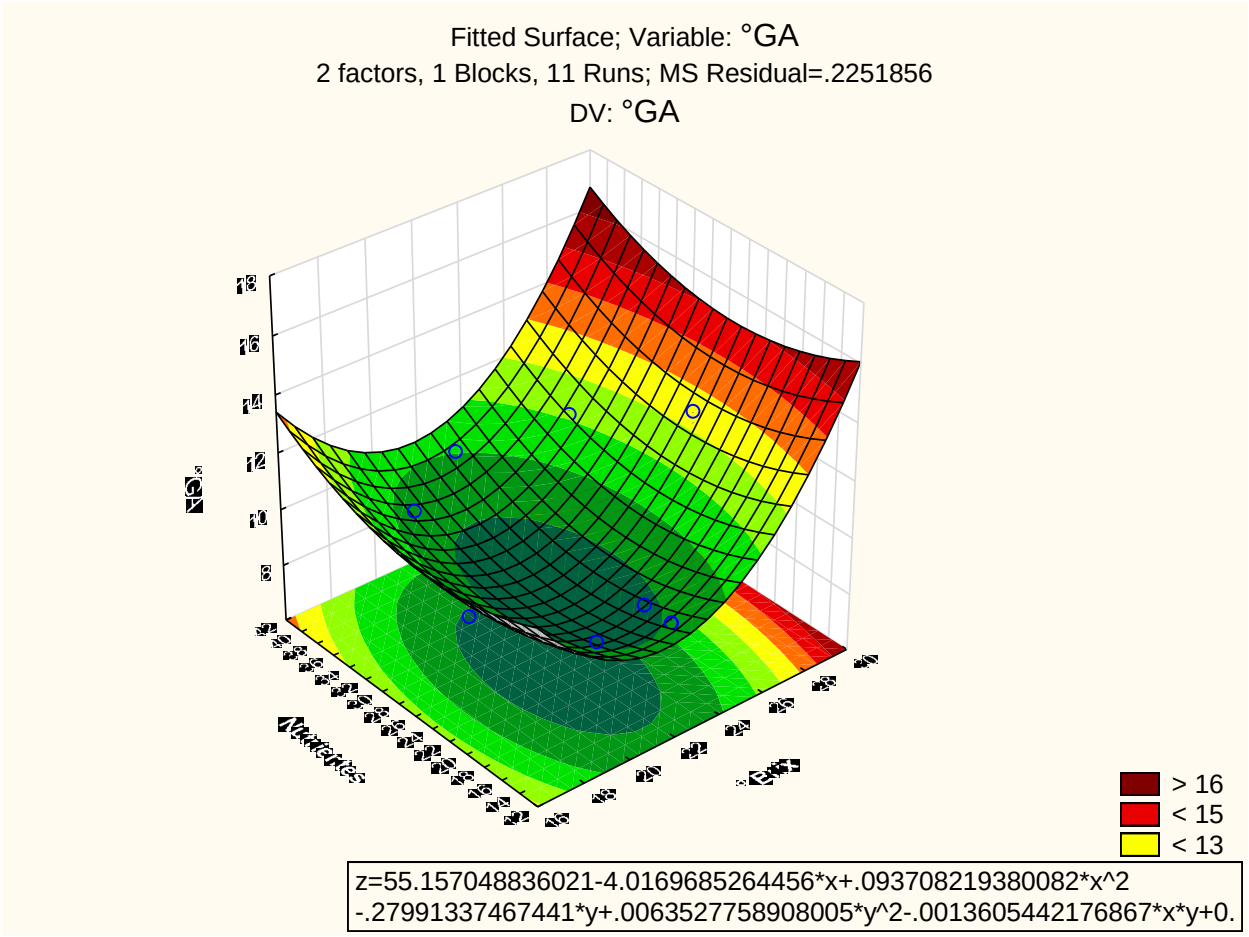


Gráfico 22. Función del modelo estimado y los valores aproximados de grado alcohólico a maximizar tridimensionalmente en función a la combinación de ºBrix y nutriente.

Para determinar el valor óptimo se observa el ºBrix aproximado de 27 y la cantidad aproximada de 0.25 g/l de nutriente se obtiene un valor óptimo de 12.153°GA

En el cuadro 28 se presenta los valores predictivos de la variable grado alcohólico.

Cuadro 28: Valores predictivos de la variable de control final grado alcohólico.

Predicted Value; Var.: GA; R-sqr=.918
2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Resid
DV: °GA

Factor	Regressn Coeff.	Value	Coeff. * Value
Constant	55.15705		
(1)° **Brix**(L)	-4.01697	27.000	-108.458
° **Brix**(Q)	0.09371	729.000	68.313
(2)**Nutrientes**(L)	-0.27991	38.000	-10.637
Nutrientes(Q)	0.00635	1444.000	9.173
1L by 2L	-0.00136	1026.000	-1.396
Predicted			12.153
-95.% Conf.			10.780
+95.% Conf.			13.526
-95.% Pred.			10.317
+95.% Pred.			13.989

Entonces el valor óptimo predicho del grado alcohólico es 12.153, como se indica en los resultados del cuadro 28, que resulta ser muy cercano al valor experimental hallado.

En el cuadro 29 se presenta el ANOVA para la variable dependiente pH.

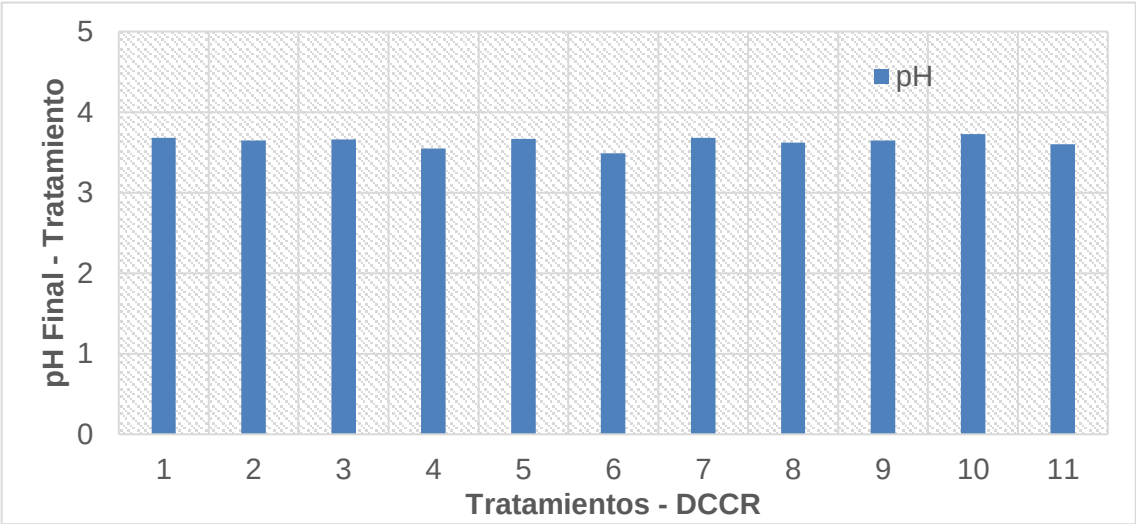
Cuadro 29: ANOVA para la variable dependiente pH final

ANOVA; Var.:pHfinal; R-sqr=.81651; Adj:.63302 (2**(2) c
2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.001608
DV: pHfinal

Factor	SS	df	MS	F	p
(1)° Brix(L)	0.021110	1	0.021110	13.12808	0.015167
° **Brix**(Q)	0.001583	1	0.001583	0.98468	0.366609
(2)**Nutrientes**(L)	0.003775	1	0.003775	2.34734	0.186066
Nutrientes(Q)	0.000298	1	0.000298	0.18539	0.684712
1L by 2L	0.001600	1	0.001600	0.99501	0.364316
Error	0.008040	5	0.001608		
Total SS	0.043818	10			

El cuadro 29 particiona la variabilidad de pH final para uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, hay 1 efecto que tiene una valor-P menor que 0.05, indicando que el ºBrix es significativo y diferente de cero con un nivel de confianza del 95%, el resto de las variables manipuladas no son significativas para la variable dependiente pH, dado que sus valores para los 11 tratamientos tiene mínima variabilidad como

se puede apreciar en la gráfica 23 y cuadro 23 los valores de la variable de control final pH van desde 3.49 a 3.73.



Grafica 23. Variación de la variable dependiente de control final pH vs tratamientos del DCCR.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 81.651% de la variabilidad en el PH final. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 63.302%. El error estándar estimado de la muestra o la desviación estándar de los residuos es 0.001608. Para determinar el valor óptimo de pH, usando los mismos valores de ºBrix aproximado de 27 y la cantidad aproximada de 25 g/hl de nutriente se obtiene un valor óptimo de 3.50955 de pH, tal como se observa en el cuadro 30.

Cuadro 30: Valores predictivos para el pH final

Predicted Value; Var.:pHfinal; R-sqr=. 2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Resic
DV: pHfinal

Factor	Regressn Coeff.	Value	Coeff. * Value
Constant	2.759432		
(1)° Brix(L)	0.090445	27.000	2.44200
° Brix(Q)	-0.001976	729.000	-1.44024
(2)Nutrientes(L)	0.002648	37.000	0.09799
Nutrientes(Q)	0.000142	1369.000	0.19404
1L by 2L	-0.000544	999.000	-0.54367
Predicted			3.50955
-95.% Conf.			3.40588
+95.% Conf.			3.61321
-95.% Pred.			3.36335
+95.% Pred.			3.65574

En el cuadro 31 se presenta el ANOVA para la variable dependiente de control final duración de la fermentación

Cuadro 31: ANOVA para la variable dependiente duración de la fermentación.

ANOVA; Var.:Duración de la fermentación; R-sqr=.9524; Adj:.90481
2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.1592294
DV: Duración de la fermentación

Factor	SS	df	MS	F	p
(1)° Brix(L)	14.07034	1	14.07034	88.36522	0.000230
° Brix(Q)	0.07645	1	0.07645	0.48014	0.519222
(2)Nutrientes(L)	0.27766	1	0.27766	1.74374	0.243878
Nutrientes(Q)	0.49768	1	0.49768	3.12557	0.137314
1L by 2L	0.25000	1	0.25000	1.57006	0.265603
Error	0.79615	5	0.15923		
Total SS	16.72727	10			

El ANOVA particiona la variabilidad de duración de la fermentación para cada uno de los efectos. Entonces prueba la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental. En este caso, existe 1 efecto que tiene una valor-P menor que 0.05, indicando que el ºBrix es significativo y diferente de cero con un nivel de confianza del 95.0%.

El estadístico R-Cuadrada indica que el modelo, así ajustado, explica 95.24% de la variabilidad en el pH final. El estadístico R-cuadrada ajustada, que es más adecuado para comparar modelos con diferente número de variables independientes, es 90.481%. El error estándar estimado de la muestra o la desviación estándar de los residuos es 0.1592294. Para determinar el valor optimo, usando los mismos valores de ºBrix aproximado de 27 y la cantidad aproximada de 25 g/Hl de nutriente se obtiene un valor óptimo de: 9.5228 días de fermentación, tal como se observa en el cuadro 32.

Cuadro 32: Valores predictivos para la variable dependiente duración de la fermentación

Predicted Value; Var.:Duración de la fermentación; R-sqr=.9524;
2 factors, 1 Blocks, 11 Runs; MS Residual=.1592294
DV: Duración de la fermentación

Factor	Regressn Coeff.	Value	Coeff. * Value
Constant	-8.59214		
(1)° Brix(L)	0.84021	27.000	22.6857
° Brix(Q)	-0.01373	729.000	-10.0077
(2)Nutrientes(L)	0.17755	37.000	6.5695
Nutrientes(Q)	-0.00579	1369.000	-7.9284
1L by 2L	0.00680	999.000	6.7959
Predicted			9.5228
-95.% Conf.			8.4913
+95.% Conf.			10.5544
-95.% Pred.			8.0681
+95.% Pred.			10.9776

El gráfico 24 muestra la pantalla de Statistica 13.3 la superficie del modelo estimado para las variables dependientes de duración de la fermentación, ºBrix y nutrientes.

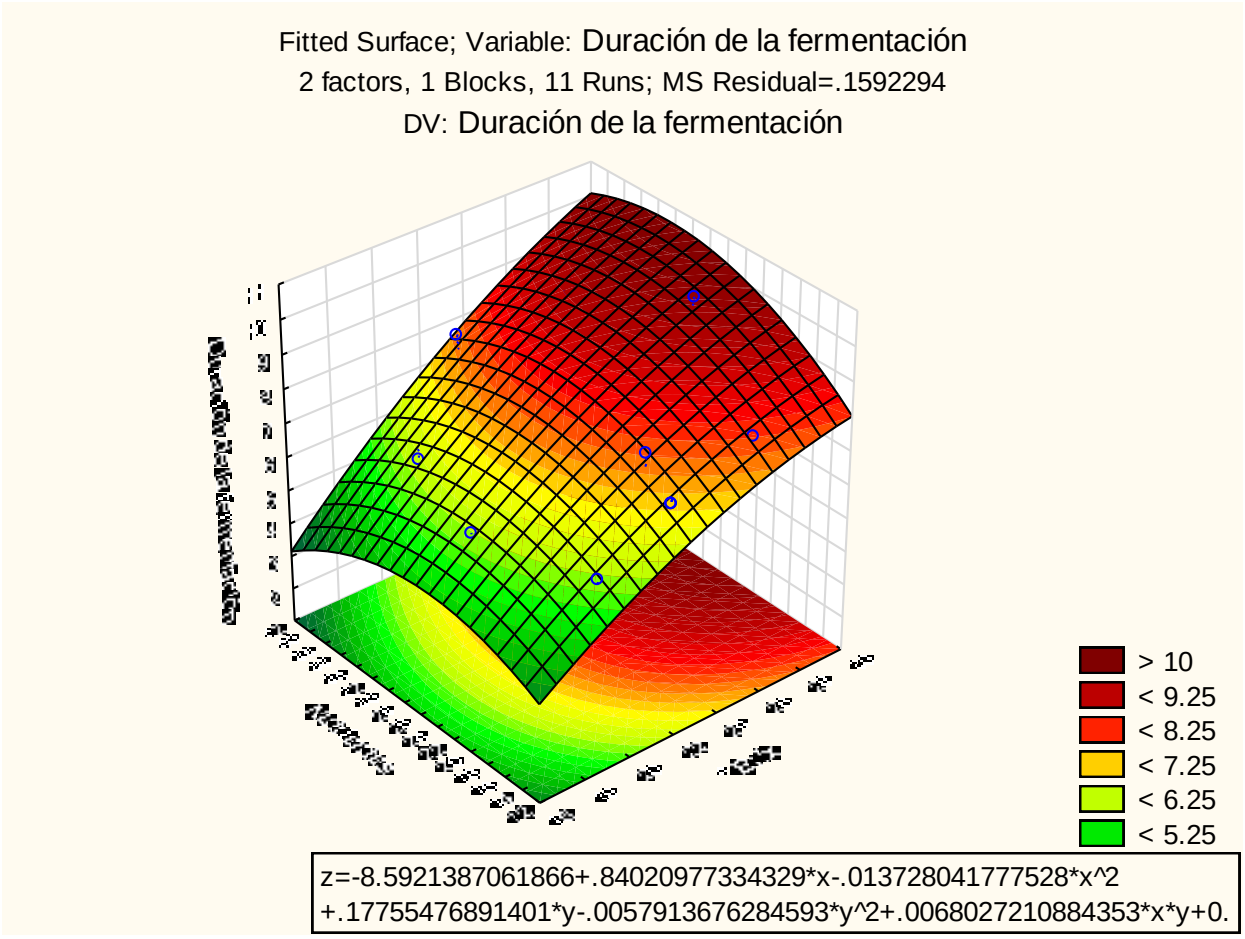


Gráfico 24. Superficie respuesta del modelo estimado para las variables dependientes ºBrix, nutrientes y duración de la fermentación.

