UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA

DEPARTAMENTO CIENCIAS DE LA TIERRA

CARRERA AGROINDUSTRIAS

TÍTULO

“ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO DE CONDICIONES ÓPTIMAS Y DIFERENTES CEPAS DE LEVADURAS EN LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DE FLOR DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa*)”

AUTOR

ZEDEÑO VÉLEZ CRISTINA ALEJANDRA

DIRECTOR DEL PROYECTO

DÍAZ SUNTAXI LUIS ANTONIO

Puyo – Ecuador

Enero 2021

DECLARATORIA DE AUTORÍA

Quien suscribe **Zedeño Vélez Cristina Alejandra** con C.I**. 0804358265**, hacen constar que es autor del Proyecto de investigación titulado: **Análisis Bibliográfico De Condiciones Óptimas De Diferentes Cepas De Levaduras En La Obtención De Una Bebida Alcohólica A Partir De Flor De Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*)**, el cual constituye una elaboración personal realizada únicamente con la dirección del Tutor de dicho trabajo, ing. **Luis Antonio Díaz Suntaxi Msc.**. En tal sentido, manifiesto la originalidad de la conceptualización del trabajo como interpretación de datos y elaboración de conclusiones dejando establecido que aquellos aportes intelectuales de otros autores se han referenciado debidamente en el texto de dicho trabajo.

En el cantón Pastaza, a los 3 días del mes de febrero del 2021



…….

Zedeño Vélez Cristina Alejandra

C.I: 0804358265

CERTIFICACIÓN DE APROBACIÓN POR EL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

El tribunal de sustentación del proyecto de investigación/ trabajo de Integración Curricular aprueba el proyecto de investigación/ trabajo de Integración Curricular titulado: **Análisis Bibliográfico De Condiciones Óptimas Y Diferentes Cepas De Levaduras En La Obtención De Una Bebida Alcohólica A Partir De Flor De Jamaica (*Hibiscus Sabdariffa*)**.



Msc. Villafuerte Carrillo Franklin Rolando

Presidente del Tribunal



Msc. Enríquez Estrella Miguel Ángel

Miembro del tribunal



Msc. Hernández Ramos Hiram

Miembro del tribunal

CERTIFICADO DE PORCENTAJE DE SIMILITUD OBTENIDO EN EL SISTEMA ANTI PLAGIO

UNIVERSIDAD ESTATAL AMAZÓNICA
SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND

Certificado No. 12-SAU-UEA-2021

Puyo, 08 de febrero de 2021

Por medio del presente **CERTIFICO** que:

El Proyecto de Investigación correspondiente a la egresada: ZEDEÑO VELEZ CRISTINA ALEJANDRA con C.I. 0804358265, con el Tema: **"ANÁLISIS BIBLIOGRÁFICO DE CONDICIONES ÓPTIMAS DE DIFERENTES CEPAS DE LEVADURAS EN LA OBTENCIÓN DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA A PARTIR DE FLOR DE JAMAICA (Hibiscus sabdariffa)",** de la carrera, Ingeniería Agroindustrial. Director de la investigación Ing. Luis Antonio Díaz. Mg., ha sido revisado mediante el sistema antiplagio URKUND, reportando una similitud del 4%, Informe generado con fecha 04 de febrero de 2021 por parte del director conforme archivo adjunto.

Particular que comunico a usted para los fines pertinentes

Atentamente,

Firmado electrónicamente por:
ITALO
MARCELO

Ing. Italo Marcelo Lara Pilco M.Sc.
ADMINISTRADOR DEL SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND – UEA - .

DERECHOS DE AUTOR

©2020, Cristina Alejandra Zedeño Vélez

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento, siempre y cuando se reconozca el derecho de autor.

DEDICATORIA

A dios, por permitirme llegar a cumplir un objetivo más en mi vida.

A mis padres porque son lo que más amo en esta vida, porque siempre han estado ahí, apoyándome con su incondicional amor.

A mi tía hermosa que es como mi segunda madre, siempre ha estado pendiente mi, cuidándome y pasándome todas sus buenas vibras.

A mis maestros que formaron parte de mi formación profesional y que aportaron con sus conocimientos en el transcurso académico y así poder lograr un objetivo más en mi vida.

Alejandra Zedeño Vélez

AGRADECIMIENTO

Quisiera expresar mi profundo agradecimiento:

A dios por ser mi apoyo y fortaleza en momentos de debilidad. Por ser mi guía y luz en mi vida.

A mis padres por darme todo su amor incondicional, por ser mi pilar fundamental en mi vida, por su apoyo, consejos y toda su paciencia, lo cual me permitieron llegar hasta aquí y convertirme en una profesional.

El más sincero agradecimiento a la Universidad Estatal Amazónica y a los docentes, por brindarme todos sus conocimientos y darme la oportunidad de obtener un título de tercer nivel y ser una profesional.

Al Ingeniero Luis Díaz, tutor de mi proyecto de grado, por su valioso tiempo, y por brindarme todos sus conocimientos académicos en el proceso de esta investigación y por ende culminar con el título de tercer nivel.

Gracias.

Alejandra Zedeño Vélez

RESUMEN

El análisis bibliográfico de las condiciones óptimas y diferentes tipos de levaduras que influyen en la fermentación anaeróbica para obtención de licor a partir de infusión de flor de jamaica (*H. sabdariffa*), se recopilo información obtenida de diferentes publicaciones de pregrado, postgrado, artículos científicos nacionales e internaciones de relevancia, con la finalidad de identificar las características descritas y la variabilidad del proceso de fermentación. A demás el estudio de la existencia de los tipos de géneros de levaduras nativas y comerciales utilizadas en el proceso fermentativo, tomando en cuenta las características, eficiencia y comportamientos de los diferentes microorganismos en las condiciones óptimas para su total desarrollo de la trasformación de azúcar en alcohol y obteniendo como resultado final una bebida de excelente calidad. La levadura más utilizada y recomendada en la elaboración de bebidas alcohólicas por su alto rigor fermentativo, es el género de levadura *Saccharomyces* de especie *S. cerevisiae.*

Palabras clave: vino, Jamaica, azucares, *Saccharomyces*, alcohol.

ABSTRAC

The bibliographic analysis of the optimal conditions and different types of yeasts that influence anaerobic fermentation to obtain liquor from hibiscus flower infusion *(H. sabdariffa)*, information obtained from different undergraduate and postgraduate publications, scientific articles was collected. national and international relevant, in order to identify the characteristics described and the variability of the fermentation process. In addition, the study of the existence of the types of native and commercial yeast genera used in the fermentation process, taking into account the characteristics, efficiency and behaviors of the different microorganisms in the optimal conditions for their full development of the transformation of sugar into alcohol and obtaining an excellent quality drink as a final result. The yeast most used and recommended in the production of alcoholic beverages due to its high fermentation rigor, is the genus of yeast *Saccharomyces* of the species *S. cerevisiae*.

Keywords: wine, Jamaica, sugars, *Saccharomyces*, alcohol

TABLA DE CONTENIDO

CAPITULO 1: INTRODUCCION 1

1.1 Planteamiento del problema 2

1.2 Objetivos 2

1.2.1 Objetivo general: 2

1.2.2 Objetivos específicos: 2

1.3 Justificación 2

CAPITULO 2: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA 3

2.1 Flor de Jamaica (*hibiscus sabdariffa*). 3

2.2 Origen geográfico 3

2.3 Características físicas 4

2.4 Composición química 4

2.5 Usos de la flor de jamaica (*H. Sabdariffa*.) 5

2.6 Bebidas alcohólicas 6

2.6.1 Principales tipos de Bebidas alcohólicas 6

2.7 Levadura 7

2.7.1 Características y clasificación generales de las levaduras 8

2.7.2 Saccharomyces cerevisiae 8

2.8 Fermentaciones mixtas 11

2.9 Fermentación alcohólica 12

2.9.1 Bioquímica de la fermentación alcohólica 12

2.9.2 Tipos de vía de fermentación alcohólica 14

CAPITULO 3: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN 16

3.1 Tipo o Diseño de Investigación 16

3.2 Métodos de Investigación 16

CAPITULO 4: ANÁLISIS DE RESULTADOS 17
4.1 Resultados 17
4.2 Condiciones óptimas del proceso fermentativo 17
4.4.1 Temperatura 17
4.2.2 Aireación:..... 17
4.2.3 pH..... 18
4.2.4 Nutrientes y Activadores: 18
4.2.5 Concentración inicial de azúcares:..... 19
4.5 Eficiencias de los diferentes tipos de levaduras en la fermentación alcohólica 19
4.2 Conclusiones 26
4.3 Recomendaciones 26
REFERENCIAS..... 27
Anexos 33

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Composición química de la flor de jamaica*(Hibiscus sabdariffa)* 5

Tabla 2. Características deseables y no deseables en el proceso de la fermentación alcohólica 10

Tabla 3. Características de las diferentes tipas de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces*..... 20

Tabla 4. Análisis físico químico de licor de flor de jamaica 34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 . Producción de Flor De Jamaica (*hibiscus sabdariffa*)..... 3
Figura 2. *Saccharomyces cerevisiae*..... 8
Figura 3. Velo de flor en la fermentación alcohólica..... 10
Figura 4. Transformación de azucares en etanol 14

CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN

La fermentación alcohólica es un proceso natural y espontaneo, el cual se puede realizar de forma natural, cuando el jugo de diversas frutas y cereales, queda expuesto al aire durante un tiempo determinado; así, por la acción de las levaduras, el azúcar que contienen se transforma en alcohol fermentado obteniendo una bebida alcohólica. (García, 2006).

