



UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA INGENIERÍA E
INDUSTRIAS**

CARRERA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS

**ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE LOS ANTIOXIDANTES DEL
VINO DE FLOR DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa L*) EN EL
ALMACENAMIENTO**

**TRABAJO PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO
DE INGENIERA DE ALIMENTOS**

CRISTINA GABRIELA LÓPEZ CARRERA

DIRECTOR: ING. CARLOS GONZÁLEZ, MSc.

Quito, Marzo 2017

© Universidad Tecnológica Equinoccial. 2017
Reservados todos los derechos de reproducción

FORMULARIO DE REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

PROYECTO DE TITULACIÓN

DATOS DE CONTACTO	
CÉDULA DE IDENTIDAD:	1724525850
APELLIDO Y NOMBRES:	López Carrera Cristina Gabriela
DIRECCIÓN:	Calle Leonardo Murialdo E15-69
EMAIL:	cris-lopc@hotmail.com
TELÉFONO FIJO:	022415634
TELÉFONO MOVIL:	0984411955

DATOS DE LA OBRA	
TÍTULO:	“Estudio de estabilidad de los antioxidantes del vino de flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) en el almacenamiento”
AUTOR O AUTORES:	López Carrera Cristina Gabriela
FECHA DE ENTREGA DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	09 de enero del 2017
DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN:	Ing. Carlos González, MSc.
PROGRAMA	PREGRADO <input checked="" type="checkbox"/> POSGRADO <input type="checkbox"/>
TÍTULO POR EL QUE OPTA:	Ingeniera de Alimentos
RESUMEN: Mínimo 250 palabras	En la actualidad existe un importante interés en el estudio de alimentos que contienen compuestos antioxidantes, que son moléculas capaces de interactuar con especies reactivas al oxígeno, denominadas también como radicales libres. Los niveles elevados de radicales libres en las células

generan daños, por lo que están estrechamente relacionados con enfermedades carcinogénicas y mutagénicas. Muchas investigaciones han determinado que la flor de jamaica es rica en compuestos fenólicos principalmente antocianinas y flavonoides como la delphinidina-3-sambubiosido, delphinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido, cianidina-3-sambubiosido, quercetina y kaempferol. El vino es una bebida rica en antioxidantes procedentes de la materia prima con la que fue elaborado y de la evolución de los mismos durante la fermentación. El objetivo de este trabajo fue estudiar de la estabilidad de los antioxidantes del vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) en dos condiciones de almacenamiento. Un grupo de muestras de vino fue sometido a refrigeración a 6 °C, y otro grupo a condiciones ambientales a 21 °C, durante 14 días de almacenamiento. Se determinaron las características físico-químicas del vino, y mediante la aplicación de un análisis estadístico de Anova simple, se evaluaron los parámetros físico-químicos, contenido total de polifenoles, capacidad antioxidante

	<p>durante la etapa de almacenamiento y su influencia en la pérdida de vida útil del vino. Finalmente se realizó un análisis sensorial de aceptabilidad global. Durante la investigación se observó que el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante fue mayor en los vinos sometidos a condiciones ambientales, manteniendo valores de 139.32, 142.74 y 140.95 mg equ. ácido gálico/100 mL muestra en los días 0, 7 y 14 respectivamente. La capacidad antioxidante fue de 8.21, 7.62 y 7.69 Equiv mM Trolox/100 mL muestra en los días 0, 7 y 14 respectivamente. El vino almacenado en condiciones ambientales durante 14 días, tuvo la mejor respuesta respecto a los atributos sensoriales de olor, sabor y aceptabilidad global.</p>
<p>PALABRAS CLAVES:</p>	<p>Vino, Flor de Jamaica, Almacenamiento, Vida útil, Capacidad antioxidante, Polifenoles</p>
<p>ABSTRACT:</p>	<p>At present there is an important interest in the study of foods containing antioxidant compounds, which are molecules capable of interacting with species reactive to oxygen, also called free radicals. Elevated levels of free radicals in cells cause damage, so they are closely</p>