Resumen del análisis del diseño estadístico en la pantalla de Statistica 13.3. En el cuadro 33 se presenta la captura de la pantalla de STATISTICA

Para determinar el valor optimo, usando los mismos valores de ºBrix aproximado de 28 y la cantidad aproximada de 25 g/Hl de nutriente se obtiene un valor óptimo de grado alcohólico de 12.153, 3.50955 de pH final y 9.5228 de días de fermentación; tal como se observa en el cuadro 32, esos resultados generan una combinación muy similar al del tratamiento 6; es decir que el tratamiento que se uso fue:

ºBrix	: 28
Nutriente	: 25 g/hl
Duración de la fermentación	: 10 días
Grado alcohólico	: 12.6
pH final	: 3.49

Se concluye que el tratamiento que mejor resultado ofrece en la fermentación con maceración fermentativa se da cuando el ºBrix es igual a 28 (280 g/l de sólidos solubles) y la dosis de nutrientes es igual a 25 g/hl de mosto, pH final 3.49 y duración de la fermentación de 10 días, todo esto con una seguridad de 95%.

4.4. Descripción del Diagrama de flujo de la elaboración de la bebida fermentada de capulí

En la gráfica 25 se presenta el diagrama de flujo de la elaboración de la bebida fermentada de capulí.

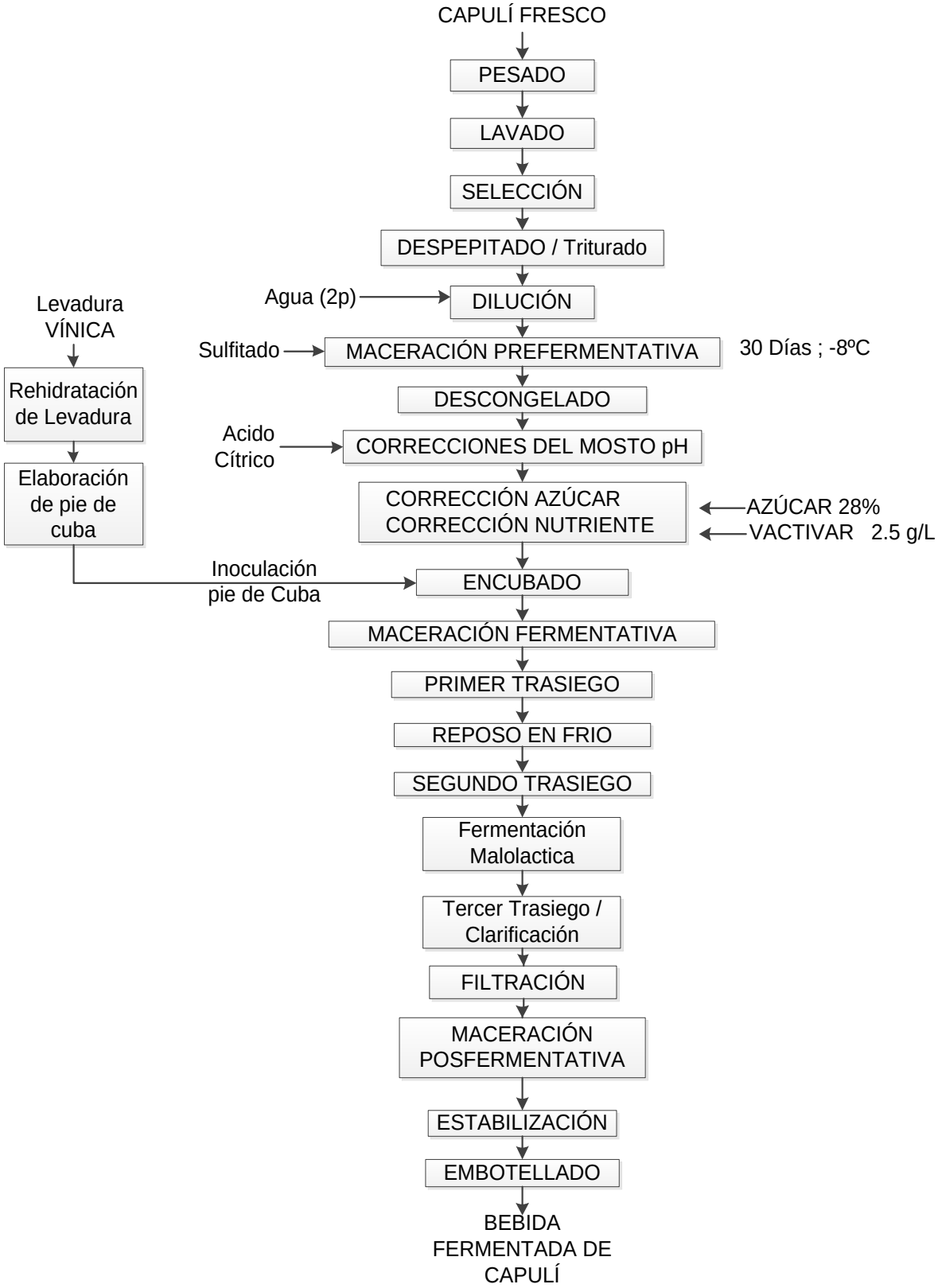


Gráfico 25. Diagrama de flujo de la bebida fermentada de Capulí (Prunus serótina)

DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

Pesado, lavado, selección del capulí (*Prunus serótina*):

El fruto del capulí se adquirió del Mercado de Huaraz, procedente de la provincia de Carhuaz, Ancash, se pesó.

El lavado se hizo con agua potable, a una concentración de 1 % de cloro sumergiendo los frutos por unos minutos y luego se enjuago con agua potable. Luego se hizo la selección en forma manual desechando los frutos verdes o alterados microbiológicamente.

Despepitado y Triturado manual

Se retiraron las pepas en forma manual apretujando el fruto hasta obtener una pasta (cascara y pulpa)

Dilución

Se tomó una parte de la pasta de capulí y se añadió dos partes de agua potable se mezcló convenientemente.

Sulfitado

Se agrego sulfito de sodio en la dosis de 5 g/100 l de dilución.

Maceración prefermentativa

La dilución 1:3, se guardó en recipiente herméticamente cerrado a la temperatura de -º8C por 30 días.

Descongelado. El envase se dejó a temperatura ambiente hasta que se descongelo.

Adición de azúcar y nutriente. Se le agrego azúcar hasta los 28ºBrix, y se añadió el nutriente 0,25g/litro

Corrección del pH

El pH se corrigió a 4 con ácido cítrico.

Sulfitado. Se añadió sulfito de sodio (0.05g/l) y se dejó en reposo por 4 horas

Encubado e inoculación del pie de cuba

El mosto corregido se depositó en un frasco de vidrio y se inoculo con el pie de cuba preparado con mosto estéril y levadura rehidratada 8 g/100 ml., de jarabe a 5 ºBrix para un volumen final de 20 litros de mosto. Pie de cuba dos litros.

Maceración fermentativa

El mosto inoculado se deja fermentar hasta que consuma los sólidos solubles fermentecibles. (Vinificación en tinto)

Reposo 48 horas

Para que continúe la extracción de taninos y polifenoles a temperatura ambiente de 17ºC**.**

Primer trasiego.

Se hizo el descube, utilizando una manguera para retirar el sobrenadante, como el mosto alcohólico se encontraba turbio se mantuvo a temperatura de refrigeración en la siguiente operación.

Reposo de 48 horas en frio. El mosto alcohólico se mantuvo a 4ºC para precipitación de partículas en suspensión.

Segundo trasiego y filtración. Se retiro el sobrenadante y se filtró con una manga filtrante de 5 micras y se depositó en envases de 4 litros de capacidad tipo bordelesa herméticamente cerrado y en condiciones de anaerobiosis.

Fermentación maloláctica.

Se reposó la bebida fermentada a temperatura ambiente a 17ºC por 21 días en un lugar oscuro. Durante este periodo se aumenta teóricamente el contenido de glicerina y disminuye la acidez volátil. Al cabo de este tiempo se notó una película de grasa en la superficie de la bebida fermentada que se retiró con una cuchara. También se observó una ligera gasificación en la bebida fermentada. No obstante, la bebida fermentada se mostró bastante trasparente.

Tercer trasiego y clarificación.

Se retiró el sobrenadante, se añadió el clarificante, se disolvió la bentonita con 10 veces su peso en agua, se amasó y se dejó en reposo por 4 horas y se añadió a la bebida fermentada con 0.2g/l de sulfito de sodio y se agitó fuertemente y se dejó en reposo 72 horas a temperatura de 5ºC.

Filtración.

Se filtró el sobrenadante con una manga filtrante de 5 micras.

Maceración posfermentativa

La bebida fermentada se guardó en un recipiente herméticamente cerrado previa adición de chips de roble francés de tamaño medio de tostado ligero en la dosis de 10 g/hl y se agregó taninos en la dosis de 3 g/hl. Se mezcló convenientemente y se dejó en reposo por seis meses. Ambos productos fueron Adquiridos de APARCANA, las dosis empleadas fueron recomendadas por la misma empresa.

Estabilización

Comprendió tres operaciones para darle acabado a la bebida fermentada

1. Trasiego y filtración con manga filtrante a 5 micras.
2. Estandarización. Se añadió 0.4 g/ de estevia por litro
3. Estabilización microbiológica se añadió 10 g/de sorbato de potasio por litro de bebida fermentada.

Embotellado.

La bebida fermentada se vertió en botellas de 500 ml de capacidad.

Todo el proceso fue en frio, para no alterar las propiedades funcionales, se observó un cambio de color en el mosto de fermentación a pH 4 el color es oscuro al inicio de la fermentación antes del proceso fermentativo como el color del capulí, cuando el pH se midió al final de la fermentación alcohólica, el color había virado a marrón pálido por efecto del pH final que fue de 3.49.

Observando el flujo de elaboración de la bebida fermentada, se hicieron tres operaciones de maceración: maceración prefermentativa, maceración fermentativa y maceración posfermentativa, dando como resultado una bebida fermentada con mayor capacidad antioxidante, contenido polifenólico tal como se indica en los cuadros 34, 35. La clarificación y estabilización final se realizó para asegurar su conservación en el tiempo, limpidez y evitar refermentación. Se uso un conservador permitido por la legislación sorbato de potasio en dosis mínima ya que según la norma técnica para vinos se puede usar hasta 30 gramos por hectolitro. Aunque el grado alcohólico final después de la maceración posfermentativa garantizaría la no refermentación, el hecho de que se aplicara un procesamiento artesanal, no se usó filtro de placa por el volumen obtenido.

En la gráfica 26 se presenta la fotografía de bebida fermentada de capulí que se obtuvo en la investigación.



Grafica 26. Bebida fermentada de capulí obtenida en la Investigación

4.5. Características fisicoquímicas funcionales y aceptabilidad de la bebida fermentada de capulí obtenida en la fase de escalamiento después de la fase de crianza de seis meses. En el cuadro 33 se presenta la caracterización fisicoquímica de la bebida fermentada de capulí.

Cuadro 33. Análisis Fisicoquímico de la bebida fermentada de capulí.

Análisis	**Resultados**	**Limites[1]**
Grado alcohólico min.	12.83±0.169	10. 13 Min. 20ºC.
Acidez acética volátil g/l ácido acético	0.673± 0.0047	1.80 Max.
º Brix	0.33±0.47	8 Max.
Acidez total g/l ácido tartárico	3.833±0.047	9 Max.
pH	3.49± 0.0047	4 Max..
Metanol (ppm)	179.6±0.471 mg	300 mg. Max

Del cuadro 33 se puede observar que cumple con los requisitos de los vinos de tintos, el contenido de metanol está dentro del rango permitido por la Norma Técnica Peruana 212.014 (2011). (Anexo 6) Así también el incremento del ºGA en 0,23 unidades respecto a la bebida fermentada obtenida después de la fermentación se debe a que durante este periodo se produjo una ligera contracción del volumen y consumo el azúcar residual, probablemente un aumento en su capacidad antioxidante por efecto de la extractibilidad de antocianos proporcionado por la astilla de roble y los taninos adicionados, tanto el pH como la acidez volátil, acidez total se encuentran dentro del rango permitido. El ºBrix final menor a 1 permitió calificar como un vino seco, por lo que se le adiciono estevia 0.3 g/l para endulzar el vino ligeramente y hacerlo más atractivo al paladar.

4.5.1. Características funcionales de la bebida fermentada de capulí del Tratamiento 6 del DCCR.

Cuadro 34. Análisis funcionales de la bebida fermentada de capulí

Análisis	Resultados
Capacidad antioxidante (umol E trolox/100ml)	1913.039±0.021
Polifenoles mgGAE /100ml	118.59 ± 0.03

En el anexo 7 se presenta el procedimiento seguido para la cuantificación de las características funcionales.

4.5.2. Análisis funcionales de la bebida fermentada de miel y Capulí (patrón comercial) elaborada por la empresa Márquez de Aranjuez de la ciudad de Andahuaylas-Perú.

Para tener un patrón de referencia en el cuadro 35 se presentan los análisis de capacidad antioxidante por el método del DPPH y contenido de polifenoles de una bebida comercial de capulí, los resultados fueron menores que los encontrados en la bebida fermentada de la investigación.