Las levaduras son microorganismos más importantes del proceso de vinificación y en la elaboración de otros tipos de bebidas alcohólicas. En la actualidad la taxonomía reconoce la existencia de unas 500 especies de levaduras, de las cuales se utilizan de 15 a 20 especies, englobadas en unos 8 géneros entre ellas; *Candida, Pichia, Hansenula, Brettanomyces, kloeckera, Zygosaccharomyces, Torulaspora, Saccharomyces.* Estos microorganismos transforman el azúcar en alcohol etílico y dióxido de carbono. La fermentación alcohólica, comienza después de que la glucosa entra en la celda. La glucosa se degrada en un ácido pirúvico. Este ácido pirúvico se convierte luego en CO_2 y etanol. Desde hace miles de años, la humanidad aprovechó este proceso para hacer pan, cerveza y vino. En estos tres productos se emplea el mismo microorganismo: la levadura común o *Saccharomyces cerevisae.* (Regodón, 1997).

La flor de Jamaica *(Hibiscus sabdarifa)* es una planta anual nativa de África. En el Ecuador se lo encuentra muy difundido, por lo que se restringe a ciertas zonas de nuestra Amazonía, es muy utilizada en infusiones, te, o bebida refrescante, por su alto contenido propiedades depurativas diuréticas, antioxidantes entre otras. De ella se aprovecha el cáliz de la flor que es la parte más carnosa de color rojo oscuro. (Cardenas, 2015).

La presente investigación se analizó los resultados obtenidos de diferentes investigaciones referentes a la fermentación realizada por microorganismos, los resultados obtenidos muestran los diferentes tipos de levaduras y niveles de azúcar para la obtención de licor a partir de flor de jamaica con características físico-química de mejor calidad.

1.1 Planteamiento del problema

¿Cómo influyen las condiciones y tipo de levaduras en la obtención de una bebida alcohólica elaborada con la flor de Jamaica (*hibiscus sabdariffa*)?

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general:

- Analizar las condiciones óptimas de diferentes cepas y levaduras en la obtención de una bebida alcohólica a partir de la flor de Jamaica (*hibiscus sabdariffa*).

1.2.2 Objetivos específicos:

- Establecer las condiciones óptimas de operación y diferentes tipos de levaduras en la producción de una bebida alcohólica.
- Identificar la eficiencia de las levaduras utilizadas en la elaboración de bebidas alcohólicas fermentadas.

1.3 Justificación

En la actualidad la vía fermentativa para producir etanol es competitiva, ya que, es sostenible y se trabaja fundamentalmente en la búsqueda de materias primas con mejores y nuevas características organolépticas, que puedan sustituir a las tradicionales y que vayan acorde con las exigencias de consumidores, de esta manera se busca generar también una mayor eficiencia en los procesos de fermentación, aprovechando precisamente la flor de Jamaica para la obtención de una bebida alcohólica, siendo una de las alternativas para hacer más sostenible el cultivo de las mismas en nuestro país.

La flor de jamaica es muy poco comercializada e industrializada a nivel del Ecuador. La presente investigación se orienta en la recopilación de información bibliográfica en el análisis estadístico de las condiciones óptimas en el proceso de fermentación e identificar el tipo de levadura para la obtención de una bebida alcohólica de alta calidad aprovechando la flor de Jamaica (*hibiscus sabdariffa).*

CAPITULO 2: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1 Flor de Jamaica (*hibiscus sabdariffa*).

Rosa de Jamaica o también conocida como rosa de Abisinia o flor de Jamaica (*H. Sabdariffa*.), es utilizada desde hace siglos por distintas culturas como la Azteca y Africana con fines culinarios. Popularmente se le han atribuido propiedades diuréticas, antihipertensivas, antiparasitarias y laxantes. En los cinco últimos años una serie de trabajos han demostrado la actividad antihipertensiva, hipolipemiante y antioxidante de sus cálices y calículos. Los extractos son ricos en flavonoides y antocianósidos los cuales ejercen una notable actividad antihipertensiva (Hernandez,2009).

Se cultiva principalmente por sus hojas, cálices carnosos, semillas y fibra; sin embargo, el mayor interés comercial se centra en su flor debido a su potencial farmacéutico y alimenticio. Su uso es como alimento o colorante que sustituye a los sintéticos. (PRODUCEGRO, 2013). La flor de jamaica(*H. Sabdariffa*) se puede cultivar en clima tropical y subtropical, con una altura sobre el nivel del mar de 0 a 1400 metros y temperatura de 22 a 25 ºC, dado que su mayor germinación se encuentra a los 25 ºC, en suelos pesados o arcillosos con humedad permanente (ADDESNIC, 2013).



Figura 1 . Producción de Flor De Jamaica (*hibiscus sabdariffa*).
Fuente: Tomado de vivemaravatio 2020.

2.2 Origen geográfico

La (*H. Sabdariffa*) es una especie de la familia de las Malváceas, originaria de África tropical cuyo cultivo se extendió a América Central en el siglo XVII y también al sudeste asiático. China y Tailandia son los mayores productores del mundo. (Hernandez,2009).

En nuestro medio no se lo encuentra muy difundido, por lo que se restringe a ciertas zonas de nuestra Amazonía; los cultivos se los puede encontrar en las provincias de: Napo, Tena y Pastaza en las parroquias de Pomona y Teniente Hugo Ortiz y en Morona Santiago en la zona de Sucúa (Cardenas, 2015).

2.3 Características físicas

Es una planta anual o perenne de base leñosa subarbusto, y crece hasta 2-2,5 m (7.8 pies) de alto. Las hojas tienen de tres a cinco lóbulos, 8-15 cm (3-6 pulgadas) de largo, dispuestas alternativamente en los tallos. Las flores son de 8-10 cm (3-4 pulgadas) de diámetro, de color blanco y amarillo pálido con una mancha de color rojo oscuro en la base de cada pétalo, y tienen una carnosa stout cáliz en la base, de 1-2 cm (0,39 a 0,79 pulgadas) de ancho, ampliando a 3-3,5 cm (1.2 a 1.4 pulgadas), son carnosas y brillantes de color rojo como la fruta madura. Se tarda alrededor de seis meses para madurar. (Rivera, 2015).

2.4 Composición química

La flor de Jamaica mantiene un alto contenido de ácidos orgánicos, tales como el málico, tartárico, y el cítrico. La *H. Sabdariffa* tiene dos pigmentos: la **hibiscina** y la **gosipitina** que son usados como de base natural para jarabes y licores de color. Los sustanciales pigmentos de la planta son las antocianinas: la **cianidina**, el glucósido que poseen propiedades antioxidantes y que no muestran características mutagénicas ni tóxicas (Rivera, 2015). En la siguiente tabla se muestra la composición química de los cálices de la flor de jamaica.

Tabla 1 Composición química de la flor de jamaica*(Hibiscus sabdariffa)*.

Elementos	*Tipos de cálices*	
	Frescos	*Rojos*
Humedad(%)	9.20	86.50
Proteína cruda (%)	1.15	17.40*
Extracto etéreo(%)	2.61	2.10*
Fibra cruda (%)	12.00	8.50*
ceniza(%)	6.90	6.50*
carbohidratos(%)	68.15	65.50*
Ácido ascórbico(mg/100g)	6.70	63.50*
Caroteno(mg/100g)	0.03	-
tiamina(mg/100g)	0.12	-
Rivoflamina(mg/100g)	0.28	-
Niacina (mg/100g)	3.77	-
**en base seca*		

Fuente: Cevallos (2015).

2.5 Usos de la flor de jamaica (*H. Sabdariffa*.)

El extracto o zumo de la flor de jamaica también se usa como saborizante de otro tipo de bebidas azucaradas o alcohólica y algunos medicamentos, uno de los beneficios más conocidos y que han sido motivo principal de la fama de la flor de jamaica es su efecto hipertensivo y diurético.(Nutricioni, 2019).