related to carcinogenic and mutagenic diseases. Many studies have determined that jamaica flower is rich in phenolic compounds mainly anthocyanins and flavonoids such as delphinidin-3-sambubioside, delphinidin-3-glucoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-sambubioside, quercetin and kaempferol. Wine is a drink rich in antioxidants from the raw material with which it was made and the evolution thereof during fermentation. The objective of this work was to study the stability of the antioxidants of jamaica flower wine (*Hibiscus sabdariffa L*) under two storage conditions. One set of wine samples was refrigerated at 6 ° C and another group at ambient conditions at 21 ° C for 14 days storage. The physic-chemical characteristics of the wine were determined, and by means of the statistical analysis of Anova simple, physical-chemical parameters, total content of polyphenols, antioxidant capacity during the storage stage and their influence on the loss of shelf life of wine. Finally a sensorial analysis of global acceptability was carried out. During the investigation it was observed that polyphenol content and

	<p>antioxidant capacity were higher in wines subjected to environmental conditions, maintaining values of 139.32, 142.74 and 140.95 mg equ. Gallic acid / 100 mL sample on days 0, 7 and 14 respectively. The antioxidant capacity was 8.21, 7.62 and 7.69 Equiv mM Trolox / 100 mL sample on days 0, 7 and 14 respectively. The wine stored in environmental conditions for 14 days had the best response to the sensory attributes of smell, taste and overall acceptability.</p>
<p>KEYWORDS</p>	<p>Wine, Jamaica Flower, Storage, Shelf Life, Antioxidant Capacity, Polyphenols</p>

Se autoriza la publicación de este Proyecto de Titulación en el Repositorio Digital de la Institución.

f.  _____

LÓPEZ CARRERA CRISTINA GABRIELA

1724525850

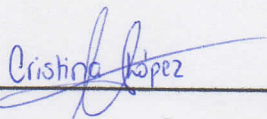
DECLARACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Yo, **LÓPEZ CARRERA CRISTINA GABRIELA**, CI **1724525850** autora del proyecto titulado: **Estudio de estabilidad de los antioxidantes del vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L*) en el almacenamiento**. Previo a la obtención del título de **INGENIERA DE ALIMENTOS** en la Universidad Tecnológica Equinoccial.

1. Declaro tener pleno conocimiento de la obligación que tienen las Instituciones de Educación Superior, de conformidad con el Artículo 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior, de entregar a la SENESCYT en formato digital una copia del referido trabajo de graduación para que sea integrado al Sistema Nacional de información de la Educación Superior del Ecuador para su difusión pública respetando los derechos de autor.
2. Autorizo a la BIBLIOTECA de la Universidad Tecnológica Equinoccial a tener una copia del referido trabajo de graduación con el propósito de generar un Repositorio que democratice la información, respetando las políticas de propiedad intelectual vigentes.

Quito, 21 de marzo del 2017

f: _____



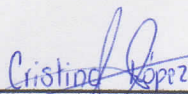
LÓPEZ CARRERA CRISTINA GABRIELA

1724525850

DECLARACIÓN

Yo **LÓPEZ CARRERA CRISTINA GABRIELA**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Tecnológica Equinoccial puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normativa institucional vigente.

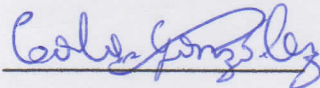


LÓPEZ CARRERA CRISTINA GABRIELA

C.I. 1724525850

CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo que lleva por título "**Estudio de estabilidad de los antioxidantes del vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L*) en el almacenamiento**", que, para aspirar al título de **Ingeniera de Alimentos** fue desarrollado por **Cristina Gabriela López Carrera**, bajo mi dirección y supervisión, en la Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias; y cumple con las condiciones requeridas por el reglamento de Trabajos de Titulación artículos 19, 27 y 28.



Ing. Carlos González, MSc.

DIRECTOR DEL TRABAJO

C.I. 1716316201

DEDICATORIA

A mi querida madre Maribel, quien ha sido el pilar fundamental de mi vida y a quien le debo mis éxitos, mis logros y toda mi formación integral como mujer y como ser humano.