Cuadro 35. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de la bebida fermentada de miel y capulí (patrón comercial)

Análisis	Resultados
Capacidad antioxidante (umol E trolox/100ml)	1424.436 ± 0.012
Contenido de polifenoles (mgGAE /100ml)	68.85 ± 0.06



Grafica 27. Patrón comercial. Bebida fermentada de miel y Capulí.

Comparando los resultados la bebida fermentada de la investigación obtuvo valores más altos de capacidad antioxidante y contenido de polifenoles que el patrón comercial bebida fermentada de capulí y miel de abeja.

De acuerdo con lo reportado por Muñoz *et al.* (2007), los valores de capacidad antioxidante de 13 vinos peruanos estuvieron entre 32 a 873 µMET/l por el método del DPPH y en la investigación se encontró 1913.039/100ml, en un litro seria 19,130 UmolET/l valor mucho mayor que acredita que la bebida fermentada de capulí tiene un alto valor de capacidad antioxidante.

Gutiérrez (2017), encontró 1019 mg/l de contenido polifenólicos que comparado con la investigación 118,59 /100 ml, por litro seria 1180.9 que acredita un alto valor de contenido polifenólicos, el contenido alcohólico aumenta la extractibilidad de los compuestos polifenólicos y según APARCANA SAC (2019), la crianza sobre tanino y astillas de roble ceden compuestos polifenólicos. **Vazallo (2017),** confirma que durante la crianza y envejecimiento

en botella los taninos comerciales aplicados enriquecen el contenido polifenólico, protoantocianidinas, taninos hidrolizables y ácidos fenólicos, catequinas, epicantina, flavonoles lo cual explicaría el aumento de la capacidad antioxidante de la bebida fermentada de la investigación. **Gutiérrez (2017)** encontró un rango de 1238,1032, y 717 µmolTE/l (método ABTS) en vinos tintos macerados con semillas por 84 días de crianza, en la investigación se reporta 1913 umolET/100ml, en un litro 19113 umolET/L lo cual indica que la bebida fermentada de capulí tiene 15.45 veces más capacidad antioxidante que el vino tinto macerado con semillas de uva que reporta Gutiérrez (2017). Muñoz *et al.* (2007), indicaron que esta información sobre la capacidad antioxidante de los vinos debe de informarse en el rotulo de las bebidas fermentadas para que los consumidores tengan mayor aceptación y promoción para el consumo bebidas fermentada de capulí. Se debe considerar que las bebidas fermentadas de capulí o de otra fruta durante su procesamiento no destruyen sus propiedades nutraceúticas, las incrementan pues la fermentación mantiene la integridad de los principios activos, tal como indica la cátedra extraordinaria de bebidas fermentadas (2013) y Jiménez (2019).

4.5.3. Evaluación sensorial. Prueba de aceptabilidad.

En el cuadro 36 se presenta el resultado de la evaluación del color olor y sabor, limpidez obtenido por evaluación de 30 panelistas no entrenados. Respuestas utilizando una escala hedónica de 7 puntos. En el anexo 9 se presenta el formato de evaluación sensorial.

Cuadro 36. Análisis sensorial prueba de aceptabilidad utilizando escala hedónica de 7 puntos

Panelista	Puntuación según la escala hedónica			
Número	**Color**	**Sabor**	**Olor**	**Limpidez**
1	5	5	5	7
2	6	5	6	6
3	6	5	6	7
4	6	5	6	6
5	6	6	6	6
6	6	6	5	6
7	7	7	6	6
8	7	5	6	6
9	3	5	5	7
10	7	7	7	6
11	6	5	6	7
12	6	5	5	6
13	6	7	6	6
14	6	5	6	6
15	6	6	6	7
16	7	6	6	7
17	5	5	5	7
18	6	6	5	7
19	7	6	6	7
20	6	6	6	7
21	6	6	5	6
22	6	5	6	6
23	6	5	5	7
24	5	6	6	7
25	6	6	6	7
26	5	6	6	7
27	6	6	6	7
28	7	5	5	6
29	7	6	5	7
30	6	6	5	7

Análisis estadístico e interpretación.

Se realizó el análisis estadístico en base a dos hipótesis

H0: Mean = 5.00 vs. H1: Mean > 5.00

H0 el promedio de la aceptabilidad es igual a 5

HI el promedio es mayo a 5.

Se realizó la prueba de hipótesis de un promedio

En el cuadro 37 se presenta la distribución T-student

Cuadro 37. Prueba de T student para el análisis sensorial de la bebida fermentada de capulí.

Variable	N	Mean	Standard Deviation	95% Confidence	t	df	p-Value
COLOR	30	6.000	0.830	5.742	6.595	29	0.000
SABOR	30	5.667	0.661	5.462	5.525	29	0.000
OLOR	30	5.667	0.547	5.497	6.679	29	0.000
LIMPIDEZ	30	6.567	0.504	6.410	17.026	29	0.000

Realizando la prueba de hipótesis de un promedio usando la distribución t - student, se aprecia que los puntajes del color, sabor, olor y limpidez, en promedio son superiores a 5, y teniendo una calificación de 1 a 7, podemos concluir que es muy aceptable el producto elaborado a una confianza de 95%.

4.5.4. Calificación estética de la bebida fermentada de capulí.

En el cuadro 38 se presenta los resultados de la calificación estética de la bebida según Jackson (2009).

En el anexo 10 se presenta el formato de evaluación de la calificación estética de la bebida.

Cuadro 38. Calificación estética de la bebida fermentada de capulí.

Panelista Nº	Calificación
1	14
2	13
3	12
4	15
5	16
6	15
7	14
8	14
9	16
10	16
11	17
12	16
13	14
14	15
15	16
16	16
17	16
18	16
19	16
20	15
21	14
22	15
23	17
24	12
25	16
26	16
27	16
28	15
29	16
30	14

Análisis e interpretación estadística de la bebida terminada.

Se plantearon dos hipótesis:

H0: Mean = 14.00 vs. H1: Mean > 14.00

Cuadro 39. Estadística de la prueba de calificación estética**.**

Variable	N	Mean	Standard Deviation	95.00% Confidence	t	df	p-Value
Calificación	30	15.100	1.296	14.698	4.649	29	0.000

Realizando la prueba de hipótesis de un promedio usando la distribución t - student, se aprecia que las calificaciones estéticas de la bebida fermentada de capulí son superiores a 14 en promedio, y teniendo una calificación de 1 a 17, podemos concluir que es muy aceptable el producto elaborado a una confianza de 95% en cuanto a la estética.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1.- Se logró la caracterización fisicoquímica, químico proximal y funcional de la pasta de capulí cuyos resultados demuestran que es un alimento nutracéutico con aptitud para la elaboración de la bebida fermentada.

2.- La maceración prefermentativa a temperaturas de congelación y por un tiempo de 30 días permitió extraer la mayor cantidad polifenoles y mayor intensidad de color de la pasta de capulí. (*Prunus serótina*)

3.- La influencia de la concentración de azucares y concentración de nutriente tiene efecto directo en el tiempo de la maceración fermentativa, a mayor tiempo de fermentación mayor grado alcohólico, mayor extractibilidad de compuestos polifenólicos, mejorando las características funcionales, fisicoquímicos y organolépticas de la bebida fermentada.

4.- El diagrama de flujo de la bebida fermentada consta de las siguientes operaciones: pesado, lavado, selección, despepitado, estrujado, dilución, maceración prefermentativa, descongelado, corrección del mosto, sulfitado, encubado, inoculación (siembra de pie de cuba), maceración fermentativa, reposo y refrigeración, primer trasiego, reposo, segundo trasiego, fermentación maloláctica, tercer trasiego/ clarificación, filtración, maceración posfermentativa estabilización, embotellado.

5. La bebida fermentada cumple con los requisitos fisicoquímicos para las bebidas fermentadas (vino tinto) según la norma técnica peruana. Las 5características funcionales, capacidad antioxidante y contenido polifenólicos demuestran su funcionalidad como bebida nutracéutica.

5.2. RECOMENDACIONES.

1. Corregir el pH de la dilución 1:3 (de 4.7 a 4) antes de la adición de los azucares y nutriente a fin de que la fermentación no sea muy rápida y pueda extraer el máximo nivel de polifenoles, (sin degradarlos) que se alcanza al décimo día de la fermentación y máxima concentración alcohólica.
2. Ensayar la fermentación alcohólica con otro nutriente V ACTIV SCORZE o mezcla de ellos, para verificar si se consigue un incremento del grado alcohólico en la maceración fermentativa.
3. Evaluar el efecto de la maceración posfermentativa en la capacidad antioxidante, contenido polifenólico.
4. Se recomienda emplear nutrientes enológicos reconocidos como V ACTIV, ACTIV SCORZE por que aportan proteínas, vitaminas y minerales necesarios para el crecimiento de las levaduras en vez de fosfato de amonio que solo aporta nitrógeno amoniacal.
5. Recomendar el aprovechamiento industrial del fruto del capulí, corteza, hojas, flor con fines maderables, apícola, medicinal y alimenticia por ser fuente de energía y antioxidante.
6. Realizar un estudio de la actividad biológica del capulí y bebida fermentada identificando los polifenoles que componen sus flavonoides para su aplicación como antiviral, bactericida en la prevención del COVID 19 y otras enfermedades infecciosas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Álvarez, M. (2018). Compuestos bioactivos en alimentos fermentados obtenidos a partir de sustratos naturales. (Trabajo de grado). Universidad de Sevilla España. Recuperado de https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=145701

Alveano, I., Rojas, A., Oomahb, D., y Drover, J. (2011) Characteristics of Prunus serotina seed oil, Food Chemistry: 124(3), 983-990 (2011). Recuperado de **https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/49622267/Characteristics_of_Prunus_serotina_seed_20161015-1893-8ei0la.pdf?response-content-disposition**

Arbildo, A., y Campos, O. (2014). Evaluación de la Actividad Antioxidante del Extracto etanólico de hojas y frutos de Prunus serótina "Capulí" provenientes de la Región Cajamarca. Universidad nacional de Cajamarca. (Trabajo de grado). Recuperado de https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=145701

Apolinar, R. (2012). Pared celular de uva y polisacáridos de vinos de distinta procedencia, elaborados mediante tecnologías enzimáticas y de frío. Universidad de Murcia (España). Recuperado de https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=122209

AOAC. (2016) **Official methods** of **analysis** of **AOAC** International. Editorial: Gaithersburg [**ESTADOS UNIDOS**]. Recuperado de https://catalogo.latu.org.uy/opac_css/index.php?lvl=notice_display&id=31273

Acosta.C.; 2012. Evaluación de la fermentación alcohólica para la producción de Hidromiel. Tesis de magister. Universidad Nacional de Colombia. Colombia.128 pp

Casassa, L. (2015). El Instituto Nacional de tecnología agropecuaria desarrolla tecnologías para maceración de varietales tintos. Centro de Estudios de Enología. EEA Mendoza. Argentina Recuperado de https.//www.researchgate.net/publication/281346341/citation/download.

Cátedra Extraordinaria de Bebidas Fermentadas (2013). Bebidas fermentadas y salud. La Cátedra Extraordinaria de Bebidas Fermentadas de la Universidad Complutense de Madrid. Recuperado de http://catedrabebferm.es/site/wp- content/uploads/2013/10/Dossier-de-prensa.pdf. Carrillo, H. (2020). Revaloricemos el árbol del capulí. Recuperado de https://www.facebook.com/search/top/?q=serfor%20ancash&epa=SEARCH_BOX

Del Carmen, M., Canals, R., Cabanilla, P., Canals, J., y Zamora, F. (2005). La maceración prefermentativa en frío. Efectos en la extracción del color y compuestos fenólicos, e influencia del nivel de maduración de la uva. Revista de Enología. ACE. Edición digital. Recuperado de http://www.acenologia.com/ciencia72_2.htm

Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO). (2012). El capulín (Prunos serótina). Recuperado de *https://www.gob.mx/conabio*.

Codáx, M. (2016). Tipos de maceraciones. http://www.cuatropasos.es/2016/09/01/tipos-de-maceraciones/

Chisaguano, L. (2012). Evaluación de la aplicación de tres productos Inductores de brotación en capulí (Prunus capulí), comunidad Quilajaló – Salcedo – Cotopaxi. (Tesis de grado). Universidad Técnica de Cotopaxi. Ecuador. Recuperado de http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/750/1/T-UTC-0579.pdf

DSPACE.UNIVERSIA.NET 2016 [on line]. Recuperado de http.//dspace.universia.net/bistraen/2074/740/Tema2+marco teórico.

Escudero, B. (2014). Caracterización de compuestos bioactivos de una novedosa bebida de naranja obtenida por fermentación alcohólica y Evaluación de su potencial efecto saludable. (Tesis doctoral) Universidad de Rioja. España. Recuperado de https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=111654

Encina, C. (2010). Influencia del descerado y composición del almíbar en la Optimización del tratamiento térmico de la conserva de aguaymanto (Physalis peruviana, linnaeus, 1753) para la mayor retención del ácido

ascórbico. Editor: Lima **Asamblea Nacional de Rectores.** 1a ed. Recuperado de http://biblioteca.ulasamericas.edu.pe/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=2303&shelfbrowse_itemnumber=7294.

Espinoza, E. (2018). La hipótesis en la investigación. *Mendive. Revista de Educación*, *16*(1), 122-139. Recuperado en 01 de julio de 2020, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1815-76962018000100122&lng=es&tlng=es.

Falcón, P., Reeves, D., y Mejía J., (2013*).* Elaboración de una bebida fermentada a partir del fruto del Aguaymanto (Physalis peruviana Linnaeus) producido en el Callejón de Huaylas, utilizando técnicas prefermentativas a baja temperatura. Rev. Aporte Santiaguino 2013; 6(2): 35 a 46. ISSN 2070-836X.

Falcón, P., Toscano, A. y Rosales, E. (2016). Efecto del tiempo de la maceración prefermentativa sobre la capacidad antioxidante, Carotenos, vitamina c de una Bebida fermentada de e aguaymanto (Physalis peruviana L.) al estado maduro. Revista Aporte Santiaguino. Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo. Vol. 12 Núm. 2 (2019): julio-diciembre. Pág. 186- 189.

Falcón, P. y Aguirre, E. (2019). Composición química, contenido polifenólico, capacidad antioxidante del capulí (Prunus serótina) de la Región Ancash. VI Congreso Internacional de ingeniería agroindustrial. Libro Digital de resúmenes de exposiciones CIIABO 49.pdf.

García, J. y Xiraux, M. (2000). Técnicas usuales de análisis en enología. Recuperado de http://www.laboaragon.com/docs/marcas/panreac/Enologia%20Manual%20de%2.