Actualmente, los numerosos fitoquímicos que hay en las plantas tienen diversos usos en la medicina y en la industria farmacéutica y alimentaria, el extracto de la jamaica se emplean como colorantes naturales para los alimentos y cosméticos, en infusión para la obtención de una bebidas alcohólica la cual observamos el proceso de la elaboración y composición química del licor de flor de jamaica el en el anexos, entre otros productos esta las mermeladas, gelatinas de color rojo brillante y satisfactorio con un sabor ácido. La cocción de las flores también se usa como un sustituto del té o el café por personas que sufren de problemas de salud. Sin embargo, poco se sabe acerca de los efectos farmacológicos de dicha planta, aun cuando se sabe que los constituyentes polisacáridos han sido utilizados para sanar posibles efectos inmunomoduladores.(Carvajal, Waliszewski, & Infanzón, 2015).

2.6 Bebidas alcohólicas

Son los productos alcohólicos aptos para el consumo humano, provenientes de la fermentación, destilación, preparación o mezcla de los mismos, de origen vegetal, salvo las preparaciones farmacéuticas (INEN, 1991). Las bebidas alcohólicas se elaboran a partir de líquidos azucarados sometidos a fermentación alcohólica. (Vásquez, 2013).

Las bebidas alcohólicas fermentadas, originarias de América, sobresalen de las bebidas insalivadas. La saliva humana se utilizaba para elaborar bebidas alcohólicas por medio de la masticación, ya que era un componente fundamental que facilitaba la fluidificación de materias primas de naturaleza amilácea y a su sacarificación obteniendo como resultados las bebidas alcohólicas. (Vásquez, 2013).

2.6.1 Principales tipos de Bebidas alcohólicas

La bebida alcohólica fermentada más importante a nivel mundial es la cerveza, obtenida de la fermentación de cebada y malta, que puede alcanzar un grado alcohólico de 3° a 7°. Dicha fermentación es llevada a cabo por levaduras del género *Saccharomyces*. El vino resulta del proceso de fermentación de la uva y se lleva a cabo en dos etapas: la primera consiste en la obtención del mosto —resultante de la maceración de uvas—, este después se fermenta por *Saccharomyces cerevisiae* y levaduras nativas. (Vincent et al., 2006).

La sidra se obtiene a partir de manzanas trituradas, las cuales son fermentadas por *S. cerevisiae*, producto de esta fermentación se puede alcanzar un grado alcohólico de 9° en esta bebida. (Vicent et al., 2006).

La bebidas alcohólicas, fermentadas y destiladas a nivel mundial son el ron, el whisky, el tequila, el sotol, entre otros. El ron es generado por la fermentación alcohólica de los residuos de caña, que quedan después de la cristalización del azúcar. Esta fermentación se realiza por *S. cerevisiae* en un tiempo aproximado de 5 días, y posteriormente en la destilación se pueden alcanzar temperaturas entre 55° y 65 °C (Vicent et al., 2006).

El whisky es obtenido a partir de la fermentación de la cebada realizada por S. cerevisiae, es madurado en barricas de roble y puede alcanzar concentraciones de alcohol que van de 40° a 43°. El tequila se obtiene de la fermentación y destilación de

mostos de Agave tequilana, y puede alcanzar un grado alcohólico entre 35° y 55°. Para la elaboración del tequila, los carbohidratos de las piñas de agave son previamente hidrolizados o cocidos, y posteriormente fermentados por S. cerevisiae (De León et al., 2006)

El vino es la bebida obtenida de la fermentación alcohólica del mosto de uvas Existen factores como el proceso de vinificación, la variedad y el método de cultivo, que marcan diferencias en los atributos de un vino (Kennedy, 2008); sin embargo, el llamado terruño (terroir), influenciado por la luminosidad, altitud, latitud, régimen pluvial, pendiente, orientación y tipo de suelo, es el que define la tipicidad de la uva y del vino (Torres et al., 2006), lo cual se expresa en el contenido de azúcar, acidez, color y aroma, entre otros. En general, la calidad de una vendimia está determinada por la interacción del cultivar con el suelo y el clima predominante en una región, en un año determinado (Ferrer et al., 2007).

En general, las bebidas fermentadas pueden alcanzar en promedio una concentración de alcohol que oscila entre 3.5° y 14% (v/v), mientras que las destiladas alcanzan una concentración de 35% a 55% (v/v) (García, 2006).

En ambos tipos de bebidas alcohólicas se pueden intervenir diferentes géneros de levaduras con diferentes concentraciones de azúcar.

2.7 Levadura

Se denomina levadura o fermento a cualquiera de los diversos organismos eucariotas, clasificados como hongos, ya sean ascomicetos o basidiomicetos microscópicos, con forma unicelular predominante en su ciclo de vida, generalmente caracterizados por dividirse asexualmente por gemación o fisión binaria y por tener estados sexuales que no están adjuntos a un esporocarpo (cuerpo fructífero) (Salamanca, Osorio, & Montya, 2010).

Los hongos unicelulares producen enzimas capaces de provocar la fermentación alcohólica de los hidratos de carbono. Se conoce también como sustancia fermentada que provoca a su vez la fermentación de otra con la que se mezcla; se emplea en repostería y en la elaboración de licores (Montoya Villafañe, 2008).

2.7.1 Características y clasificación generales de las levaduras

2.7.2 Saccharomyces cerevisiae.

Es una levadura que forma parte del grupo de microorganismos más íntimamente asociado al progreso y bienestar de la humanidad; su nombre deriva del vocablo Saccharo (azúcar), myces (hongo) y cerevisiae (cerveza). Es una levadura heterótrofa, que obtiene la energía a partir de la glucosa y tiene una elevada capacidad fermentativa. Es un microorganismo como se muestra en la figura 2, para la elaboración de alcohol, que a su vez se compone con una valiosa fuente de proteínas y vitaminas (Garrido & Guevara, 2016, págs. 20-22).

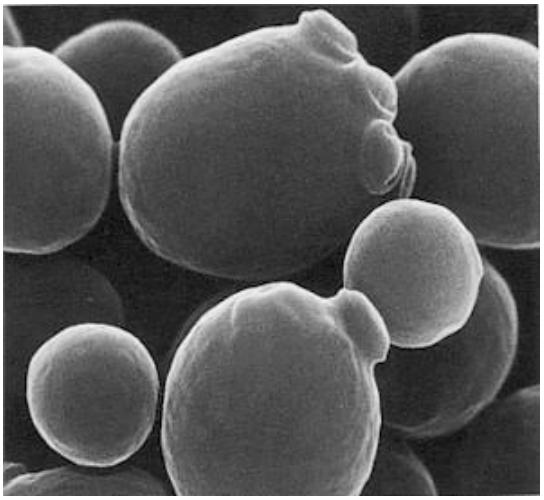

Figura 2. *Saccharomyces cerevisiae*
Fuente: Gallego(2016).

La levadura *S. cerevisiae* es un hongo ascomiceto que ha sido ampliamente estudiado dada su importancia en la industria panadera y vitivinícola, así como por su capacidad de producir etanol. Filogenéticamente de las cepas de (*S. cerevisiae)* se ha encontrado que la especie en su conjunto consta de dos poblaciones, domésticos y salvaje (Schuller et al. 2012). Algunas características de esta levadura que forman parte de su adaptación son el hecho de que pueda metabolizar la glucosa y la fructosa tanto por vía respiratoria como por vía fermentativa, y de crecer en condiciones aerobias o anaerobias (González et al. 2007). Siendo la fórmula simple de fermentación la siguiente (Garcia, 2008):

Azucares + levadura ----- > alcohol etílico + CO2 + calor + otras sustancias

S. cerevisiae es la especie de levadura más importante en la industria es la fermentación del vino, el mejor modelo industrial conocido y aislado para grandes producciones, la levadura *S. cerevisiae*, comprende además ocho especies

estrechamente relacionadas a la fermentación. La opinión común de los vinicultores coincide en que esta especie es un producto de aislamiento y la domesticación de cepas nativas (Gonçalves et al. 2011). En particular se han realizado muchos estudios respecto al comportamiento y características bioquímicas, moleculares y bióticas de esta levadura. Los estudios relacionados con *S. cerevisiae* y su rol en la fermentación han sido, por ejemplo, la caracterización por métodos moleculares, en relación a sus propiedades enzimáticas, modificación genética para producir otras enzimas, detección rápida de los cambios en la población durante los procesos, la detección de otras levaduras que actúan contra *S. cerevisiae* o en sinergia con ella para mejorar el aroma, evaluación de factores nutricionales que afectan su comportamiento o de fracciones celulares que protegen el proceso, etc. (Rojas et al. 2005).