A mi padre Fabián, quien siempre ha velado por mi bienestar y ha sido un gran apoyo a lo largo de mi vida.

A mis abuelitos Yolanda y Hugo, quienes han sido mis segundos padres y representan un ejemplo de esfuerzo, perseverancia, humildad, paciencia y amor para mí y toda mi familia.

A mi novio Alejandro, quien ha sido un apoyo esencial e incondicional para mí a lo largo de todas las dificultades que se han presentado en mi vida en general y gracias a su amor y cariño hemos salido a adelante.

A mis tios y tias Luis, Hugo, Rosario, Consue y Pili quienes siempre me han llenado de su cariño, apoyo y buena energía para continuar hacia adelante en mi camino.

A mis primos Betty, Darwin, Fernandita, Renatita y Jail quienes siempre me han alentado a continuar a pesar de los altibajos de la vida.

A mis ángeles que me protegen desde el Cielo, Papito Luis, Grace y Pao, quienes sé que estarán orgullosos de mí.

A Pao, Carlita y Mafer quienes han sido mis hermanas y amigas durante estos años de sincera amistad.

A Vivi, Eli y Óscar quienes me han brindado su sabias palabras y su amistad verdadera a través de los años.

A Edwin y Priscila, mis grandes e incondicionales amigos.

AGRADECIMIENTO

A Dios y a la Virgencita de la Caridad, quienes siempre me han protegido y guiado a lo largo de mi vida y me han ayudado a salir a adelante a pesar de las dificultades.

A mis padres Maribel y Fabián, por ser mi motor y fuerza cada día y a quienes les debo todos mis logros y metas cumplidas.

A la Universidad Tecnológica Equinoccial, en especial a la Facultad de Ciencias de la Ingeniería, a todas sus autoridades, administrativos y docentes, por contribuir a mi educación y formación como profesional y como persona.

Una mención y agradecimiento especial a la Ingeniera Elena Beltrán, Ingeniero Carlos González e Ingeniero Pablo Aguilar, quienes han sido una guía crucial, amiga y fundamental; y que gracias a su incondicional apoyo y paciencia, este proyecto de titulación ha podido desarrollarse.

A mi compañera, amiga y hermana Victoria Zamora, por su incondicional apoyo y por haber compartido llantos, alegrías y tristezas, y a pesar de todas las dificultades logramos salir a adelante juntas.

Al Ingeniero Gabriel Mariño y al Químico Lenin Ruiz, por haberme guiado amablemente con sus conocimientos y mano amiga durante el desarrollo de este proyecto de titulación.

A mis amigos "PEKES": Vicky, Eli, Pauli, Dany, Andre, Ider, Andreita, Ricky, Richard, Malu, Daya, Jaime y Cata por su valiosa y sincera amistad a lo largo de estos años de estudio, risas, tristezas y logros.

A mis enanas: Dalila, Renata, Candy, Emiliana y Paquita por llenarme de buena energía y cariño sincero cuando más lo necesité.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	PÁGINA
RESUMEN	xiii
ABSTRACT	xv
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO TEÓRICO	3
2.1. FLOR DE JAMAICA (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	3
2.1.1. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN	3
2.1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA	4
2.1.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL	5
2.1.4. PRODUCCIÓN DE FLOR DE JAMAICA EN EL ECUADOR	6
2.2. VINOS	7
2.2.1. GENERALIDADES	7
2.2.2. VINO DE FLOR DE JAMAICA (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	7
2.2.3. OPERACIONES PRE FERMENTATIVAS	8
2.2.3.1. Selección y limpieza de la materia prima	8
2.2.3.2. Caracterización de la materia prima	8
2.2.3.3. Tratamientos mecánicos	9
2.2.3.4. Formulación del Mosto	9
2.2.3.5. Tratamientos correctores	10
2.2.3.6. Tratamientos bioacondicionadores	10
2.2.4. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA	11
2.2.4.1. Levaduras	13
2.2.4.2. Variables de control de la fermentación	14
2.2.5. OPERACIONES POST FERMENTATIVAS	15