Galán, M. (2018). Manejo de las maceraciones en la vinificación de tintos. Universidad de la Rioja. España. Trabajo de grado en Enología. https://biblioteca.unirioja.es/tfe_e/TFE004220.pdf

Garay, M. (2019*).* Evaluación de bioactivos y actividad antioxidante en el secado de sauco (Sambucus peruviana HBK) por espectrofotometría y

antocianinas por HPLC. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Centro. Huancayo. Recuperado de editorialox/ancash.htm http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/5401.

Gonzáles, C., Tienda, P., González, A., Colomo, B. y Suarez, J. (2005). Métodos de Análisis físico-químicos de mostos y vinos. Universidad Politécnica de Madrid. Monografía de la Escuela Técnica superior de Ingenieros agrónomos.

Gobierno regional de Ancash (2020). Recuperado de Guijarro, M. (2013). Diseño de un proceso para producir un licor con sabor a Capulí. (Tesis de grado). Universidad Central del Ecuador.
Recuperado de http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/2294.

Guasch, M. (2020). Descubre los alimentos más ricos en vitamina C.
Recuperado de https://www.clara.es/bienestar/alimentacion/los-alimentos-con-mas-vitamina_227/1

Gutiérrez, A., Ledesma, L., García, Isabel., y Grajales, O. (2007). Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas. México. Revista Cubana de Salud Pública, 33(1) Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-34662007000100008&lng=es y tlng=es.

Gutiérrez, A. (2017). Determinación de la capacidad antioxidante de vinos Tintos. Efecto de la maceración con subproductos de la industria enológica.
(Tesis de grado). *Universidad de Sevilla.* Recuperado de https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/66482/Guti%C3%A9rrez%20Lorenzo%2C%20Andr%C3%A9s.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Guedes R. (2016). Fundamentos teóricos en la construcción de una Investigación científica. Recuperado de https://lamoc1505- metodologia.blogspot.com/.

Guzmán, F., Almalaguer, G. y Segura, S. (2020). El Capulí (Prunus serótina) Árbol multipropósito. Universidad Autónoma de Chapingo. Recuperado de
https://www.researchgate.net/publication/339329523_El_capulin_Prunus_serotina_Ehrh_arbol_multiproposito_con_potencial_forestal_en_Mexico

Huamancondor, Y. y Olivos, J. (2013). Evaluación de la capacidad antioxidante de los polifenoles totales de la piel casco y semillas liofilizadas del Maracuyá

(Pasiflora Edulis). (Tesis de pregrado). Universidad Nacional del Santa-Chimbote. Perú. Recuperado de http://repositorio.uns.edu.pe/handle/UNS/2481.

Hornedo, R. (2016). Caracterización química, propiedades antioxidantes y evaluación de los efectos neuro protectores de bebidas fermentadas. (Tesis doctoral). Universidad de Sevilla. Recuperado de https://dialnet.unirioja.es/buscar/documentos?querysDismax.DOCUMENTAL_TODO=compuestos+bioactivos+en+bebidas+.

Hurtado, Nelson H, y Pérez, Milena. (2014). Identificación, Estabilidad y Actividad Antioxidante de las Antocianinas Aisladas de la Cáscara del Fruto de Capulí (Prunus serótina spp capulí (Cav) Mc. Vaug Cav). Información tecnológica, 25(4), 131-140. Recuperado de https://dx.doi.org/10.4067/S0718-07642014000400015

Ibarra, C., Rojas, F., Luna, I., Rojas, B., y Rivero, J. (2009). Vasorelaxant constituents of the leaves of Prunus serótina "Capulín", Revista Latinoamericana de Química: 37(2), 164-173. Recuperado de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-07642014000400015

Jackson Ronald (2009). Análisis sensorial de vinos: manual para profesionales Zaragoza. España. *ISBN: 978- 84-200-1127-1 Editorial Acribia S.A.*

Jiménez Víctor. (2019). Alimentos fermentados y salud. Congreso de Gastronomía y salud. Universidad Complutense de Madrid*. Periódico on line XL semanal. ABC. Nacional de Sevilla. Recuperado de https://www.abc.es/sociedad/abci-fermentacion-ciertos-alimentos-y-bebidas-podria-tener-beneficios-para-salud-201911151703_video.html*

Jiménez, M., Castillo, I., Azuara, E., y Beristaín, C. (2011). Antioxidant and antimicrobial activity of capulín (Prunus serotina subsp capulí) extracts. *Revista mexicana de ingeniería química*, *10*(1), 29-37. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382011000100004&lng=es&tlng=.

Kountoudakis, N., Canals, R., Esteruelas, M., Fort, F., Canals, J. y Zamora, F. (2009). Maceración prefermentativa en frío. Aspectos tecnológicos en la

elaboración de vinos de crianza. ACE: Revista de enología, ISSN-e 1697-4123, N.º. 105, 2009 Recuperado de http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/maceracion_prefermentativa frio_cien0509.htm. Consultado 23/11/2018.

Kuskoski, M., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini-Filho, J. y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*, *25*(4), 726-732. Recuperado de https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016

Llona, G. y Rodríguez, N. (2019). Actividad antioxidante y aceptabilidad sensorial de cerveza artesanal con adición de extracto de maíz morado y zumo de maracuyá (Pasiflora edulis). (Tesis de pregrado) Universidad Nacional del Santa. Perú.

Macías L. (2018). Elaboración de vinos**.** Editorial Síntesis, S.A. Madrid. ISBN 978-84-9171-187-2.

Mayen, M. (2006) El Vino Y Los Antioxidantes. Diario Córdova. Educación. Recuperado de: https://www.diariocordoba.com/noticias/educacion/vino-antioxidantes_232251.html

Moreno, A. (2013). Técnicas enológicas de frío y enzimáticas aplicadas a la extractibilidad de Syrah, Cabernet Sauvignon y Monastrell. (Tesis Doctoral). Universidad de Murcia España. Recuperado de https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=96749.

Municipio Huari (2013) Ancash. Plantaciones de capulí: un grupo de trabajadores de la oficina de turismo de LOS CHEZTOSOS RUEDAS DE CAPULI. Recuperado de.https://www.youtube.com/watch?v=1Wo53AtWSOk

Medina, C. (2013). “Camu Camu, el fruto amazónico rico en vitamina C” Perú. Videos. Noticias. Recuperado de https://www.peruenvideos.com/camu-camu-fruto-amazónico-rico-vitamina-c.

Munive, Y. y Vega, M. (2013). Evaluación del efecto de la temperatura y la Concentración en la pérdida de antocianinas y vitamina c en la cinética del deshidratado osmótico. (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Del Centro del Perú. Huancayo. Recuperado de:

http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/2669/Munive%20Flores%20-%20Vega%20Cotera.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Muñoz, A., Fernández., Alicia, R., Escudero, F., y Alvarado-Ortiz, C. (2007). Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, *73*(1), 30-40. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2007000100004&lng=es&tlng=es.

Melo-Ruiz, V., Jiménez, D., Palacios, J. y Quirino, C. (2013). *Fruto de Capulín Prunus serótina y larvas de Synopsia Mexicanaria W, representan una buena fuente de nutrientes en la dieta cotidiana.* Revista Entomología Mexicana. 12. 1084-1086. Recuperado de https://www.researchgate.net/publication/304827713_Fruto_de_Capulin_Prunus_Serotina_y_larvas_de_Synopsia_Mexicanaria_W_representan_una_buena_fuente_de_nutrientes_en_la_diet.

Ocaña, J. y Tadeo, M. (2018). Características farmacognósticas y cuantificaciones espectrofotométricas de antocianinas totales del fruto (Prunus serotina). Capulí. (Tesis de grado) Universidad Nacional de Trujillo. Recuperado de file:///G:/Oca%C3%B1a%20Ventura%20Jessica%20Paola.pdf

Oro, J. y Urcia, S. (2017) Formulación de una bebida funcional a base de pulpa de Aguaymanto y Camu Camu edulcorado con stevia. (Tesis de grado). Universidad Nacional del Santa, Chimbote.

Palomares, A., Rojas, I., Palencia, G., Jiménez M., Macías, M., González, A., Ramos. A., Santiago, R., Castro, N., González, I.Rufino, Y., Jung, H. (2017). *In vitro* and *in vivo* cysticidal activity of extracts andisolated flavanone from the bark of *Prunus serotina*: abio-guided study.Acta Tropica. doi: 10.1016/j.actatropica.2017.02.023. Epub 2017 Feb 16. Recuperado de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28216368

Pacheco, G., Jiménez, N., Rojas, A. Ibarra, C., Vázquez, F., Rojas, J (2010) Estudio farmacológico, toxicidad y perfil fenólico del fruto “capulin” (P*runus serotina*). Rev. Mex. Ing. Quím10. Recuperado de http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-

2010/12%20Verano%20Ciencia%20Region%20Centro/UAQ%20Pacheco%20Uribe%20-%20Jimenez%20Barcenas.pdf.

Pantoja, E. (2012). Plantaciones de capulí. Recuperado de https://www.youtube.com/watch?v=1Wo53AtWSOk

Pelayo, C. (2018). Las frutas y hortalizas como alimentos funcionales. Infoalimentación. Alimentaria España. Recuperado de https://www.infoalimentacion.com/documentos/las_frutas_y_hortalizas_como_alimentos_funcionales.asp

Picardo, D., y González, G. (2013). Efecto de las técnicas de la maceración prefermentativa en la extracción de polifenoles y composición de vinos tintos. Revista enológica. Volumen 17 1:36-44 - enero/junio 2013 », Universidad del Trabajo del Uruguay. Recuperado http://www.acuedi.org/ddata/6284.pdf

Portal Regional Agrario-Región Ancash (2015). Características generales del Departamento de Ancash. Recuperado de https://agroancash.gob.pe/agro/ubicacion/

Poma, P. 2016. Efecto de tres niveles de concentración de levadura Saccharomyces cereviciae cepa CH 158 SIHA en la fermentación del zumo de aguaymanto (Physalis peruviana L.). Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo. Perú. 93 pp.

Requena Peláez José Miguel. (2015). Cata de Vinos. 2ª edición Málaga. España. ICB, SL. (Interconsulting Bureau S.L.)

Rojas Ramírez, Z.C. (2017). Cuantificación de antocianinas de cáscara del fruto de capulí (Prunus serotina spp.) utilizando dos solventes a diferentes temperaturas y tiempos. (Trabajo de grado). Universidad Nacional de Cajamarca. Recuperado de http://repositorio.unc.edu.pe/bitstream/handle/UNC/1721/TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Repo de Carrasco, R. y Encina, C. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, *74*(2), 108-124. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2008000200004&lng=es&tlng=es.

Sáez, P. (2012). *Maceración prefermentativa*. Urbina vinos. Recuperado de http://urbinavinos.blogspot.com/2012/03/maceracion-prefermentativa.html.

Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C. informes de ensayo NºDT-00275-01-2019. Firmado por jefe de división Técnica.

Tesauro (2013). Definición de propiedades funcionales. Biblioteca Agrícola Nacional De Los Estados Unidos. Recuperado de htpp// boletín Agrario.com/ap-6. Propiedades funcionales.

Urcuanjo, P. (2014). Evaluación de medios de cultivo para micro propagación "in vitro" de capulí (Prunos serótina ss. capulí cavo) a partir de segmentos nodales. (Tesis de grado) Universidad Central del Ecuador. Recuperado de http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/3374/1/T-UCE-0004-102.pdf.

Vazallo Valleumbrocio, G., Medel Maraboli, M., Peña Neira, Á., López Solís, R. y Obreque Slier, E. (2017).Commercial enological tannins: Characterization and their relative impact on the phenolic and sensory composition of Carmenere wine during bottle aging. Disponible en http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/147332

Vinetur, (2013). Los beneficios del vino en la próstata. Recuperado de https://www.vinetur.com/2013071812913/los-beneficios-del-vino-en-la-prostata.html

Vinetur, (2018). Revista digital del vino. **La crianza, el arte de hacer 'bebible' el vino.** https://www.vinetur.com/2018031446523/la-crianza-el-arte-de-hacer- -el-vino.html. Recuperado 15/06/2020.

Vinetur, (2018). Revista digital del vino. Como se mide la calidad de un vino por la acidez. Recuperado de https://www.vinetur.com/2018022346325/por-que-es-tan-importante-la-acidez-del-vino.html . Recuperado el 28/02/2018

Salazar, R., Espinoza, G., Ruiz, C., Fernández, M., y Rojas, R. (2011). Compuestos fenólicos, actividad Antioxidante, contenido de resveratrol *y* componentes del Aroma de 8 vinos peruanos. Revista Sociedad Química del Perú. 77 n2. Recuperado de http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v77n2/a06v77n2.pdf.

Sánchez, M. (2018) C84 | Bebidas alcohólicas. 4 tendencias que marcan el rumbo. Recuperado de https://www.aecoc.es/articulos/c84-bebidas-alcoholicas-tendencias- que-marcan-el-rumbo

Santiago, E., García, M., Vargas, L., Arroyo, G. y Herrera, H. (2019). “Perfil Fitoquímico Y Actividad Antioxidante De Extractos De Garambullo Y Capulín”. VI Congreso internacional de ingeniería agroindustria. Libro digital de Resúmenes y exposiciones. CIIABO ,201949 pdf.

Velásquez, P. (2017). Métodos estadísticos para la investigación en Agroindustria. 1a. Edición –. Ayacucho. Perú.

ANEXOS

Anexo 1. Técnicas para determinar los polifenoles totales. el color en bebidas fermentadas. Intensidad colorante (IC) y el índice de polifenoles totales (IPT) Índice De Polifenoles Totales (IPT). Método de García y Xiraux

Fundamento

El índice de polifenoles (IPT) se mide mediante luz infrarroja a 280 nm fuera del espectro visible. Con esta luz no se pueden ver los colores pero si el valor de los polifenoles totales de la muestra. (Macías 2018)

Materiales y reactivos

Espectrofotómetro UV

Cubeta de cuarzo de 1 cm

Pipeta de 1 ml.

Agua destilada.

Procedimiento

El vino sin diluir se introduce en la cubeta de cuarzo y se realiza la lectura de la absorbancia a 280 nm utilizando un blanco de agua destilada.

Cálculo

Vino blanco. ITP = A (280). Si se ha diluido se multiplica por 20

Vino tinto. ITP= A (280). Si se ha diluido se multiplica por 100.

Carmen et al. (2005) aconseja no diluir el vino, pues la dilución modifica el equilibrio del vino.

Para determinar el color en el vino se mide la **Intensidad colorante (IC).**

Carmen et al. (2005) indica que la intensidad de color se expresa como la suma de absorbancias del vino en una cubeta de 1 cm de espesor y se lee a 420 y 520 nm.