Tiene gran capacidad de crecer en el zumo de uva, pulpa e infusiones azucaradas de plantas aromáticas que se caracteriza por un alto contenido de azúcares y bajo contenido de sustancias de nitrógeno. La especie produce altas cantidades de etanol a la vez que consume el contenido de azúcares y baja el pH (Tiago et al. 2012) que inhiben el crecimiento de cepas no- Saccharomyces (Cocolin et al. 2004). Además de poseer el fenómeno killer, que implica la secreción, por parte de ciertas cepas, de una proteína tóxica de baja masa molecular, llamada toxina killer, a la cual ellas son inmunes, que mata a células sensibles, las cuales pueden ser del mismo o diferentes géneros. Este tipo de interacciones pueden determinar la evolución de las distintas poblaciones de levaduras durante la fermentación. En algunas ocasiones una cepa killer de *Saccharomyces cerevisiae* predomina al final del proceso fermentativo, sugiriendo que la expresión de la toxina le permitió conducir parte de la vinificación. Este fenómeno killer pueden ser un método alternativo para el control de levaduras no deseadas, (Maqueda et al. 2012).

Estas levaduras también están presentes en el envejecimiento de vinos formando una película llamada velo de flor como se muestra en la figura 3, por lo que se llaman levaduras flor, Su crecimiento en la superficie produce cambios importantes en las características del vino debido a su metabolismo oxidativo (Esteve-Zarzoso et al. 2001).



Figura 3. Velo de flor en la fermentación alcohólica.
Fuente: Di Giacomo(2014).

Al seleccionar levaduras comerciales se deben tener en cuenta las propiedades de estas y las características del vino que se quiere producir, tales como la concentración de metabolitos que toleran o se precisan para iniciar con éxito la fermentación, o la temperatura óptima de desarrollo: la mayoría lo hace entre 12 y 36º C; si la temperatura óptima es menor de 30º se denominan criófilas, si se encuentra entre 25 y 35º son mesófilas, y si la temperatura a la que se desarrolla preferentemente es mayor de 35º C se denominan termófilas (Bartra 2000).

A pesar de esto, es más efectivo el uso de cultivos puros de levaduras que procedan de la zona vitivinícola donde se van a utilizar, lo que se conoce como levaduras locales seleccionadas, ya que se cree que las levaduras que se encuentran en una microzona son:

- Específicas del área.
- Totalmente adaptadas a las condiciones climáticas de la zona.
- Totalmente adaptadas a la materia prima, es decir al mosto a fermentar.
- Responsables, al menos parcialmente, de las características únicas de los vinos

Para hacer una selección de levaduras, el criterio dependerá del tipo de fermentación, estos criterios pueden ser los que muestra la siguiente tabla 2.

Tabla 2. Características deseables y no deseables en el proceso de la fermentación alcohólica.

Características deseables	Características no deseables
- Alta tolerancia al etanol - Total, degradación de los azúcares fermentables - Resistencia al SO2	- Producción de SO2 - Producción de H2S - Producción de acidez volátil - Producción de acetaldehído
- Capacidad fermentativa a bajas temperaturas y piruvato - Máxima reducción de la fase de latencia - Degradación del ácido málico - Capacidad fermentativa a altas presiones Producción de glicerol - Producción de β-glucosidasa Fenotipo killer	- Producción de espuma - Formación de precursores del carbamato de etilo - Producción de polifenol oxidasas

Fuente, Viramontes, Peréz(2014).

S. cerevisiae es la levadura más empleada en procesos industriales donde se requiere tener control de la fermentación, aunque también tiene importancia en diversas fermentaciones espontáneas, en donde aproximadamente después de 4 días es la especie predominante. Esta levadura se caracteriza por tener alto poder fermentativo, aunque pose baja capacidad de producir compuestos secundarios, que son los que brindan características organolépticas a las bebidas y alimentos fermentados. Las condiciones de cultivo afectan la producción de compuestos secundarios en *S. cerevisiae,* la cual produce bajos niveles de ésteres de acetate en condiciones aeróbicas, mientras que otras levaduras no- *Saccharomyces*, como, por ejemplo, *Hanseniaspora guilliermondii* y *Pichia anomala* producen altas cantidades de acetato de2-feniletilo y acetatoisoamilico, respectivamente. Las modificaciones por el humano de las condiciones de cultivo de *S. cerevisiae* han hecho que esta levadura se adapte haciendo cambios en su genoma. Se ha detectado diferente número de copias de genes entre especies de *Saccharomyces*, estas variaciones en el número de copias fueron observadas en familias de genes subteloméricos que están relacionadas con funciones metabólicas como homeostasis celular, interacciones célula a célula y transporte de solutos (González, Barcenilla, & Tabera, 2007).

2.8 Fermentaciones mixtas

Usando cultivos de *Saccharomyces cerevisiae* y levaduras no- *Saccharomyces* representan una forma viable hacia la mejora de la complejidad y la mejora de las características particulares y específicas de los vinos. Las posibles interacciones sinérgicas entre diferentes levaduras pueden proporcionar una herramienta para la aplicación de las nuevas tecnologías de fermentación. Por lo tanto, el conocimiento de la interacción de estas levaduras durante la fermentación del vino necesita ser mejorado.

Se ha demostrado que cuando algunas levaduras se desarrollan juntas en condiciones de fermentación, no lo hacen pasivamente, sino más bien interactúan (Ciani et al. 2009).

2.9 Fermentación alcohólica

Es un proceso biológico de fermentación en plena ausencia de oxígeno (- O^2), originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general, azúcares: por ejemplo, la glucosa, la fructosa, la sacarosa, es decir, cualquier sustancia que tenga la forma empírica de la glucosa, es decir, una hexosa) para obtener como productos finales: un alcohol en forma de etanol (cuya fórmula química es: CH^3-CH^2-OH), dióxido de carbono (CO^2) en forma de gas y moléculas de adenosín trifosfato (ATP) que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico (Espinoza, 2013). El etanol resultante se emplea en la elaboración de algunas bebidas alcohólicas, tales como el vino, la cerveza, la sidra, el cava, etc.

La fermentación es un proceso natural y espontaneo, el cual se puede llevar a cabo naturalmente cuando el jugo de frutas y cereales queda expuesto al aire durante un tiempo determinado; así, por la acción de unos hongos microscópicos llamados levaduras, el azúcar que contienen se transforma en alcohol fermentado. (García, 2006).

La fermentación alcohólica debido a su naturaleza biológica inciden sobre su desarrollo una gran variedad de variables y parámetros operacionales tales como: concentración de azúcares, temperatura, pH, concentración de células vivas, cepa utilizada, entre otros. Esta razón provoca que, desde el punto de vista económico, varios de esos parámetros operacionales deban encontrarse dentro de un intervalo restringido para garantizar la mayor eficiencia posible en un tiempo de operación razonable. Todos los estudios que permitan una mejor compresión de esta etapa

contribuirán al perfeccionamiento de los modos de operación y a la eficiencia del proceso (Lopez de la Maza , Zumalacárregui de Cárdenas, & Pérez Ones, 2019).

2.9.1 Bioquímica de la fermentación alcohólica

La fermentación es un proceso mediante el cual las sustancias orgánicas (sustrato) sufren una serie de cambios químicos (reducciones y oxidaciones) que producen energía; cuando finaliza la fermentación se presenta una acumulación de varios productos, unos más oxidados (aceptadores de electrones) y otros más reducidos (donaron electrones) que el sustrato‖. (García, 2006).

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$$

Glucosa ——> 2 Etanol + 2 Dióxido de carbono

El balance energético de la fermentación puede expresarse de la siguiente forma:

$$C_6H_{12}O_6 + 2\ \text{ADP} + 2H_3PO_4 \longrightarrow 2CH_3CH_2OH + 2\ CO_2 + 2\ \text{ATP} + 2H_2O$$

En la fermentación las levaduras descarboxilan el piruvato obtenido de la ruta Embden-Meyerhof-Parnas (glicolisis) dando acetaldehído, y éste se reduce a etanol por la acción del NADH2 (Nicotinamida adenina dinucleótido). Siendo la reacción global, conocida como la ecuación de Gay-Lussac (Espinoza, 2013).