	PÁGINA
2.2.5.1. Trasiego	15
2.2.5.2. Sulfitado	15
2.2.5.3. Clarificación	16
2.2.5.4. Producto estable	17
2.2.5.5. Parámetros de control del vino	18
2.2.5.6. Envasado	18
2.2.5.7. Almacenamiento	19
2.3. ESTUDIOS DE VIDA ÚTIL	19
2.3.1. FACTORES EXTRÍNSECOS QUE INTERVIENEN EN EL DETERIORO DE LOS VINOS	20
2.3.2. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO	21
2.3.3. PRUEBAS DE ESTABILIDAD	23
2.3.3.1. Condiciones de almacenamiento	23
2.3.4. ANTIOXIDANTES	25
2.3.4.1. Compuestos Fenólicos	25
2.3.4.2. Flavonoides y Antocianinas	26
2.3.5. POLIFENOLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	29
2.3.5.1. Compuestos fenólicos presentes en el vino	29
2.3.5.2. Contenido de polifenoles totales	30
2.3.5.3. Capacidad antioxidante	30
2.3.6. CALIDAD SENSORIAL DEL PRODUCTO	31
2.3.6.1. Método de análisis sensorial	32
 3. METODOLOGÍA	 33
3.1. MATERIA PRIMA	33

	PÁGINA
3.1.1. CARÁCTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA FLOR DE JAMAICA	33
3.2. DESCRIPCIÓN DE LA ELABORACIÓN DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA Y ESTUDIOS DE ESTABILIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO	34
3.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS	37
3.3.1. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES (°Brix)	37
3.3.2. DETERMINACIÓN DE pH	37
3.3.3. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE	37
3.3.4. DETERMINACIÓN DE LA TURBIDEZ	38
3.3.5. DETERMINACIÓN DEL COLOR	38
3.3.6. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES	39
3.3.7. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	39
3.3.8. DETERMINACIÓN DE LA ACEPTABILIDAD GLOBAL MEDIANTE ANÁLISIS SENSORIAL	40
3.3.9. DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA	41
3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ESTADÍSTICO	42
4. ANÁLISIS DE RESULTADOS	43
4.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA	43
4.1.1. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA FLOR DE JAMAICA	43
4.1.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE LA FLOR DE JAMAICA	45
4.2. ELABORACIÓN DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L)	46
4.2.1. RENDIMIENTOS DEL PROCESO	46

	PÁGINA
4.2.2. FERMENTACIÓN DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA	49
4.2.2.1. Sólidos solubles (°Brix)	50
4.2.2.2. pH	51
4.2.2.3. Acidez Titulable	53
4.2.3. CLARIFICACIÓN DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA	55
4.3. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA	57
4.3.1. SÓLIDOS SOLUBLES (°BRIX)	57
4.3.2. pH	59
4.3.3. ACIDEZ TITULABLE	61
4.3.4. TURBIDEZ	62
4.3.5. COLOR	64
4.3.5.1. Absorbancia	64
4.3.5.2. Intensidad Colorante	65
4.3.5.3. Tono	67
4.3.5.4. Porcentajes de Amarillo, Rojo y Azul	68
4.4. CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES	70
4.4.1. CONTENIDO DE POLIFENOLES DURANTE LA VINIFICACIÓN Y DECANTACIÓN DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA	70
4.4.2. ESTUDIO DE ESTABILIDAD DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA	72
4.5. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	75
4.5.1. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DURANTE LA VINIFICACIÓN Y DECANTACIÓN DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA	75

	PÁGINA
4.5.2. ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA	78
4.6. ANÁLISIS SENSORIAL DE ACEPTABILIDAD GLOBAL DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA	81
4.6.1. APARIENCIA	82
4.6.2. COLOR	82
4.6.3. OLOR	83
4.6.4. SABOR	85
4.6.5. ACEPTABILIDAD GLOBAL	86
4.7. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA	87
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	66
5.1. CONCLUSIONES	89
5.2. RECOMENDACIONES	92
BIBLIOGRAFÍA	93
ANEXOS	105