Procedimiento

Si el vino no está limpio se centrifuga a 3000 rpm/10 min. Se utiliza agua destilada como referencia.

Resultados

IC= A520 + A420/ 1 /b

B es el espesor de la cubeta.

Anexo 2. Informe de ensayo S.A.C. Análisis Químico Proximal

Sociedad de Asesoramiento Técnico S.A.C.

JR. ALMIRANTE GUISSE N° 2580 - 2586 / LIMA 14 - PERÚ TELÉFONO 205-9280
E-mail satperu@satperu.com / Página web www.satperu.com

INFORME DE ENSAYO N° DT-00275-01-2019

PRODUCTO	:	Capuli fresco (guinda).
SOLICITADO POR	:	Falcón Romero Paula Elvira
DIRECCIÓN	:	Cal. Santo toribio Nro. 317 Urb. Palmira Alta Ancash - Huaraz - Indepenencia - Ancash
FECHA DE RECEPCIÓN	:	2019-01-17
FECHA DE ANALISIS	:	2019-01-21
FECHA DE INFORME	:	2019-01-24
SOLICITUD N°	:	SDT-00604-2019,SAM-00004-2019

IDENTIFICACIÓN DE LA MUESTRA	:	Ninguna
ESTADO / CONDICIÓN	:	Producto entero sin pedúnculo / Temperatura Ambiente
PRESENTACIÓN	:	Envase de plástico transparente cerrado con tapa sin litografiar, sin etiqueta.
CANTIDAD DE MUESTRA	:	400 gramos
CANTIDAD DE MUESTRA DIRIMENTE	:	Ninguna (A solicitud del cliente)

Servicio	Vía / Resultado
(*) Carbohidratos (g/100g)	20,78
(*) Ceniza (g/100g)	0,77
(*) Energia total (kcal/100g)	95,55
(*) Grasa (g/100g)	0,43
(*) Humedad (g/100g)	75,88
(*) Proteina ((Nx6,25) g/100g)	2,14
(*) Fibra cruda (g/100g)	3,78

(*) LOS METODOS INDICADOS NO HAN SIDO ACREDITADOS POR INACAL-DA

MÉTODOS

(*) Carbohidratos	Por Cálculo
(*) Ceniza	AOAC 940.26. 20th. Ed. (2016). Ash of fruits and fruit Products
(*) Energia total	Por Cálculo
(*) Grasa	AOAC 920.177. 20th. Ed. (2016). Ether extract of confectionary
(*) Humedad	AOAC 920.151. 20th. Ed. (2016). Solids (total) in fruits and fruit products
(*) Proteina	AOAC 920.152. 20th. Ed. (2016). Protein in fruit products. Kjeldahl Method

Notas

Contacto: Paula Falcon Romero - Correo: paulafalc02@gmail.com

- Informe de ensayo emitido en base a resultados obtenidos en nuestro laboratorio. Válido [illegible] de la muestra proporcionada. Queda absolutamente prohibida toda reproducción parcial del presente informe sin la autorización escrita de SAT S.A.C. Este documento es válido solo en original.

QUÍM. CLOTILDE HUAPAYA HERREROS
JEFE DIVISIÓN TÉCNICA
C.Q.P.N° 296

SOCIEDAD DE ASESORAMIENTO TÉCNICO S.A.C. SAT DIVISIÓN TÉCNICA

Anexo 3. Informe de ensayo N.º 001960-2019

LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS
UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
Instituto de Certificación, Inspección y Ensayos

INFORME DE ENSAYOS
Nº 001960 - 2019

SOLICITANTE	: **FALCON ROMERO PAULA ELVIRA**
DIRECCIÓN LEGAL	: CAL. LAS PERLAS Nº 317 - PALMIRA ALTA - INDEPENDENCIA - HUARAZ RUC : 10316150531 Teléfono : 947594266
PRODUCTO	: **CAPULÍ (PRUNUS SERÓTINA)**
NUMERO DE MUESTRAS	: Uno
IDENTIFICACIÓN/MTRA	: Tesista del Programa Doctoral de Ingeniería de Alimentos de la Universidad Nacional del Santa
CANTIDAD RECIBIDA	: 1104,7 g (+envase) de muestra proporcionada por el solicitante.
MARCA(S)	: S.M.
FORMA DE PRESENTACIÓN	: Envasado, la muestra ingresa en bolsa cerrada a temperatura ambiente.
SOLICITUD DE SERVICIOS	: S/S Nº EN- 000955 -2019
REFERENCIA	: VIA EMAIL
FECHA DE RECEPCIÓN	: 22/02/2019
ENSAYOS SOLICITADOS	: **FÍSICO/QUÍMICO**
PERÍODO DE CUSTODIA	: No aplica

RESULTADOS:

ENSAYOS FÍSICOS / QUÍMICOS:

ALCANCE: N.A.

ENSAYOS	PROMEDIO	RESULTADO 1	RESULTADO 2
1 - Capacidad Antioxidante (umol Trolox/100 g de muestra)	744.1	736.39	751.98
2 - Compuestos Fenólicos o Polifenoles (mg de ácido Cálico/100 g de muestra)	248.0	247.95	248.05
3 - Vitamina C (mg/100 g de muestra original)	2.2	2.21	2.23

MÉTODOS UTILIZADOS EN EL LABORATORIO:
1 - ARNAO, CANO & ACOSTA 2001
2 - SWAIN & HILLIS 1959
3 - AOAC 967.21 Cap. 45, Pág. 21-22, 20th Edition 2016

FECHA DE EJECUCIÓN DE ENSAYOS: Del 22/02/2019 Al 14/03.2019.

ADVERTENCIA:
1 - El muestreo, las condiciones de muestreo, tratamiento y transporte de la muestra hasta su ingreso a La Molina Calidad Total - Laboratorios son de responsabilidad del Solicitante.
2 - Se prohibe la reproducción parcial o total del presente Informe sin la autorización de La Molina Calidad Total - Laboratorios.
3 - Valido sólo para la cantidad recibida. No es un certificado de Conformidad ni Certificado del Sistema de Calidad de quien lo produce.

La Molina, 14 de Marzo de 2019

LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS - UNALM - Dirección Técnica

LA MOLINA CALIDAD TOTAL LABORATORIOS-UNALM
Ing. Mg. Quim. Mary Flor Césare Coral
DIRECTORA TECNICA
C.Q.P. Nº 635

Av. La Molina S/N (frente a la puerta principal de la Universidad Agraria) - La Molina - Lima - Perú
Telf.: (511) 3495640 - 3492507 Fax (511) 3495794
E-mail: mktg@lamolina.edu.pe - Página Web: www.lamolina.edu.pe/calidadtotal - la molina calidad total

Anexo 4. Procedimiento para la cuantificación de las características funcionales de la muestra de capulí fresco (puré de capulí).

Preparación de reactivos

Solución de DPPH (40mg/L*):* Se pesó 40 mg de DPPH en papel aluminio. Luego se llevó a una fiola de 1 L y se añadió 500 ml de metanol HPLC. Se cubrió la fiola con papel aluminio y se agito por 20 minutos (agitador magnético). Se retiró el magneto y se añadió 500 ml de agua destilada. Luego se agito por otros 20 minutos en agitación magnética.

Se retiró el magneto y se completó el volumen con metanol. Se agito una tercera vez por 10 minutos y se trasladó a un envase ámbar cubierto con papel aluminio. Se debe proteger esta solución de la luz en todas las etapas y se hizo esta solución para cada día, antes del análisis. Nota: la solución DPPH es color morada, no almacenable.

Estándar de trolox (50 mg/10mL): Se pesó 50.00 ± 0.1 mg de trolox en papel aluminio. Luego se transfirió el polvo a una fiola de 100 ml y agregar 50 ml de metanol HPLC. Se cubrió la fiola con papel aluminio y se agito con magneto por 5 minutos. Luego se agregó 50 ml. de agua destilada. Posteriormente se agito con magneto por 5 minutos y se completó con metanol HPLC. Luego se transfirió el preparado a un tubo Falcón de 50 ml. de capacidad. Nota: la solución estándar de trolox es transparente y almacenable a 4 °C por hasta 2 semanas cubierto con papel aluminio.

Datos para la curva patrón

La curva patrón permitió encontrar 3 valores que se requirieron para el cálculo final de actividad antioxidante y fueron:

- Pendiente trolox: pendiente de la ecuación de curva de patrón, debe ser negativo.
- Blanco teórico: intercepto de la ecuación de curva patrón (absorbancia cercana a 1).
- Absorbancia blanca: la mitad del intercepto de curva patrón.

La curva debe tener un $R^2 > 0.99$ ploteando mg trolox/ 100 vs absorbancias. Se detalla: se tomó alícuotas de 25, 50, 75, 100 ul. del estándar stock de trolox (50 mg/100ml) y se verte en viales. (Cada punto por triplicado).

Se adiciono 6.25 ml. de solución de DPPH

Se cerró los tubos y se llevó a incubación en baño maría con agitación a 35 °C por 1 hora.

Se realizó la lectura a 517 nm previamente utilizando el blanco de agua destilada. **Determinación de curva patrón.**

Datos para la curva de calibrado. Método DPPH

Tubo	Concentración Mg trolox/100ml	Absorbancia
1	0.8	0.237921
2	0.6	0.385881
3	0.4	0.555435
4	0.2	0.68855

Datos para la curva patrón ajustada de calibrado para capacidad antioxidante por el método de DPPH

Tubo	Concentración Mg. trolox/100ml	Absorbancia
1	0.8	0.609079
2	0.6	0.46119
3	0.4	0.291565
4	0.2	0.158745

Preparación de la muestra

Se tomó 1 gramo del puré de capulí en una vial con tapa y se agregó 4 ml de metanol, agitar en un agitador vortex durante 10 minutos para homogenizar la muestra, se dejó reposar durante 24 horas, posteriormente para obtener el extracto metanólico, se centrifugo 3500 rpm durante 10 minutos.

Cálculo de la concentración en Mg trolox/100 ml.

$$\text{Capacidad Antioxidante Total} = \frac{(\text{Factor Trolox}) * (\text{ABS objetivo})}{(\text{Masa objetiva}) * |\text{Pendiente Trolox}|}$$

$$\text{ABS objetivo} = \frac{\text{Intercepto (gráfica 1)}}{2}$$

$$\text{ABS objetivo} = \frac{0.847}{2} = 0.4249 \qquad \text{ABS objetivo} = 0.4235 = 0.4249$$

$$\text{Masa objetiva} = \frac{\text{Abs.} - \text{Intercepto}}{\text{Pendiente}}$$

$$Masa\ objetiva = \frac{0.087215 - 0.0000}{0.7603} = 0.115$$

$$|\text{Pendiente Trolox}| = \text{Pendiente (gráfica 1)}$$

$$|\text{Pendiente Trolox}| = |-0.7603|$$

$$\text{Capacidad Antioxidante Total} = \frac{(391.546) * (0.4235)}{(0.115) * |0.7603|}$$

1901.25umolET /100grmuestra

Capacidad Antioxidante Total = 9504.59 umol T /100gr muestra

Cuantificación de polifenoles totales en puré de capulí. Preparación de reactivos

Solución Folín Dennis (solución Folin Ciocalteu 0.25): Se midió 1.25 ml de la solución Folín Ciocalteu y se aforo en una fiola de 10 ml con agua destilada. Para ello se utilizó una fiola color ámbar para protegerla de la luz.

Solución de Ácido Gálico: totalmente. Se pesó 25 mg de ácido gálico y se aforo en una fiola de 100 ml con agua destilada, luego se midió 2 ml de esta solución y se aforo en una fiola de 10 ml con agua destilada.

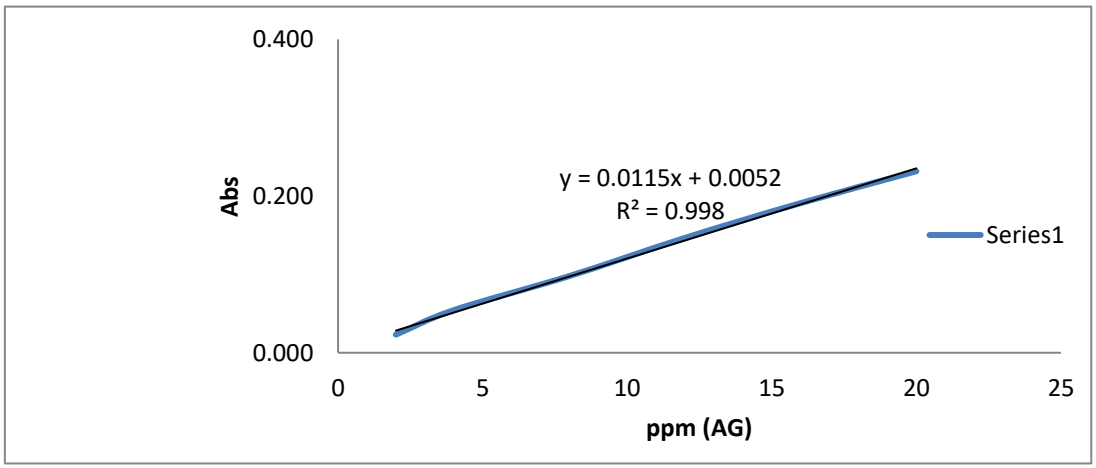
Solución de carbonato de sodio: Se pesó 0.75 gr de Na2CO3 y se aforo en una fiola de 10 ml y se agitó hasta diluir.

Elaboración de la curva patrón

Datos para la curva patrón para la curva de polifenoles totales.

Tubo	Concentración (ppm)	Absorbancia
1	2	0.023
2	4	0.054
3	8	0.098
4	12	0.147
5	16	0.191
6	20	0.231

Curva de calibrado de polifenoles totales



Preparación de la muestra

Se tomó 1 gramo del puré de capulí en una vial con tapa y se agregó 4 ml de metanol, agitar en un agitador vortex durante 10 minutos para homogenizar la muestra, se dejó reposar durante 24 horas, posteriormente para obtener el extracto metanólico, se centrifugo 3500 rpm durante 10 minutos.