El ATP (trifosfato de adenosina), sin embargo, juega el papel de intermediario y sirve en todas partes para la acumulación de energía, pues para su formación se requiere relativamente poca energía tal y como se muestra en la figura 4. En otras palabras: si, por ejemplo, en el transcurso de una síntesis bioquímica de una sustancia importante para el organismo, debe superarse una etapa que solo es posible mediante el consumo de energía, entra en función el ATP, y entonces la etapa que requiere energía se “acopla” con la rutura del ATP que lo suministra. Cada enlace energético en una molécula de ATP corresponde a unas 10.000 cal/mol. Las levaduras se sirven igualmente de las sustancias nitrogenadas (nitrógeno amoniacal y aminoácidos), presentes en el mosto, para la síntesis de sus proteínas. Se debe considerar que el etanol va aumentando de concentración durante el proceso de fermentación y debido a que es un compuesto tóxico, cuando su concentración alcanza aproximadamente un 12% de volumen las levaduras tienden a morir. Esta es una de las razones fundamentales por la

que las bebidas alcohólicas (no destiladas) no alcanzan valores superiores a los 20% de concentración de etanol (Espinoza, 2013).

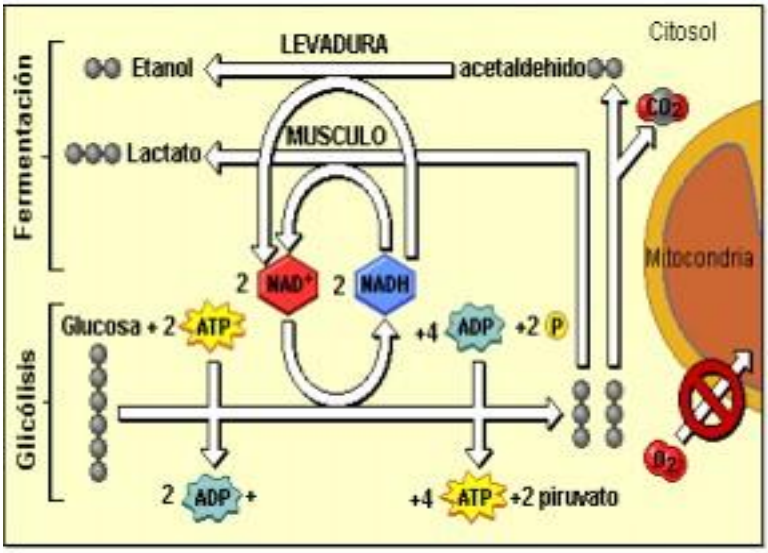

Figura 4. Transformación de azucares en etanol
Fuente: Tomado de Tesis Mora 2014.

La transformación de glucosa en alcohol supone la cesión de 40 kcal. Mientras que la formación de un enlace de ATP necesita 7,3 kcal, por tanto, se requerirán 14,6 kcal, al crearse dos enlaces de ATP. Esta energía es empleada por las levaduras que llevan a cabo la fermentación alcohólica para crecer. De forma que sólo quedan, 40 – 14,6 = 25,6 kcal que se liberan, calentando la masa de fermentación‖ (Doran, 1998).

2.9.2 Tipos de vía de fermentación alcohólica.

Las levaduras pueden obtener la energía que les es necesario para vivir, siguiendo dos vías en la transformación de los azucares del mosto:

- Respiración: vía oxidativa que tiene lugar en presencia de oxigeno (aerobia) y que permite la degradación completa de loa azucares hasta CO2 y agua con gran liberación de energía.

$$C_6H_{12}O_6 + 6\ O_2 \longrightarrow 6\ CO_2 + 6\ H_2O + 36\ ATP$$

- Fermentación: se realiza en la ausencia de oxigeno (anaerobiosis) y provoca una degradación incompleta de los azucares hasta CO y etanol, con escasa liberación de energía. por ello, las levaduras al utilizar esta

vía deben transformar mucho azúcar en alcohol para cubrir sus necesidades energéticas.

$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 6\ CO_2 + 2CH_3\text{-}CH_2OH + 2\ ATP$

Independiente de la vía utilizada, la principal ruta bioquímica en la degradación de los azucares es la glicolisis, a través de la cual la glucosa se transforma en acido pirúvico. En la fermentación alcohólica se pueden distinguir dos etapas. en la primera etapa las levaduras degradan moléculas de azúcar por vía respiratoria: el metabolismo sigue la ruta del glicolisis, pasando el ácido pirúvico formado al ciclo de Krebs con una elevada producción de energía, que permite una rápida multiplicación de las levaduras alcanzando una gran biomasa. esta etapa se mantiene hasta agotar el oxígeno disuelto en el mosto. una vez agotado el oxígeno, las levaduras comienzan a seguir la vía fermentativa. en la ruta fermentativa, el ácido pirúvico formado en la glicolisis se descarboxila a etanal y este a su vez, se reduce posteriormente, a etanol (Epifanio, 2005).

CAPITULO 3: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1 Tipo o Diseño de Investigación:

La presente investigación se enmarco en el enfoque cuantitativo, investigación bibliográfica y exploratorio que se detalla a continuación.

3.2 Métodos de Investigación:

Es un método de investigación no experimental, el mismo que se realizó por medio de revisiones bibliográfica, en las diferentes plataformas de la web tales como: google académico, Scielo, tesis, Dialnet, artículos científicos, artículos de revista, bibliotecas virtuales, libros, repositorios digitales.

Se realizó la búsqueda de información bibliográfica sobre las condiciones óptimas y diferentes cepas de levaduras en la obtención de una bebida alcohólica a partir de la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*).

Se empezó con el análisis de la información obtenida de las diferentes plataformas de la web y la selección de información verídica con relación al tema del presente proyecto específico.

Se cumplió con la redacción del perfil del proyecto de investigación ya obtenida la información veraz y útil. Después se realizó las comparaciones bibliográficas del presente proyecto de investigación.

CAPITULO 4: ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1 Resultados

4.2 Condiciones óptimas del proceso fermentativo

4.4.1 Temperatura

Según Batra (2000) la activación de las levaduras está en un rango de temperaturas entre 12 y 35 ºC, si la temperatura óptima es menor de 30º se denominan criófilas, si se encuentra entre 25 y 35º son mesófitas, y si la temperatura a la que se desarrolla preferentemente es mayor de 35º C se denominan termófilas.

Por encima de 35 ºC el riesgo de que no continúe con el proceso fermentativo es muy elevado, al igual que el de alteración bacteriana ya que a estas elevadas temperaturas las membranas celulares de las levaduras dejan de ser tan selectivas, emitiendo substratos muy adecuados para las bacterias. (Gonzáles & Sandoval, 2015).

Según Santamaría , et al., (1995) La temperatura idónea para la elaboración de bebidas fermentadas se encuentra alrededor de 18°C, obteniendo como resultado final una bebida alcohólica con mejores características organoléptica.

4.2.2 Aireación:

Según Suarez e Iñigo(2004) la velocidad de fermentación al comienzo del proceso depende estrechamente de las condiciones de aireación, siendo más alta cuando los mostos están más airados.

El oxígeno es necesario para las levaduras solo al comienzo de la fermentación en un tiempo de 24 horas. Después se procede a la fermentación en condición anaeróbica. Una aireación excesiva no produce alcohol, sino que agua y anhídrido carbónico debido a que las levaduras cuando viven en condiciones aeróbicas, no utilizan los azúcares por vía fermentativa sino oxidativa para obtener con ello mucha más energía. (Gonzáles & Sandoval, 2015). Al contrario, si el mosto tuvo una aeración con poco oxigeno inicial producirá menor cantidad de levaduras al comienzo de la fermentación y consecuentemente la fermentación tumultosa será más lenta e incluso podría detenerse. (Regodón, 1997).

4.2.3 pH

Por lo general del mosto varía entre 3-4 dependiendo de la concentración de los ácidos tartárico y málico, este valor se genera usualmente en la fermentación, la principal especie de levadura que se utiliza en el proceso fermentativo es la *S. cerevisiae*, para poder desarrollarse al máximo necesita un pH superior a 3.5(Fleet y Heard,1993), pero entre un ph de 2.8 y 3.5 el crecimiento de la levadura no se ve muy afectada (Peynaud,1993).

Según Gonzáles & Sandoval (2015), Cuanto menor es el pH más difícil será para las levaduras fermentar, aunque más protegido se encuentra el vino ante posibles ataques bacterianos. Además, más elevada será la fracción de sulfuroso que se encuentra libre y retrasaría la acción fermentativa de las levaduras.

Si el mosto contiene un pH muy elevado que lo requerido, estos son modificados mediante la acción del ácido tartárico, la cual tiene como finalidad impedir el desarrollo excesivo de bacterias sin afectar significativamente a las levaduras responsables y continúen con su función sin problemas (Valcarcel et al.,1990).