ÍNDICE DE TABLAS

	PÁGINA
Tabla 1. Composición en 100 gramos de flor de jamaica	5
Tabla 2. Caracterización físico-química de los cálices de flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	9
Tabla 3. Productos principales, subproductos primarios y subproductos secundarios generados durante la fermentación de un vino	12
Tabla 4. Requisitos del vino de frutas	18
Tabla 5. Compuestos polifenólicos no-flavonoides (Taninos hidrolizables) presentes en los cálices y hojas de flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	26
Tabla 6. Compuestos polifenólicos flavonoides presentes en los cálices y hojas de flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	27
Tabla 7. Principales antocianinas presentes en los cálices de flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	29
Tabla 8. Métodos de referencia utilizados para la caracterización físico-química y microbiológica de la flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	34
Tabla 9. Atributos analizados en el estudio de sensorial del vino de flor de jamaica sometido a dos condiciones de almacenamiento	41
Tabla 10. Métodos de referencia utilizados para la caracterización físico-química del vino de flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.)	41
Tabla 11. Análisis físico-químicos de la flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) proveniente de la Provincia de Morona Santiago	43
Tabla 12. Análisis microbiológico de la flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) proveniente de la Provincia de Morona Santiago	45
Tabla 13. Rendimientos obtenidos durante el proceso de elaboración del vino de flor de jamaica	47

Tabla 14. Análisis físico-químicos del vino de flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.) que presentó la mayor capacidad antioxidante	87
---	----

ÍNDICE DE FIGURAS

	PÁGINA
Figura 1. Planta de jamaica cultivada en Pastaza (<i>Hibiscus sabdariffa L.</i>)	4
Figura 2. Flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa L.</i>)	4
Figura 3. Diseño de muestras almacenadas para pruebas de vida útil	24
Figura 4. Estructuras de las principales antocianinas presentes en los cálices de flor de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa L.</i>)	28
Figura 5. Diagrama de Flujo del proceso de elaboración y almacenamiento del Vino de Flor de Jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa L.</i>)	36
Figura 6. Consumo de sustrato durante el proceso de fermentación	50
Figura 7. Evolución del pH durante el proceso de fermentación	52
Figura 8. Evolución de la acidez titulable durante el proceso de fermentación	54
Figura 9. Turbidez (NTU) del vino de flor de jamaica durante el proceso de decantación	55
Figura 10. Comportamiento de la cantidad de sólidos solubles (°Brix) en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	58
Figura 11. Comportamiento del pH en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	60
Figura 12. Comportamiento de la acidez titulable respecto al ácido cítrico en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	61
Figura 13. Comportamiento de la turbidez (NTU) en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	63
Figura 14. Comportamiento de las absorbancias de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	65

Figura 15. Comportamiento de la intensidad colorante en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	66
Figura 16. Comportamiento de la tonalidad en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	67
Figura 17. Comportamiento de la cantidad de pigmentos en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	68
Figura 18. Comportamiento del contenido de polifenoles desde la materia prima hasta los procesos de vinificación y decantación	70
Figura 19. Comportamiento del contenido de polifenoles en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	73
Figura 20. Comportamiento de la capacidad antioxidante desde la materia prima hasta los procesos de vinificación y decantación	76
Figura 21. Comportamiento de la capacidad antioxidante de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	78
Figura 22. Comportamiento del porcentaje de inhibición del radical ABTS●+ de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	80
Figura 23. Análisis sensorial de Apariencia de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	82
Figura 24. Análisis sensorial de Color de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	83
Figura 25. Análisis sensorial de Olor de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	84

Figura 26. Análisis sensorial de Sabor de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	85
Figura 27. Análisis sensorial de Aceptabilidad Global de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días	86

ÍNDICE DE ANEXOS

	PÁGINA
ANEXO I	105
Análisis de la Flor de Jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa L.</i>)	
ANEXO II	106
Evidencia fotográfica del proceso de los Estudios de Estabilidad durante el almacenamiento	
ANEXO III	109
Rendimiento de la materia prima: Flor de Jamaica	
ANEXO IV	110
Balance de masa para la elaboración del vino	
ANEXO V	111
Rendimiento del proceso de vinificación	
ANEXO VI	112
Determinación del color mediante el Método de Glories	
ANEXO VII	114
Determinación de polifenoles totales mediante el protocolo de Folin-Ciocalteu's	
ANEXO VIII	117
Determinación de la Capacidad Antioxidante	
ANEXO IX	120
Test de evaluación sensorial de Aceptabilidad Global	
ANEXO X	122
Análisis Físico-químico del vino de flor de jamaica	
ANEXO XI	123
Variables durante la fermentación del vino de flor de jamaica	