Cálculo de la concentración del contenido de polifenoles totales.

$$\text{Polifenoles totales (mg EAG/g)} = \frac{\left(\frac{\text{ABS.} + \text{Intercepto}}{\text{Pendiente}}\right) * \text{FD} * \left(\frac{\text{V ext.}}{\text{M}}\right) * \left(\frac{3750}{900}\right)}{1000}$$

$$\text{Polifenoles totales} \left(\frac{\text{mg EAG}}{\text{g}}\right) = 904.79 \left(\frac{\left(\frac{\text{ABS.} + \text{Intercepto}}{\text{Pendiente}}\right) * \text{FD} * \left(\frac{\text{V ext.}}{\text{M}}\right) * \left(\frac{3750}{900}\right)}{1000}\right) * 100$$

Anexo 5. Procedimiento para el análisis estadístico del DCCR, realizado en la pantalla del paquete STATISTICA 13.3

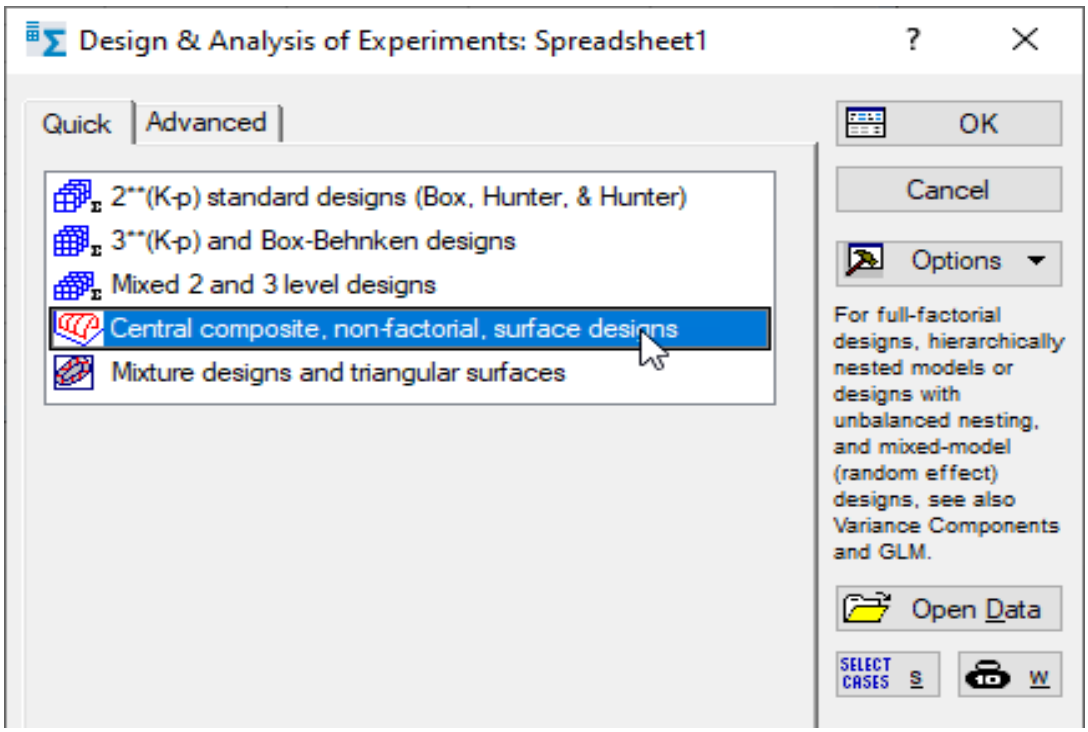
Se presenta el procedimiento realizado secuencialmente:

1. **Abrir el software STATISTICA 13.3 , se elige la ficha Multivariati :**

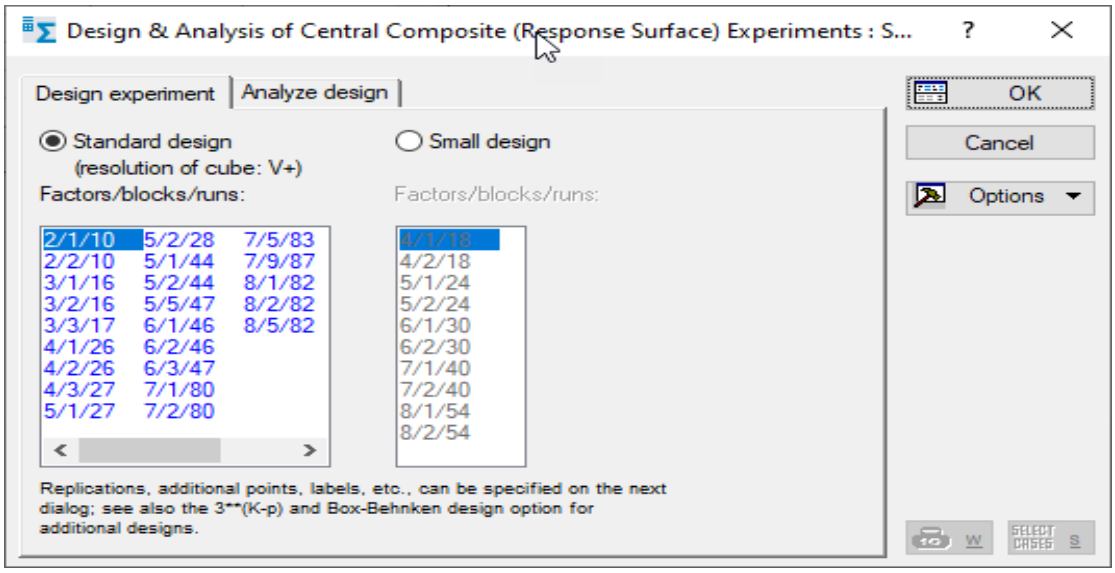


Tal como se aprecia en la imagen de la pantalla anterior.

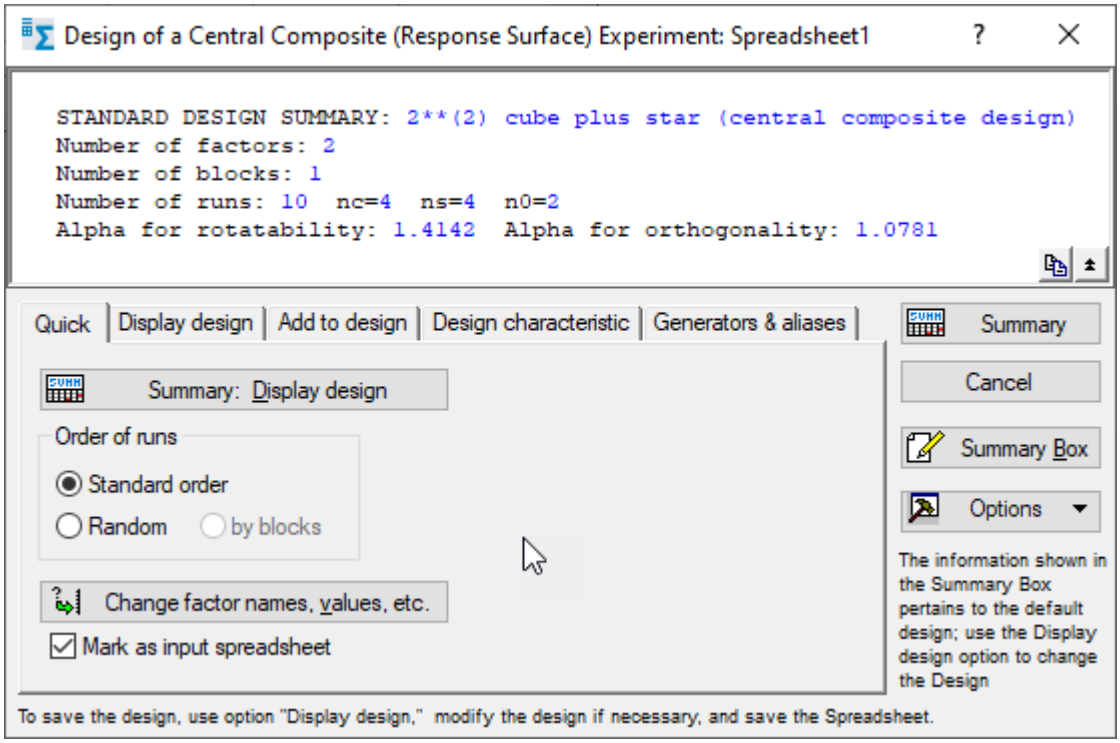
2. **Aparece la siguiente pantalla:**



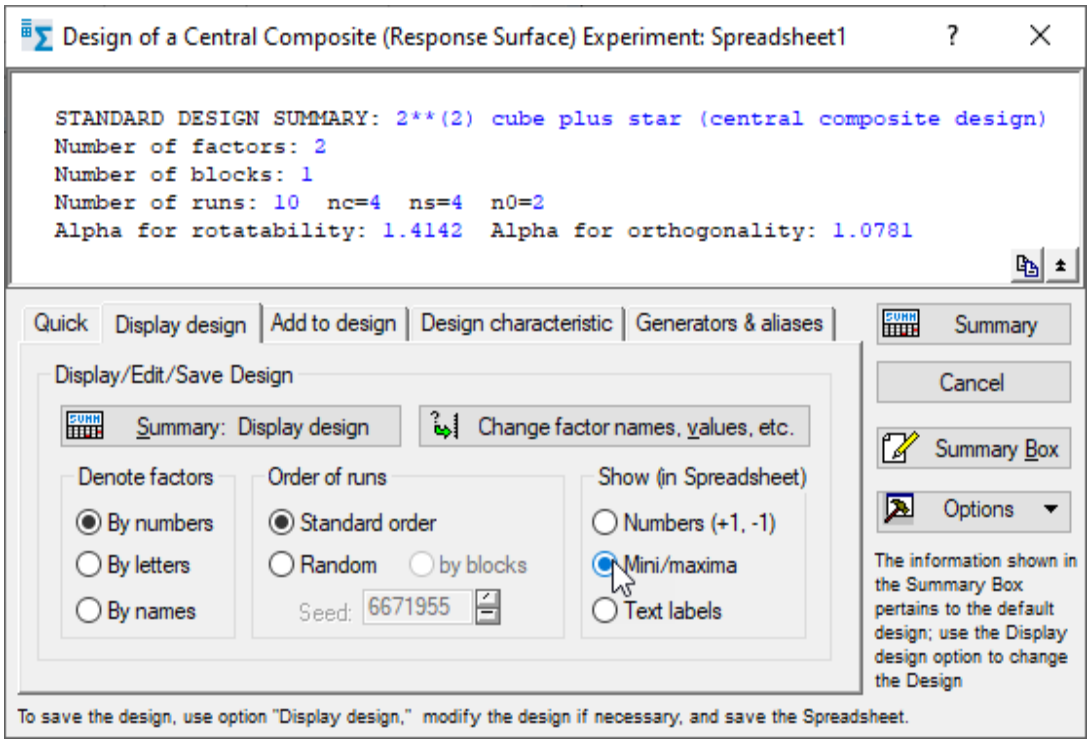
3. **Se selecciona Central composite, non Factorial Surface desine.**
4. **Se hace click en OK.**
5. **Aparecerá la siguiente pantalla, en la cual se selecciona el primer diseño (2/1/10):**



6. **Cuando se hace clic en ok, aparecerá el resumen del diseño, tal como se aprecia en la pantalla siguiente:**

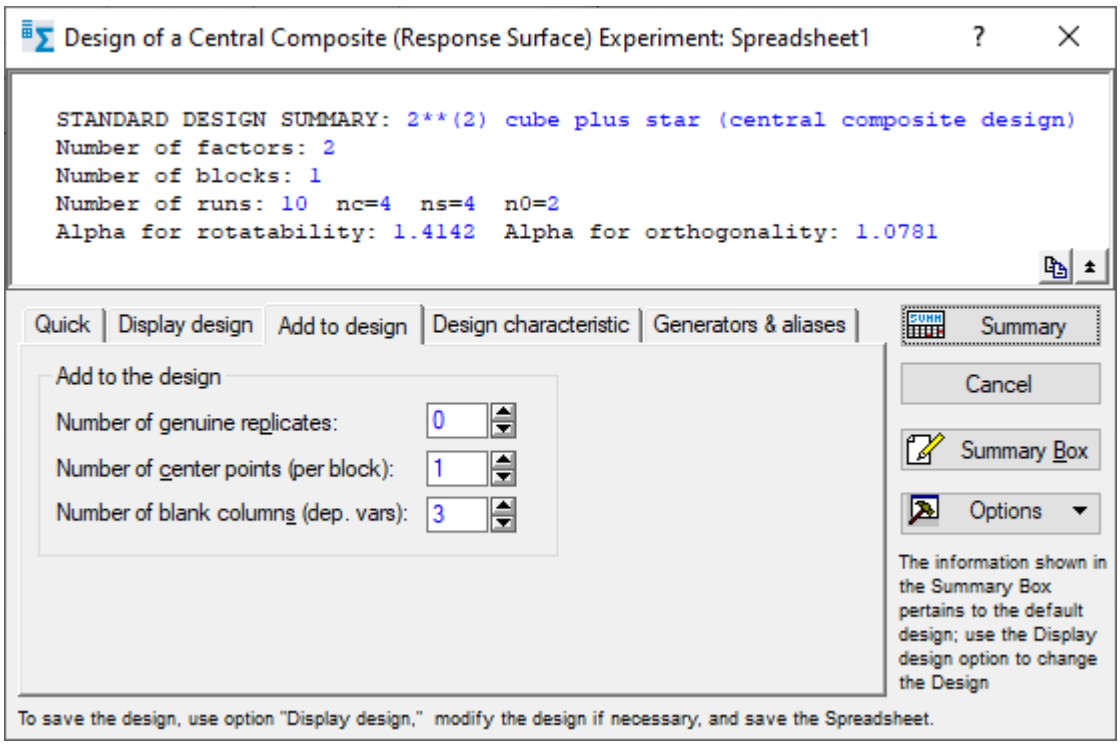


7. **Se selecciona la pestaña “Display design” que muestra lo siguiente:**

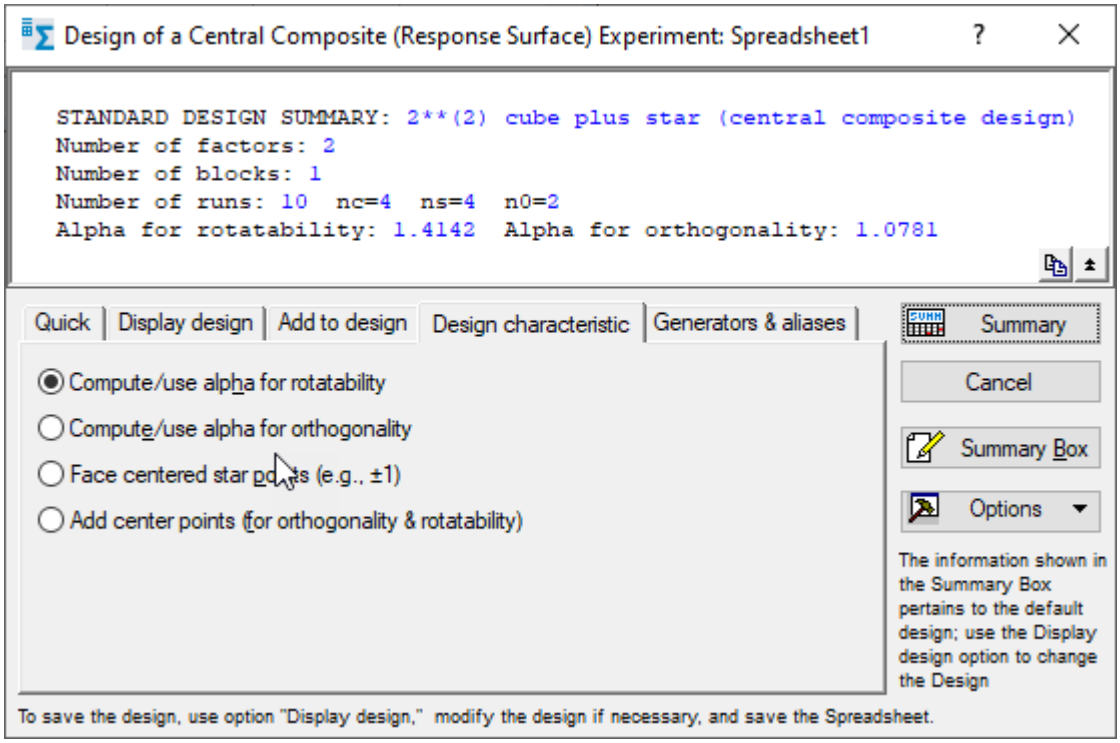


La pantalla anterior se mantiene como se muestra.