4.2.4 Nutrientes y Activadores:

Es imprescindible que el mosto contenga nutrientes, vitaminas y la concentración de azúcar adecuada, así también como la acidez y el contenido en sustancias fenólicas dependiendo de las cantidades influye de forma significativa en el proceso fermentativo. Para que la fermentación sea rápida y completa se debe de tener muy en cuenta durante las fases exponencial y estacionaria del crecimiento de las levaduras respectivamente lo que ocurre con el contenido inicial en azucares reductores, este debe ser inferior a 200g/l por lo contrario si es superior a esa cantidad en la etapa final de la fermentación se dará un declive con una actividad metabólica reducida, lo que llevaría a cabo una parada prematura de la fermentación. (Regodón, 1997). Es indispensable los azucares en las primeras fases para obtener energía necesaria para sus procesos vitales.

En la actualidad las industrias enológicas han desarrollado activadores complejos de fermentación, que son productos cuyo objetivo es aumentar la complejidad nutricional del mosto supliendo las deficiencias de nutrientes y vitaminas, facilitando el metabolismo de las levaduras nativas o comerciales. Nutrientes tales

como el fosfato amónico incide en la cinética fermentativa, con arranques de fermentación más rápidos y duraciones de fermentación más cortas, independientemente del microorganismo empleado en el proceso. (Gonzáles & Sandoval, 2015).

La presencia de las vitaminas como; inositol, biotina, tiamina entre otras, en el mosto suelen ser muy eficiente para asegurar una fermentación adecuada. Se han observados en diferentes casos cuando se genera una parada fermentativa es debido a la deficiencia de la tiamina(vitamina B1). (Castino, 1994).

Por lo que se debe tomar muy en cuenta las concentraciones adecuadas delos nutrientes, vitaminas y en especial la especie de levaduras que se llevara a cabo en el proceso de elaboración de una bebida alcohólica ya sea vinos, cervezas u otros licores fermentados.

4.2.5 Concentración inicial de azúcares:

Se recomienda tener una concentración de 22 a 24 % de azúcar tal que el proceso de fermentación se lleve a cabo con éxito. Si las levaduras no obtienen la cantidad de azúcar necesaria, pueden para el proceso (Gonzáles & Sandoval, 2015)..La concentración va a variar dependiendo del tipo de azúcar así con del tipo de levaduras que se va a utilizar en la fermentación.

4.5 Eficiencias de los diferentes tipos de levaduras en la fermentación alcohólica.

Las levaduras son microorganismos muy importantes en el proceso para la elaboración de bebidas fermentadas, se encuentras ocho géneros de levaduras que se utilizan más en el proceso de la (FA) en la tabla a continuación observaremos la eficiencia y características de estos géneros de levaduras con algunas especies específicas de cada una de ellas. Por lo general la levadura que se utiliza con mayores frecuencias en las industrias de elaboración de vino, cerveza y otras bebidas fermentadas, es la del genero *Saccharomyces*, esta levadura produce niveles altos de alcohol.

Tabla 3. Características de las diferentes tipas de levaduras *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces.*

Tipos de levaduras	***Especies***	***Características***
Candida	*C. vini,* *C. stellata* *C.pulcherrimmia* *C.colluculosa* *C.magnolia* *C. utilis* *C. pelliculosa*	-Ninguna de ellas esporulan. -Crecen sobre la superficie del vino, oxidando el etanol y produciendo diversos productos finales. -Algunos perjudica a la calidad del vino. -Son débilmente fermentativas -*C. stellata* es una gran productora de glicerol, que aporta un matiz aterciopelado a los vinos.
Pichia	*P. membranaefaciens* *P. vini* *P. farinosa*	-Producen ascosporas -Forman velo sobre la superficie de los vinos. -Son inhibidas por el nivel del etanol próximos al 10%(v/v) dependiendo de la temperatura algunas pueden llegar a crecer con niveles de etanol superiores al 13%
Hansenula	*H. anomala*	-Forma parte de la flora nativa procedente de la uva. -Esta levadura forma parte frecuente pseudomicelio - Su producción sexual produce de 2 a 4 ascosporas por asca con forma de sombrero.

		-*H anomala* es oxidativa y débilmente fermentativa (0,2 a 4,5% de etanol). -Forma grandes cantidades de ácido acético y esteres volátiles, particularmente acetato de etilo y acetato de isoamilo. -Cuando el crecimiento de la levadura se produce en las etapas tempranas de la fermentación, la formación de esteres suele tener efecto beneficioso sobre los aromas del vino.
Brettanomyces	*B. intermedius.*	-Son aisladas de los vinos. -Son levaduras parecidas microscópicamente a *S. cerevisiae*, aunque suelen ser más pequeñas. -crecen en presencia de cantidades mínimas de azucares reductores (Saavedra et al.,2005). -Se adapta perfectamente a los valores de pH más bajos y elevadas concentraciones de etanol (Fleet & Heard, 1993). -Pueden producir alteraciones en el vino. -Son levaduras fermentativas, aunque fermenta lentamente, siendo capaces de producir hasta en 11-12%(v/v) de etanol, motivo por el que son difíciles

		de detectar durante la vinificación. -Producen turbidez en los vinos. -Concentran grandes cantidades de ácidos volátiles(hasta 7,2 g/l) y esteres. -Estas levaduras son encuentran frecuentes en bodegas con mala condiciones sanitarias. -Son relativamente sensibles al SO2
kloeckera	*K. apiculata*	-Su forma perfecta *Hanseniaspora*. -Son las típicas levaduras apiculadas con forma de limón. - Son muy abundantes en las primeras etapas de la fermentación de los mostos. siendo las especies dominantes cuando el mosto no ha sido sulfitados. -Crece en altas concentraciones de glucosa -Produce elevadas concentraciones de glicerol -Son muy sensibles al SO_2. si bien, el crecimiento de *K. apiculata* se ha observado en el mosto con 150mg/l de SO_2. -Algunas estirpes de *H. uvarum* producen toxina killer, la cuáles pueden retardar el crecimiento de *S. cerevisiae*.

		- Predomina durante los primeros 3-4 días de la fermentación alcohólica espontanea -Se inhibe debido a la alta concentración de etanol. -Algunas especies pueden producir ácido acético y acetato de etilo que deterioran la calidad del vino.
Zygosaccharomyce	*Z. bailii* *Z. veronae*	-Son levaduras fermentativas y osmofila que forman ascas persistentes. -Conteniendo 1 a 4 ascosporas globosas o elipticas. - *Z. bailii* pueden parecer en vinos dulces e inclusos en mostos concentrados. -Resistente al SO_2, ácido sorbico, ácido benzoico y otros conservantes. -Sobreviven en pH inferiores a 2 y en niveles de etanol superiores al 15%(v/v). -*Z. veronae* tiene buenas propiedades enológicas, destacando su baja producción de acidez volátil. -Se aísla habitualmente , al igual que *Torulaspora*, en la segunda fase de la fermentación. -Se recomienda su uso para la fermentación escalar junto a otras levaduras de alto poder fermentativo.

Torulaspora	*T. delbrueckii*	-Son levaduras similares a *Zygosaccharomyce*, pero no son osmotolerantes -Forma ascosporas globosas o elípticas que pueden ser lisas o rugorosas y con 1 a 4 esporas por asca. -*T. delbrueckii*, es una levadura con alto vigor fermentativo, aceptable poder (10%) -Buena resistencia a los antisépticos. se encuentra con frecuencia en los mostos en fermentación espontanea, tanto en presencia o ausencia de sulfuroso.
Saccharomyces	*S. bayanus* *S. boulardii* *S. cerevisiae* *S. uvarum*	-Morfológicamente son esféricas o elipsoidales, con un diámetro aproximado de 8μm, forma ascas típicas en forma de tétrada. -Son persistentes y usualmente contienen de 1 a 4 ascosporas. -Son levaduras fermentativas por excelencia, principalmente responsable de la fermentación de los mostos y que producen en algunos casos (*S. cerevisiae*) niveles de etanol superiores al 18%(v/v). -Algunas especies pueden crecer mediante metabolismo oxidativos sobre la superficie del vino(levaduras

		de flor), dando lugar a la produccion de cantidades importantes de acetaldehído y otros compuestos secundarios, siendo imprescindibles para la elaboración de los típicos vinos finos. -Resistentes a altas concentraciones de SO_2

Fuente, Regodón (1997), Fleet & Heard, (1993). Saavedra et al.,(2005).

4.2 Conclusiones

- Se identificó las condiciones óptimas en el proceso fermentativo obteniendo de la información de artículos científicos, tesis y documentos con resultados relevantes en su proceso para la obtención de una bebida alcohólica de excelente calidad. La temperatura adecuada registrada en las investigaciones se encuentra 18 °C, para el mejor funcionamiento de la levadura, su pH es de 3.5 a 5.5 rango óptimo de activación de la cepa, y una concentración de azúcar del 23%, dentro la selección de distintas cepas de microorganismo la acción fermentativa por su alta producción de etanol es la especie de levadura *S. cerevisiae.*
- La eficiencia de las levaduras con mayor rigor fermentativo se identificó dentro del género de la levadura *Saccharomyces* la especie *S. cerevisiae*, que en el proceso de vinificación alcanzan niveles de etanol superiores a 18% (v/v). Obteniendo una bebida alcohólica con características de excelente calidad.