	PÁGINA
ANEXO XII	123
Análisis estadístico de los parámetros físico-químicos del vino de flor de jamaica durante la fermentación	
ANEXO XIII	127
Turbidez durante la decantación del vino de flor de jamaica	
ANEXO XIV	128
Análisis estadístico de la turbidez del vino de flor de jamaica durante la decantación	
ANEXO XV	129
Variables físico-químicas durante el almacenamiento del vino de flor de jamaica	
ANEXO XVI	130
Barrido espectrofotométrico de las muestras de vino durante el almacenamiento	
ANEXO XVII	132
Variables de colorimetría durante el almacenamiento del vino de flor de jamaica	
ANEXO XVIII	133
Análisis estadístico de los parámetros físico-químicos del vino de flor de jamaica durante el almacenamiento	
ANEXO XIX	143
Curva de calibración del ácido gálico para la determinación de polifenoles totales mediante el protocolo de Folin-Ciocalteu's	
ANEXO XX	144
Mediciones de la determinación del contenido de polifenoles totales	

	PÁGINA
ANEXO XXI	145
Análisis estadístico del contenido de polifenoles totales en los vinos de flor de jamaica	
ANEXO XXII	148
Curva de calibración de trolox para la determinación de la capacidad antioxidante	
ANEXO XXIII	149
Mediciones de la capacidad antioxidante	
ANEXO XIV	150
Análisis estadístico de la capacidad antioxidante del vino de flor de jamaica durante el almacenamiento	
ANEXO XXIII	154
Análisis estadístico del estudio sensorial de aceptabilidad global del vino de flor de jamaica durante el almacenamiento	

RESUMEN

En la actualidad existe un importante interés en el estudio de alimentos que contienen compuestos antioxidantes, que son moléculas capaces de interactuar con especies reactivas al oxígeno, denominadas también como radicales libres. Los niveles elevados de radicales libres en las células generan daños, por lo que están estrechamente relacionados con enfermedades carcinogénicas y mutagénicas. Muchas investigaciones han determinado que la flor de jamaica es rica en compuestos fenólicos principalmente antocianinas y flavonoides como la delfinidina-3-sambubiosido, delfinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido, cianidina-3-sambubiosido, quercetina y kaempferol. El vino es una bebida rica en antioxidantes procedentes de la materia prima con la que fue elaborado y de la evolución de los mismos durante la fermentación. El objetivo de este trabajo fue estudiar de la estabilidad de los antioxidantes del vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L*) en dos condiciones de almacenamiento. Un grupo de muestras de vino fue sometido a refrigeración a 6 °C, y otro grupo a condiciones ambientales a 21 °C, durante 14 días de almacenamiento. Se determinaron las características físico-químicas del vino, y mediante la aplicación de un análisis estadístico de Anova simple, se evaluaron los parámetros físico-químicos, contenido total de polifenoles, capacidad antioxidante durante la etapa de almacenamiento y su influencia en la pérdida de vida útil del vino. Finalmente se realizó un análisis sensorial de aceptabilidad global. Durante la investigación se observó que el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante fue mayor en los vinos sometidos a condiciones ambientales, manteniendo valores de 139.32, 142.74 y 140.95 mg equ. ácido gálico/100 mL muestra en los días 0, 7 y 14 respectivamente. La capacidad antioxidante fue de 8.21, 7.62 y 7.69 Equiv mM Trolox/100 mL muestra en los días 0, 7 y 14 respectivamente. El vino almacenado en condiciones ambientales durante 14 días, tuvo la mejor respuesta respecto a los atributos sensoriales de olor, sabor y aceptabilidad global.