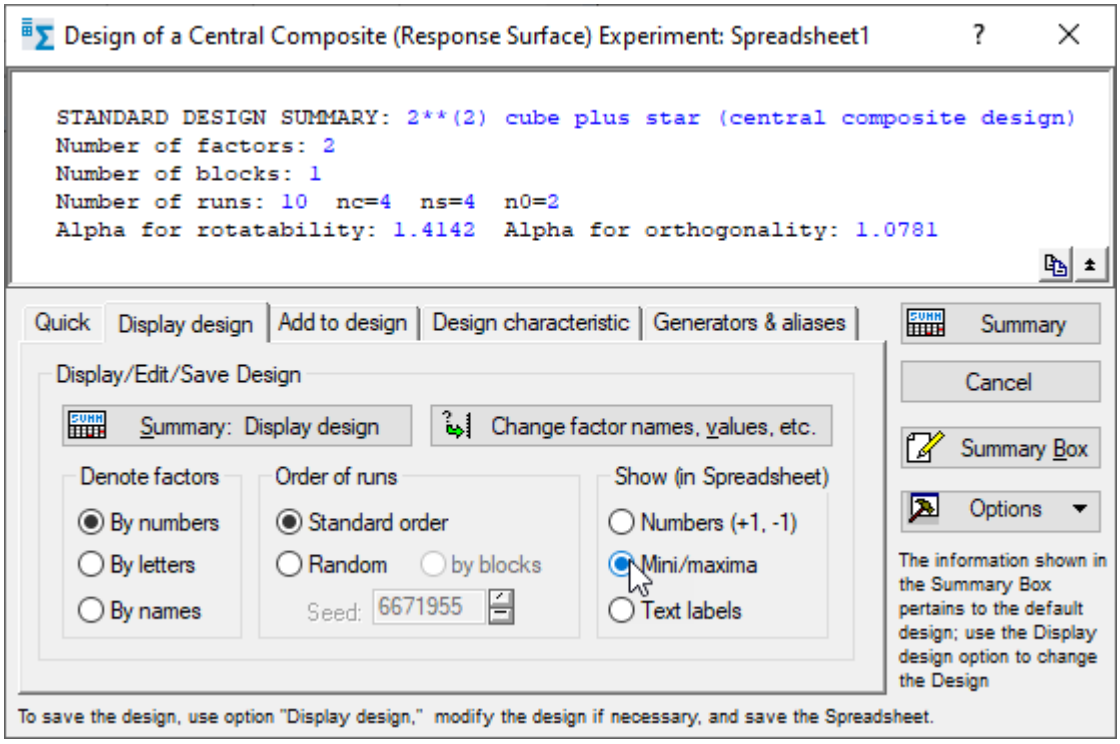
8. **Se pasa a la pestaña "Add to design", que se configura como en la pantalla que se muestra:**



9. **Se pasa la pestaña “Design characteristic”, para configurar el diseño y dejarlo de la siguiente manera:**



10. Se regresa nuevamente a la pestaña “Display design”, para configurar los nombres de los factores, se hace click en “Change factor names, values, etc.”



11. Se cambia los nombres de los factores y se anota los resultados de las variables dependientes: duración de la fermentación, ºGA, pH final y se obtiene la siguiente pantalla;

Standard Run	2**(2) central composite, nc=4 ns=4 n0=2 Runs=10 (Spreadsheet1) + 1 center points				
	° Brix	**Nutrientes**	**Duración de la fermentación**	°GA	pHfinal
1	19.50000	14.50000	6.00	9.80	3.68
2	26.50000	14.50000	8.00	11.00	3.65
3	19.50000	35.50000	6.00	10.00	3.66
4	26.50000	35.50000	9.00	11.00	3.55
5	18.00000	25.00000	6.00	9.00	3.67
6	28.00000	25.00000	10.00	12.60	3.49
7	23.00000	18.00000	8.00	9.00	3.68
8	23.00000	40.00000	8.00	10.00	3.62
9 (C)	23.00000	15.00000	7.00	9.00	3.65
10 (C)	23.00000	15.00000	7.00	9.00	3.73
11 (C)	23.00000	15.00000	7.00	9.00	3.63

Esta pantalla muestra los resultados de la combinación de los factores

(Variables independientes) y las variables respuesta duración de la fermentación, grado alcohólico, pH final para los efectos del análisis estadístico.

Este trabajo de análisis estadístico del diseño central compuesto fue realizado con la asesoría del Dr. Edwin Asnate Estadistico docente de la UNASAM.

Anexo 6. Norma Técnica Peruana 212.014-2011. Revisada el 2016

vino tinto	Características organolépticas
Color :	De acuerdo a su clase
Aspecto :	Límpido al momento de librarse al consumo
Olor :	Característico de su clase
Sabor :	Característico de su clase.

Requisitos físicos y químicos.	
Titulo alcohólico mínimo en % /vol a 20°C - 20°C	10,13
Titulo alcohólico mínimo en % /vol a 15°C - 15°C	10,00
Acidez acética volátil expresada en me/l máxima	30,00
Acidez acética volátil en g/l ácido acético, máxima	1,80
Sulfatos expresados como sulfato de potasio g/l máximo	1,18
Cloruros expresados como cloruro de sodio, g/l máximo	1,00
Relación alcohol / extracto seco reducido: vinos tintos, máximo	5,00

Fuente: Norma Técnica Peruana 212.014 (2011)

Anexo 7. Cuantificación de la capacidad antioxidante en la bebida fermentada de capulí.

Preparación de reactivos

Solución de DPPH (40mg/L): Se pesó 40 mg de DPPH en papel aluminio. Luego se llevó a una fiola de 1 l y se añadió 500 ml de metanol HPLC. Se cubrió la fiola con papel aluminio y se agito por 20 minutos (agitador magnético). Se retiró el magneto y se añadió 500 ml de agua destilada. Luego se agito por otros 20 minutos en agitación magnética.

Se retiró el magneto y se completó el volumen con metanol. Se agito una tercera vez por 10 minutos y se trasladó a un envase ámbar cubierto con papel aluminio. Se debe proteger esta solución de la luz en todas las etapas y se hizo esta solución para cada día, antes del análisis.

Estándar de trolox (50 mg/10mL): Se pesó 50.00 ± 0.1 mg de trolox en papel aluminio. Luego se transfirió el polvo a una fiola de 100 ml y agregar 50 ml de metanol HPLC. Se cubrió la fiola con papel aluminio y se agito con magneto por 5 minutos. Luego se agregó 50 ml. de agua destilada. Posteriormente se agito con magneto por 5 minutos y se completó con metanol HPLC. Luego se transfirió el preparado a un tubo Falcón de 50 ml de capacidad. Nota: la solución estándar de trolox es transparente y almacenable a 4 °C por hasta 2 semanas cubierto con papel aluminio.

Datos para la curva patrón

La curva patrón se realizó para encontrar 3 valores que se requirieron para el cálculo final de actividad antioxidante:

- Pendiente trolox: pendiente de la ecuación de curva de patrón, debe ser negativo.
- Blanco teórico: intercepto de la ecuación de curva patrón (absorbancia cercana a 1).
- Absorbancia blanca: la mitad del intercepto de curva patrón.

La curva debe tener un $R^{2} > 0.99$ ploteando mg trolox/ 100 mL vs absorbancias se detalla:

Se tomó alícuotas de 25, 50, 75, 100 uL del estándar stock de trolox (50 mg/100mL) y se verte en viales. (Cada punto por triplicado).

Se adiciono 6.25 ml. de solución de DPPH.

Se cerró bien los tubos y se llevó a incubación en baño maría con agitación a 35 °C por 1 hora.

Se realizó la lectura a 517 nm, previamente utilizando el blanco de agua destilada.

Preparación de la muestra

Se tomó 1 ml de la bebida fermentada de capulí en una vial con tapa y se agregó 4 ml de metanol, agitar en un agitador vortex durante 10 minutos para homogenizar las muestra, se dejó reposar durante 24 horas, posteriormente para obtener el extracto metanólico de la bebida fermentada de capulí se centrifugo 3500 rpm., durante 10 minutos.

Cálculo de la capacidad antioxidante.

$$\text{Capacidad Antioxidante Total} = \frac{(Factor\ Trolox)*(ABS\ objetivo)}{(Masa\ objetiva)*|Pendiente\ Trolox|}$$

$$ABS\ objetivo = \frac{Intercepto\ (gráfica\ 1)}{2}$$

$$ABS\ objetivo = \frac{0.847}{2} = 0.4249$$

$$Masa\ objetiva = \frac{Abs. - Intercepto}{Pendiente}$$

$$Masa\ objetiva = \frac{0.432488-0.0000}{0.7603} = 0.569$$

$$|Pendiente\ Trolox| = Pendiente\ (gráfica\ 1)$$

$$|Pendiente\ Trolox| = |-0.7603|$$

$$\text{Capacidad Antioxidante Total} = \frac{(391.546)*(0.4235)}{(0.569)*|0.7603|} = 383.41\ \text{umolET /100grmuestra}$$

$$\text{Capacidad Antioxidante Total} = 383.41\ \text{umolET /100g muestra} * fd$$

AAT = 1913.06umol ET/100ml de muestra.

Contenido de polifenoles de la bebida fermentada final

Preparación de reactivos

Solución Folín Dennis (solución Folín Ciocalteu 0.25): Se midió 1.25 ml de la solución Folín Ciocalteu y se aforo en una fiola de 10 ml con agua destilada. Para ello se utilizó una fiola color ámbar para protegerla de la luz.

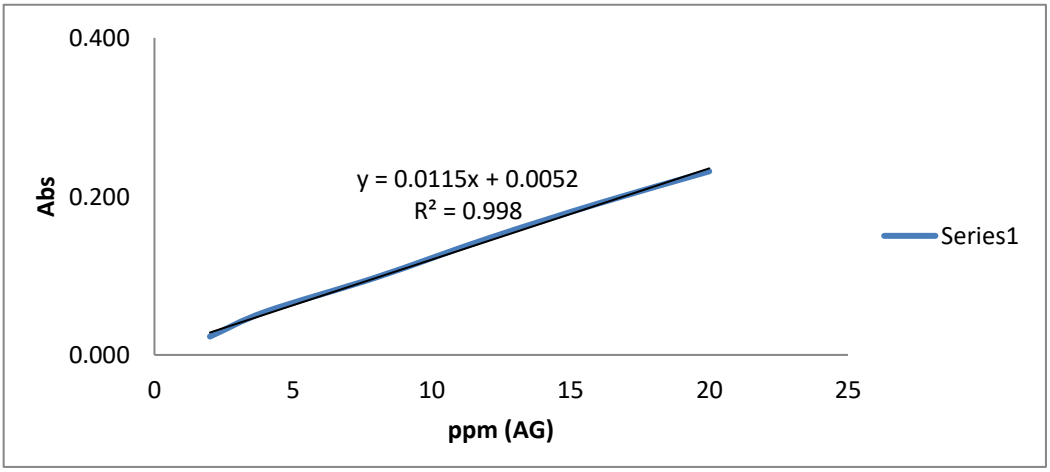
Solución de Ácido Gálico: Se pesó 25 mg de ácido gálico y se aforo en una fiola de 100 ml con agua destilada, luego se midió 2 ml de esta solución y se aforo en una fiola de 10 ml con agua destilada.

Solución de carbonato de sodio: Se pesó 0.75 gr de Na2CO3 y se aforo en una fiola de 10 ml y se agitó hasta diluir

Datos para la curva patrón

Tubo	Concentración ppm	Absorbancia
1	2	0.023
2	4	0.054
3	8	0.098
4	12	0.147
5	16	0.191
6	20	0.232

Curva de calibrado



Preparación de la muestra

Se tomó 1 ml de la bebida fermentada de capulí en una vial con tapa y se agregó 4 ml de metanol, agitar en un agitador vortex durante 10 minutos para homogenizar las muestras, se dejó reposar durante 24 horas, posteriormente

para obtener el extracto metanólico de la bebida fermentada de capulí se centrifugo 3500 rpm durante 10 minutos.

Cálculo de la concentración del contenido de polifenoles.

$$Polifenoles\ \ totales\ (mg\ EAG/g) = \frac{\left(\frac{ABS.\ +\ Intercepto}{Pendiente}\right) * FD * \left(\frac{V\ ext.}{M}\right) * \left(\frac{3750}{900}\right)}{1000}$$

$$= \quad 118.59 \text{ mg EAG/100g}$$

Anexo 8. Cuantificación de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles del patrón comercial

Capacidad antioxidante Preparación de reactivos

Solución de DPPH (40mg/L): Se pesó 40 mg de DPPH en papel aluminio. Luego se llevó a una fiola de 1 L y se añadió 500 ml. de metanol HPLC. Se cubrió la fiola con papel aluminio y se agito por 20 minutos (agitador magnético). Se retiró el magneto y se añadió 500 ml de agua destilada. Luego se agito por otros 20 minutos en agitación magnética.