4.3 Recomendaciones

- Implementar sistemas industriales controlados de calidad de la materia prima, condiciones físico químicas y la utilización de cepas nativas de levaduras *Saccharomyces cerevisiae*, para la obtención de bebidas alcohólicas.
- Promover investigaciones específicas sobre aislamientos de levaduras nativas y comerciales de distintas frutas utilizadas para las fermentaciones de licores de manera industrial y artesanal.
- Hacer uso de estos datos obtenidos para la implementación y mejora de sus procesos fermentativos en la elaboración de licores.

REFERENCIAS

Carvajal, O., Waliszewski, S., & Infanzón, R. M. (2015). Los usos y maravillas de la Jamaica. Mexico. Retrieved from http://mundialsiglo21.com/novedades/2015_usos de la jamaica.pdf

Doran, Pauline, ―Principios de Ingeniería de los Bioprocesos‖, Editorial Acribia, S.A, España, 1998. 385 p.

Cocolin, L., Pepe , V., & Comitini , F. (2004). Rasgos enológicos y genéticos de Saccharomyces cerevisiae aislados de bodegas antiguas y modernas. *FEMS Yeast Research, 5*, 237-245.

Ferrer, M., Pedocchi, R., Michelazzo, M., & Gonzalez, G. (2007). Delimitación y descripción de regiones vitícolas del Uruguay en base al método de clasificación climática multicriterio utilizando índices bioclimáticos adaptados a las condiciones del cultivo. *Agrociencia*, 47-56.

Saavedra, D., Godoy, P., Narváez, C., Zepeda, S., Urrutia, M., Brevis, P., & Reyes, E. (2005). Brettanomyces, un Contaminante en Nuestras Viñas. *Ciencia &Trabajo*, 93-96.

Suarez, J., & Iñigo, B. (2004). *Microbiología enológica: fundamentos de vinificación* . España: Mundi-Prensa.

Vincent , M., Zaragoza , J., & Álvarez, S. (2006). *Química industrial orgánica.* España: Universitat Politècnica de València.

Bartra, E. (2000). Genética de levaduras. *Revista ACE de enología*. Obtenido de http://www.acenologia.com/dossier52.htm#arriba

Cardenas, I. (2015). Respuesta Del Cultivo De Jamaica (Hibiscus Sabdariffa L.) a la fertilización foliar complementaria con tres bioestimulantes a tres dosis en la Parroquia Teniente Hugo Ortíz. *(Tesis).* Universidad Central Del Ecuador, Quito.

Castino, M. (1994). *Vini bianchi tecnologia di produzione.* Bologna: Edagricole Edizione.

Cevallos, M. (2015). Procesamineto de flor de jamaica(hibiscus sabdariffa) desecado para la preparación de yogurt y bebidad con alta concentración nutracéuticas. *(Tesis de grado).* Universidad De Guayaquil, Guayaquil.

Ciani, M., Comitini , F., Mannazzu , I., & Domizio, P. (2009). Controlled mixed culture fermentation: a new perspective on the use of non-Saccharomyces yeasts in winemaking. *FEMS Yeast Res*, 123-133.

De León, A. (2006). Caracterización de compuestos volátiles de mezcal, una bebida alcohólica étnica obtenida del Agave salmiana. *Agricultural and Food Chemistry*, 1337-1341.

Epifanio, S. (2005). La influencia de la tecnología de la vinificación en la microbiología y el desarrollo de la fermentación alcohólica. *(Tesis de grado).* Universidad De La Rioja, España. Obtenido de https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=350

Escalante, E., Rychtera, M., Melzoch, K., Hatta, B., Quillama, E., Ludeña, Z., . . . Chaquilla, G. (2011). Actividad fermentativa de Hanseniaspora uvarum y su importancia en la producción de bebidas fermentadas. *Sociedad Venezolana De Microbiología*. Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1315-25562011000100011#:~:text=Hanseniaspora%20uvarum%20es%20una%20levadura,inhibidores%20%5B1%2C2%5D.

Espinoza, F. (2013). Obtención De Etanol Mediante Hidrólisis Alcalina, Enzimática Y Fermentación A Partir Del Excedente Orgánico Del Banano Variedad Musa Paradisiaca. *(Tesis).* Universidad Central Del Ecuador, Quito.

Esteve-Zarzoso , B., Peris-Torán, M., García-Maiquez , E., Uruburu, F., & Querol , A. (2001). Dinámica de las poblaciones de levaduras durante la fermentación y el envejecimiento biológico de los vinos de Jerez. *Applied and Environmental Microbiology*, 2056–2061. Obtenido de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC92836/

Fleet, G., & Heard, G. (1993). *microbiología y biotecnología del vino.* New York: Harwood Academic Publishers.

García, T. (2006). *Fermentación Alcohólica.* Obtenido de GreenFacts: https://www.greenfacts.org/es/alcohol/index.htm

Garrido, N., & Guevara, C. (2016). Levadura Saccharomyces cerevisiae y la produccion de alcohol. Revicion bibliografica. *Instituto Cubano de Investigaciones sobre los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA).*, 20-22.

Gonçalves , P., Valério, E., Correia, C., de Almeida, J., & Sampaio, J. (2011). Evidencia de evolución divergente de la preferencia de temperatura de crecimiento en especies de Saccharomyces simpátricas. *Plos One*. Obtenido de https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0020739

Gonzáles, Y., & Sandoval, E. (2015). Elaboración de vino de jamaica (Hibiscussabdariffa)en el periodo de marzo- diciembre 2015. *(Tesis de grado).* Universidad Autonoma De Nicaragua, Nicaragua.

González, R., Barcenilla, J., & Tabera, L. (2007). Cepas vínicas de Saccharomyces cerevisiae con bajo rendimiento en etanol. *ACE*. Obtenido de http://www.acenologia.com/ciencia86.htm#arriba

Gutiérrez, A. (2013). Análisis del metabolismo nitrogenado durante la fermentación alcohólica en levaduras vínicas (Nitrogen metaolism in wine yeast during alcoholic fermentation: effect on growth, fermentation activity and aroma production). *(Tesis Doctoral).* Universitat Politècnica de València, España.

INEN. (1991). Bebidas Alcoholicas. Obtenido de https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/1837.pdf

Kennedy, J. (2008). Fenólicos de la uva y el vino: observaciones y hallazgos recientes. *Ciencia e Investigación Agraria*, 79-90. Obtenido de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-16202008000200001&script=sci_arttext

LEE, Y. K. (2006). *Microbial Biotechnology_ principles and apllications.* (I. 981-256-676-7, Ed.) Word cientific cap 8.

Lopez de la Maza , L., Zumalacárregui de Cárdenas, L., & Pérez Ones, O. (2019). Análisis de componentes principales aplicado a la fermentación alcohólica. *Revista cientifica de la UCSA*, 11-18.

Maqueda, M., Zamora , E., Álvarez, M., & Ramírez , M. (2012). Caracterización, distribución ecológica y dinámica poblacional de levaduras asesinas Saccharomyces sensu Stricto en las fermentaciones espontáneas de mosto de uva del suroeste de España. *Applied and Environmental Microbiology*, 735-743.

Mendoza, R., & Salcedo, R. (2014). Determinación Experimental De La Cinética Aparente De La Degradación Del O-Clorofenol Por Ozono En Medio Acuoso. *(Tesis).* UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERÚ, Perú.

Montoya Villafañe, H. H. (2008). *Microbiología básica para el área de la salud y afines.* Colombia: Universidad de Antioquia.

Morrison, & Boyd. (1998). *Quimica Orgánica.* México: Addison Wesley.

Ocón, M. (2014). Diversidad de levaduras no-saccharomyces en diferentes ecosistemas vitinícolas. *(Tesis Doctoral).* Universidad De La Rioja, Logroño.

Ortíz, M. (2015). Propiedades de levaduras Saccharomyces y no Saccharomyces, aisladas de ambientes naturales. *(Tesis Doctoral).* Universidad de Castilla-La Mancha, Cuidad Real. Obtenido de https://ruidera.uclm.es/xmlui/bitstream/handle/10578/7832/TESIS%20Ortiz%20Navarro.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Peynaud, É. (1993). *Enología práctica: Conocimiento y elaboración del vino* . Madrid: Mundi-Prensa.

Regodón, J. (1997). Obtención y caracterización de cepas autóctonas de levaduras para la elaboración estandarizada de vinos de calidad. *(Tesis Doctoral).* Universidad De Extremadura, Badajoz.