ABSTRACT

At present there is an important interest in the study of foods containing antioxidant compounds, which are molecules capable of interacting with species reactive to oxygen, also called free radicals. Elevated levels of free radicals in cells cause damage, so they are closely related to carcinogenic and mutagenic diseases. Many studies have determined that Jamaica flower is rich in phenolic compounds mainly anthocyanins and flavonoids such as delphinidin-3-sambubioside, delphinidin-3-glucoside, cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-sambubioside, quercetin and kaempferol. Wine is a drink rich in antioxidants from the raw material with which it was made and the evolution thereof during fermentation. The objective of this work was to study the stability of the antioxidants of Jamaica flower wine (*Hibiscus sabdariffa L*) under two storage conditions. One set of wine samples was refrigerated at 6 ° C and another group at ambient conditions at 21 ° C for 14 days storage. The physico-chemical characteristics of the wine were determined, and by means of the statistical analysis of Anova simple, physical-chemical parameters, total content of polyphenols, antioxidant capacity during the storage stage and their influence on the loss of shelf life of wine. Finally a sensorial analysis of global acceptability was carried out. During the investigation it was observed that polyphenol content and antioxidant capacity were higher in wines subjected to environmental conditions, maintaining values of 139.32, 142.74 and 140.95 mg equ. Gallic acid / 100 mL sample on days 0, 7 and 14 respectively. The antioxidant capacity was 8.21, 7.62 and 7.69 Equiv mM Trolox / 100 mL sample on days 0, 7 and 14 respectively. The wine stored in environmental conditions for 14 days had the best response to the sensory attributes of smell, taste and overall acceptability.

1. INTRODUCCIÓN

1. INTRODUCCIÓN

Extensas investigaciones se han enfocado sobre el estudio de las especies reactivas al oxígeno, que incluyen iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos, y que en niveles altos en las células generan daños en las proteínas, ácidos nucleicos y lípidos de las membranas (Usoh, Akpan, Etim & Farombi, 2005). Se ha comprobado que muchos alimentos contienen ciertos compuestos bioactivos, denominados antioxidantes, que tienen la capacidad de interactuar con los radicales libres. El organismo posee sistemas de antioxidantes de defensa, pero no son suficientes para prevenir completamente el daño oxidativo, por lo que se busca complementar al sistema metabólico con el aporte de antioxidantes naturales provenientes de alimentos, principalmente frutas, verduras y otros vegetales (Goñi & Sáyago, 2010; Usoh, Akpan, Etim & Farombi, 2005).

Estudios científicos demuestran que la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*), tiene un alto contenido de antioxidantes como el ácido ascórbico, la vitamina E, compuestos fenólicos principalmente flavonoides y antocianinas como la hibiscina o delfinidina-3-sambubiosido, delfinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido denominada crisantenina y cianidina-3-sambubiosido o gospicianina (Da-Costa-Rocha, Bonnlaender, Sievers, Pischel & Heinrich, 2014), que le atribuyen una actividad antioxidante, por lo que se le confiere efectos anticancerígenos, cardioprotectores, diuréticos, antifebriles, antiaterogénicos, antiinflamatorios, antimicrobianos (Chen, Wang, Sheu & Lin, 2013) protectores del daño celular y peroxidación de lípidos, astringentes, emolientes y sedativos (Galicia, Salinas, Espinoza & Sánchez, 2008).

Actualmente se produce flor de jamaica en algunas provincias de la región Amazónica del Ecuador, y se está impulsando su cultivo como una nueva alternativa para el desarrollo económico sustentable de los habitantes de esta zona. Pero al constituir un producto con baja industrialización, puesto a que

se comercializa principalmente como cálices frescos y deshidratados, y al no existir estudios en nuestro país, sobre la obtención de productos para el consumo alimenticio en base a esta materia prima, es importante fomentar la investigación respecto a la obtención de nuevos productos, que permitan aprovechar los compuestos bioactivos y antioxidantes presentes en la flor de jamaica, y al mismo tiempo potencializar e incrementar su comercialización tanto en el mercado interno como externo, fomentando al crecimiento de la matriz productiva y económica en el Ecuador.