Se retiró el magneto y se completó el volumen con metanol. Se agito una tercera vez por 10 minutos y se trasladó a un envase ámbar cubierto con papel aluminio. Se debe proteger esta solución de la luz en todas las etapas y se hizo esta solución para cada día, antes del análisis.

Estándar de trolox (50 mg/10ml): Se pesó 50.00 ± 0.1 mg de trolox en papel aluminio. Luego se transfirió el polvo a una fiola de 100 ml y agregar 50 ml de metanol HPLC. Se cubrió la fiola con papel aluminio y se agito con magneto por 5 minutos. Luego se agregó 50 ml. de agua destilada. Posteriormente se agito con magneto por 5 minutos y se completó con metanol HPLC. Luego se transfirió el preparado a un tubo Falcón de 50 ml. de capacidad.

Datos para la curva patrón

La curva patrón es para encontrar 3 valores que se requirieron para el cálculo final de actividad antioxidante:

- Pendiente trolox: pendiente de la ecuación de curva de patrón, debe ser negativo.
- Blanco teórico: intercepto de la ecuación de curva patrón (absorbancia cercana a 1).

- Absorbancia blanco: la mitad del intercepto de curva patrón.

La curva debe tener un $R^{2} >$ 0.99 ploteando mg trolox/ 100 ml. vs absorbancias
Se detalla a continuación
Se tomó alícuotas de 25, 50, 75, 100 ul. del estándar stock de trolox (50 mg/100mL) y se vierte en viales.
Se adiciono 6.25 ml. de solución de DPPH. Se cerró bien los tubos y se llevó a incubación en baño maría con agitación a 35 °C por 1 horas.
Se realizó la lectura a 517 nm previamente utilizando el blanco de agua destilada.

Preparación de la muestra

Se tomó 1 ml de la bebida patrón de capulí en una vial con tapa y se agregó 4 ml de metanol, agitar en un agitador vortex durante 10 minutos para homogenizar la muestra, se dejó reposar durante 24 horas, posteriormente para obtener el extracto metanólico de la bebida patrón de capulí se centrifugo 3500 rpm. durante 10 minutos.

Cálculo de la capacidad antioxidante total

$$\text{Capacidad Antioxidante Total} = \frac{(Factor\ Trolox)*(ABS\ objetivo)}{(Masa\ objetiva)*|Pendiente\ Trolox|}$$

$$ABS\ objetivo = \frac{Intercepto\ (gráfica\ 1)}{2}$$

$$ABSobjetivo = 0.4235 = 0.4249$$

$$= \frac{0.847}{2}\ 0.4249$$

$$Masa\ objetiva = \frac{Abs. - Intercepto}{Pendiente}$$

$$Masa\ objetiva = \frac{0.580075-0.0000}{0.7603} = 0.763$$

$$\text{Capacidad antioxidante total} = \frac{(391.546)*(0.4235)}{(0.763)*|0.7603|} = 285.86 \text{umolET /100grmuestra}$$

Capacidad Antioxidante Total $= 285.86$ umolET /100 ml muestra * fd

Capacidad Antioxidante Total $= 285.86$ umolET /100 ml muestra * 5

Capacidad Antioxidante Total $= 1424.43$ /100 ml muestra

Contenido de polifenoles patrón comercial

Preparación de reactivos

Solución Folín Dennis (solución Folín Ciocalteu 0.25).

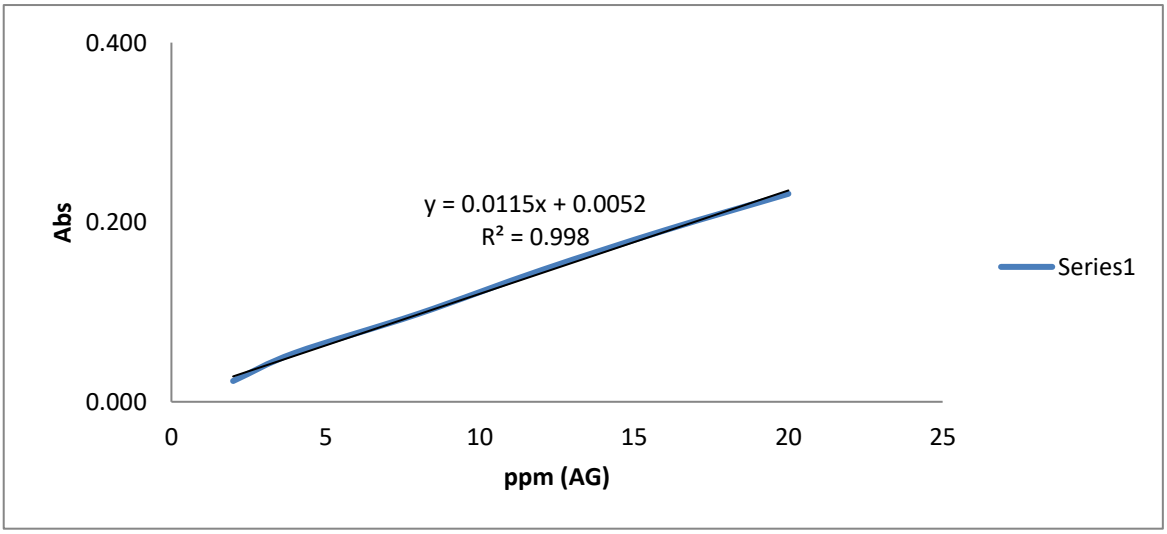
Solución de Ácido Gálico: Se pesó 25 mg de ácido gálico y se aforo en una fiola de 100 ml con agua destilada, luego se midió 2 ml de esta solución y se aforo en una fiola de 10 ml con agua destilada.

Solución de carbonato de sodio: Se pesó 0.75 gr de Na2CO3 y se aforo en una fiola de 10 ml y se agitó hasta diluir

Datos para la curva patrón

Tubo	Concentración ppm	Absorbancia
1	2	0.023
2	4	0.054
3	8	0.098
4	12	0.147
5	16	0.191
6	20	0.232

Curva de calibrado: polifenoles totales



Preparación de la muestra

Se tomó 1 ml de la bebida patrón de capulí en una vial con tapa y se agregó 4 ml de metanol, agitar en un agitador vortex durante 10 minutos para homogenizar las muestras, se dejó reposar durante 24 horas, posteriormente para obtener el extracto metanólico de la bebida patrón de capulí se centrifugo 3500 rpm durante 10 minutos.

Cálculo de contenido de polifenoles

$$Polifenoles\ Totales\ (mg\ EAG/g = \frac{\left(\frac{ABS.\ +\ Intercepto}{Pendiente}\right) * FD * \left(\frac{V\ ext.}{M}\right) * \left(\frac{3750}{900}\right)}{1000}$$

$$Polifenoles\ totales\ \left(\frac{mg\ EAG}{100\ g}\right) = \left(\frac{\left(\frac{ABS. + Intercepto}{Pendiente}\right) * FD * \left(\frac{V\ ext.}{M}\right) * \left(\frac{3750}{900}\right)}{1000}\right) *\ 100$$

= 68.5 mg EAG/100g de muestra

Anexo 9. Formato de evaluación sensorial: bebida fermentada de capulí (*Prunus serótina*)

Nombre del panelista

Agradeceré evaluar el sabor, color, limpidez, olor de la bebida fermentada en base a la escala de calificación que se indica. Muchas gracias por su colaboración.

Atributo	Escala	código de muestra A
Color	7. Me gusta muchísimo	
	6. Me gusta mucho	
	5. Regular	
	4.Desagradable	
	3. Poco agradable	
	2. Muy desagradable	
	1.Demasiado desagradable	
	0.Nada agradable	
olor	7. Me gusta muchísimo	
	6. Me gusta mucho	
	5. Regular	
	4.Desagradable	
	3. Poco agradable	
	2. Muy desagradable	
	1.Demasiado desagradable	
	0.Nada agradable	
sabor	7. Me gusta muchísimo	
	6. Me gusta mucho	
	5. Regular	
	4.Desagradable	
	3. Poco agradable	
	2. Muy desagradable	
	1.Demasiado desagradable	
	0.Nada agradable	
limpidez	7. Me gusta muchísimo	
	6. Me gusta mucho	
	5. Regular	
	4.Desagradable	
	3. Poco agradable	
	2. Muy desagradable	
	1.Demasiado desagradable	
	0.Nada agradable	

Anexo 10. Formato para evaluación estética de una bebida fermentada. (Jackson, 2009)

Estimado panelista califique la bebida fermentada (código A) con el puntaje que a su parecer sea el más adecuado para calificar la muestra.

Producto: Bebida fermentada de capulí. Fecha:

Característica Descripción

Aspecto y color		A
0	MALO – Apagado o ligero color defectuoso no característico	
1	BUENO – Vivo con color característico	
2	MUY BUENO – Brillante con color característico	
Aroma y buqué		
0	DEFECTUOSO – Expresión clara de un olor desagradable o defecto olfativo	
1	LIGERO DEFECTO – Mínima expresión de un olor desagradable o defecto olfativo	
2	ACEPTABLE – Fragancia o buqué envejecido no característicos de variedad, región o estilo	
3	BUENO – Presencia normal de fragancia o buqué envejecido típicos de variedad, región o estilo	
4	MUY BUENO – Fragancia o buqué envejecido típicos de variedad, región o estilo, distintivos y complejos	
5	EXCEPCIONAL – Rica, compleja fragancia típica o buque envejecido refinado persistente	
Gusto y flavor		
0	DEFECTUOSO – Olores o gustos desagradables, defectuosos tan marcados que hacen el vino desagradable	
1	MALO – Ausencia de características de flavor varietales, regionales o estilísticas en boca	
2	BUENO – Presencia de características distintivas de flavor varietales, regionales o estilísticas	
3	EXCEPCIONAL – Expresión superior de características de flavor varietales, regionales o estilísticas	
Equilibrio		
0	MALO – Relación acidez/dulzor poco armonioso, excesivamente amargo y astringente	
1	BUENO - Relación acidez/dulzor adecuada, astringencia y amargor moderados	
2	EXCEPCIONAL – Equilibrio acidez/dulzor vigorizante, suave sensación en boca	
Evolución/duración		
0	MALO – Fragancia simple, sin evolución, de corta duración	
1	NORMAL – Fragancia típica, evolución hacia complejidad, no se desvanece durante la cata	
2	MUY BUENA – Fragancia que mejora en intensidad y/o carácter, dura durante la cata	
3	EXCEPCIONAL – Plena fragancia, mejora en intensidad y carácter, larga duración	
Final		
0	MALO – Poca persistencia del flavor en boca; excesivos amargor y astringencia	
1	BUENO – Persistencia media del flavor en boca, retrogusto agradable	
2	EXCEPCIONAL – Flavor prolongado en boca (>10 a 15 s), delicado y refinado retrogusto	
Calidad total		
0	INACEPTABLE – Defecto claro	
1	BUENO – Representación aceptable de los aspectos clásicos del tipo de vino	
2	MUY BUENO – Claramente mejor que la mayoría de los vinos del tipo	
3	EXCEPCIONAL – Experiencia memorable	

Muchas gracias por su colaboración.

OBTENCIÒN Y CARACTERIZACIÒN DE UNA BEBIDA FERMENTADA DE CAPULÌ(Prunus seròtina) CON MACERACIÓN PREFERMENTATIVA

por Paula Elvira Falcon Romero

Fecha de entrega: 03-ene-2020 11:19a.m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega: 1239155813
Nombre del archivo: Tesis_Completa_Final_Paula_Falc_n.pdf (4.43M)
Total de palabras: 24042
Total de caracteres: 125166

OBTENCIÒN Y CARACTERIZACIÒN DE UNA BEBIDA FERMENTADA DE CAPULÌ(Prunus seròtina) CON MACERACIÓN PREFERMENTATIVA

INFORME DE ORIGINALIDAD

13%	12%	0%	7%
INDICE DE SIMILITUD	FUENTES DE INTERNET	PUBLICACIONES	TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	1%
2	repositorio.uncp.edu.pe Fuente de Internet	1%
3	www.dspace.uce.edu.ec Fuente de Internet	1%
4	www.infoalimentacion.com Fuente de Internet	1%
5	packaginglatam.com Fuente de Internet	1%
6	repositorio.utc.edu.ec Fuente de Internet	1%
7	catedrabebferm.es Fuente de Internet	1%
8	scielosp.org Fuente de Internet	1%

9	www.uaq.mx Fuente de Internet	1%
10	Submitted to Universidad Cesar Vallejo Trabajo del estudiante	<1%
11	urbinavinos.blogspot.com Fuente de Internet	<1%
12	Submitted to Universidad Nacional del Centro del Peru Trabajo del estudiante	<1%
13	hortintl.cals.ncsu.edu Fuente de Internet	<1%
14	riunet.upv.es Fuente de Internet	<1%
15	scielo.conicyt.cl Fuente de Internet	<1%
16	www.artizonhuayhuashperu.com Fuente de Internet	<1%
17	docslide.us Fuente de Internet	<1%
18	tdx.cat Fuente de Internet	<1%
19	www.tdx.cat Fuente de Internet	<1%
	www.uns.edu.pe	

20	Fuente de Internet	<1%
21	Submitted to Universidad Nacional del Santa Trabajo del estudiante	<1%
22	cervezal.blogspot.com Fuente de Internet	<1%
23	dspace.unitru.edu.pe Fuente de Internet	<1%
24	edoc.pub Fuente de Internet	<1%
25	vinos55.rssing.com Fuente de Internet	<1%
26	myslide.es Fuente de Internet	<1%
27	repositorio.unsa.edu.pe Fuente de Internet	<1%
28	www.acenologia.com Fuente de Internet	<1%
29	Submitted to Universidad Continental Trabajo del estudiante	<1%
30	Submitted to Universidad Internacional Isabel I de Castilla Trabajo del estudiante	<1%
	www.unasam.edu.pe	

31	Fuente de Internet	<1%
32	Submitted to Colegio de San Francisco de Paula Trabajo del estudiante	<1%
33	vinoydemas.blogspot.com Fuente de Internet	<1%
34	repositorio.unasam.edu.pe Fuente de Internet	<1%
35	www.angelfire.com Fuente de Internet	<1%
36	cybertesis.unmsm.edu.pe Fuente de Internet	<1%
37	Lewis Borck, Erik Simpson. "Identity is an Infinite Now: Being Instead of Becoming Gallina", KIVA, 2017 Publicación	<1%
38	Submitted to Universidad de Valladolid Trabajo del estudiante	<1%
39	Submitted to Universidad de Monterrey Trabajo del estudiante	<1%
40	Submitted to EP NBS S.A.C. Trabajo del estudiante	<1%