Rivera, G. (2015). Estudio De Mercado Para La Producción Y Comercialización De Infusiones De Té Extraidas De La Flor Jamaica. *(Tesis).* Universidad Católica De Santiago De Guayaquil, Guayaquil. Obtenido de http://repositorio.ucsg.edu.ec/bitstream/3317/3281/1/T-UCSG-PRE-ESP-CFI-148.pdf

Riveros, M., Parada , A., & Pettinelli, P. (2014). Consumo de fructosa y sus implicaciones para la salud; malabsorción de fructosa e hígado graso no alcohólico. *Scielo*.

Rojas, R., & Reyes, E. (2005). Aseguramiento de la Calidad y Biotecnología en la Industria del Vino. *Ciencia & trabajo*, 97-103.

Salamanca, G., Osorio, M., & Montya, L. (2010). Elaboracion de una bebida funcional de alto valor biologico a base de borojo(Borojoa patinoi cuatrec).

Santamaría , M., López , R., Gutiérrez, R., & García, E. (1995). Influencia de la temperatura en la fermentación alcohólica. *I.N.I.A.*, 137-149.

Schuller , D., Cardoso, F., Sousa, S., Gomes, P., Gomes, A., Santos, M., & Casal, M. (2012). Diversidad genética y estructura poblacional de cepas de Saccharomyces cerevisiae aisladas de diferentes variedades de uva y regiones vitivinícolas. *Plos One*.

Stryler, L. (1975). *Biochemistri.* (I. 0-7167-0174-x, Ed.) W. H. Freeman and company.

Tiago , V., Loureiro, M., Loureiro, V., & Prista, C. (2012). Homeostasis H + peculiar de Saccharomyces cerevisiae durante las últimas etapas de la fermentación del vino. *Applied and Environmental Microbiology*, 6302-6308. Obtenido de https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3416607/

Torija, M. (2002). Ecología de levaduras: selección y adactación a fermentaciones vinicas. *(Tesis Doctoral).* Universitat Rovira I Virgili, Tarragona.

Torres, M., Garcia , P., Pombo, F., & Cicero, A. (2006). Índice radiotérmico para el cultivo de la vid. *Rev. Fac. Ciencias Agrarias*, 19-23. Obtenido de https://www.redalyc.org/pdf/3828/382838559003.pdf

Valcárcel, M., Rodríguez, L. P., & Domecq, B. (1990). Efecto de las prácticas enológicas en vendimia sobre las levaduras responsables de la fermentación de mostos de Jerez (III) Modificación del pH por corrección de la acidez. *Alimentación, equipos y tecnología*, 169-172.

Vásquez, I. (12 de Septiembre de 2013). Determinación de acetato de etilo en bebidas alcohólicas destiladas con añejamiento (ron) por el método de cromatografía de gases. *(Tesis).* Universidad Central Del Ecuador, Quito.

Viramontes, R., & Pérez , R. (2014). Levaduras vínicas. *Revista de enologia cientifica y profecional*.

Ward, O.P, ―Biotecnología de la Fermentación‖, Primera edición, Editorial Acribia S.A., Zaragoza, 1991. 415 p.

ANEXOS

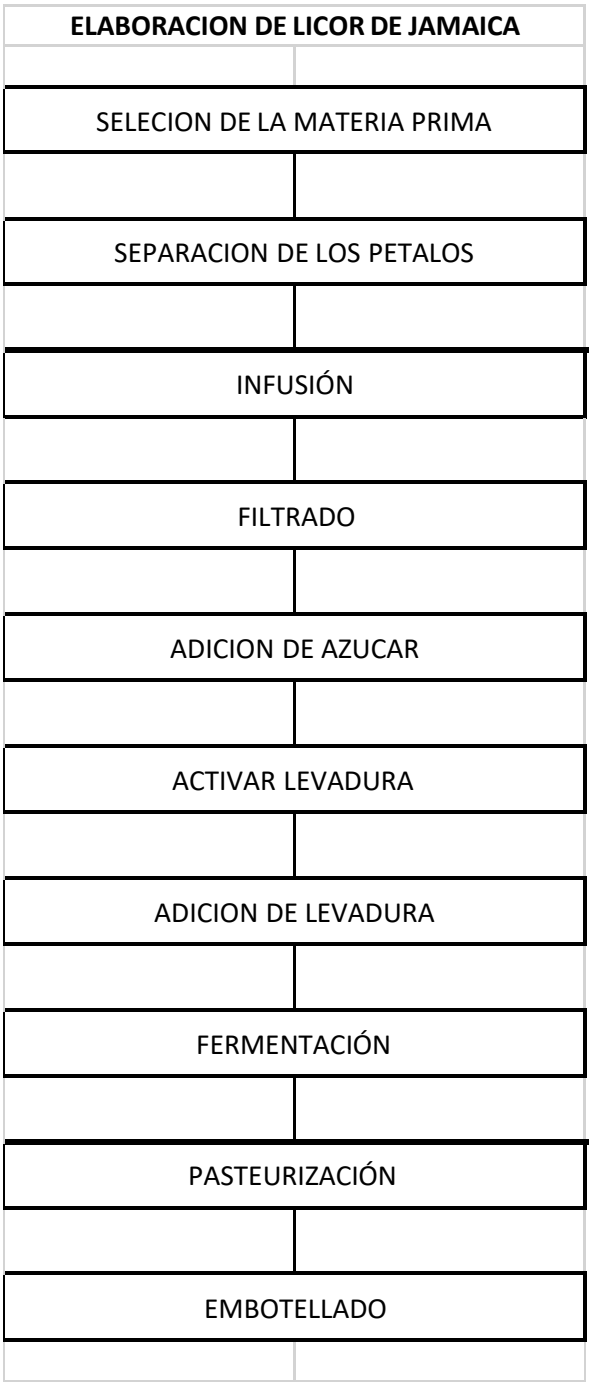

Ilustración 1. Diagrama de flujo de elaboración de licor de flor de jamaica (*hibiscus sabdariffa)*
Fuente: Rivera, 2018

Tabla 4. Análisis físico químico de licor de flor de jamaica.

	T1		T2		T3		T4		T5		T6		T7		T8		T9		CV	E	p	Sig.
Humedad%	98.90	G	87.49	f	82.93	e	99.04	E	87.35	f	79.04	c	80.26	d	77.32	b	74.39	a	0.66	0.3181	<0.0001	**
Densidad 20°C	1.00	D	0.99	d	1.09	f	1.00	D	1.00	d	1.01	e	0.97	c	0.95	b	0.93	a	0.46	0.000	<0.0001	**
Alcalinidad de la ceniza	23.14	De	25.13	e	16.16	a	20.15	Bc	24.14	de	18.16	ab	21.62	cd	22.41	cde	23.19	De	6.00	1.6765	<0.0001	**
°Brix	2	A	13	c	21	de	2	A	10	b	24	fg	20.21	d	22.84	ef	25.47	g	4.42	1.3420	<0.0001	**
pH	2.66	Ef	2.54	b	2.5	a	2.61	D	2.68	g	2.57	c	2.65	e	2.67	fg	2.7	h	0.26	0.0000	<0.0001	**
Minerales g/L	1.04	E	0.70	b	0.58	a	0.59	Ab	0.99	de	0.67	ab	0.86	c	0.92	cd	0.98	de	6.40	0.0027	<0.0001	**
% g ac. Acético	1.46	F	1.16	ef	0.95	cde	0.71	Bcd	0.46	ab	0.22	a	0.51	abc	1.29	ef	1.07	def	24.07	0.0350	<0.0001	**
g/L NaCl	0.81	Ef	0.69	de	0.92	f	0.92	F	0.69	de	0.58	cd	0.48	bc	0.35	ab	0.23	a	14.12	0.0079	<0.0001	**
% g ac. Sulfúrico	0.06	A	0.06	a	0.06	a	0.06	A	0.07	bc	0.060	ab	0.07	bc	0.07	c	0.07	c	4.13	0.000	<0.0001	**
% g ac. Tartárico/ L	5.20	Bc	4.98	b	5.05	b	4.53	a	5.79	e	5.05	b	5.41	cd	5.54	de	5.67	de	2.51	0,0174	<0,0001	**
SO2 libre(mg/L)	0.03	A	0.05	b	0.05	b	0.03	a	0.05	b	0.05	b	0.05	b	0.06	c	0.06	d	0.95	0.0000	<0,0001	**
SO2 total (mg/L)	0.05	A	0.05	a	0.11	b	0.27	d	0.11	b	0.19	c	0.16	c	0.16	c	0.25	d	15.33	0.0006	<0,0001	**

Fuente: Rivera, 2018