Este estudio se realizó en la Planta Piloto de Alimentos y en los laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Ingeniería e Industrias de la Universidad Tecnológica Equinoccial, con el objetivo general de estudiar la estabilidad de los antioxidantes del vino de flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L*) en el almacenamiento.

Para alcanzar este objetivo, se cumplieron con los siguientes objetivos específicos:

- Determinar la caracterización físico-química del vino de flor de jamaica.
- Evaluar los parámetros físico-químicos, capacidad antioxidante y contenido de polifenoles del vino de flor de jamaica durante dos condiciones de almacenamiento.
- Realizar una prueba sensorial de aceptabilidad global del vino de flor de jamaica.

2. MARCO TEÓRICO

2. MARCO TEÓRICO

2.1. FLOR DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

La flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) conocida también como rosa de albasinia, rosa de jamaica, flor de dardo, rosa de Jericó, té rojo, rosella, flor roja, flor de hibisco (Meza, 2012), roselle en países de habla inglesa, karkadé en países como Francia, Egipto, Arabia Saudita, Sudán y África, y jamaica en Latinoamérica (Naranjo, 2013); es una planta herbácea de la familia de las Malváceas, cuya flor se caracteriza por ser carnosa de color rojo intenso y tener un agradable sabor, ésta es cosechada al alcanzar un tono rojizo oscuro y ha sido utilizada desde la antigüedad para fines culinarios y medicinales.

2.1.1. ORIGEN Y DISTRIBUCIÓN

Los científicos L'Obel y Murdock describieron en sus estudios realizados, que la flor de jamaica probablemente es originaria del continente Asiático (Morton, 1974), o bien fue domesticada por las poblaciones negras del oeste de Sudán en África (Da-Costa et al., 2014). Posteriormente en la época de la colonización, los esclavos africanos fueron quienes llevaron consigo las semillas de esta planta hacia el continente Americano, donde ha sido ampliamente distribuida por las zonas tropicales y subtropicales de Centroamérica y Suramérica. Gracias a sus propiedades culinarias y medicinales, la flor de jamaica actualmente es ampliamente cultivada en el continente asiático y en el continente americano principalmente en Centroamérica (Ortega & Guerrero, 2012).

2.1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

El género *Hibiscus* (Malvaceae) incluye más de 500 especies, de hierbas, arbustos y árboles anuales o perennes, dentro de las cuales se encuentra *Hibiscus sabdariffa* (Ortega & Guerrero, 2012), la cual puede ser observada en la Figura 1. Se conocen dos variedades principales *Hibiscus sabdariffa* variedad *ailanthus wester* y *Hibiscus sabdariffa* variedad *sabdariffa* L (Da-Costa et al., 2014).



Figura 1. Planta de jamaica cultivada en Pastaza (*Hibiscus sabdariffa* L.)
(Naranjo, 2013)

La planta de jamaica puede crecer hasta 2,4 m de altura. El cáliz consta de 5 sépalos con un collar o epicáliz de 8 a 12 delgadas bractéolas en la base; es carnoso y cuando madura, se abren las divisiones de los sépalos y toma un color rojo oscuro, cuyo sabor ácido es similar al del arándano (Da-Costa et al., 2014). En la Figura 2 se puede observar la flor de jamaica.



Figura 2. Flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)
(Naranjo, 2013)

2.1.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y NUTRICIONAL

En la Tabla 1 se presenta la composición química y nutricional de la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*) en base a 100 gramos de muestra.

Tabla 1. Composición en 100 gramos de flor de jamaica

Componente	Contenido en los cálices	Contenido en las semillas
Proteína (g)	1.90	27.78
Humedad (g)	85.30	--
Grasa (g)	0.10	21.85
Carbohidratos (g)	12.30	21.25
Fibra (g)	2.30	16.44
Cenizas (g)	6.90	--
Ácido ascórbico (mg)	14.00	--
Calcio (mg)	1.72	647.00
Hierro (mg)	57.00	--
Tiamina (mg)	0.12	--
Riboflavina (mg)	0.28	--
Niacina (mg)	3.77	--
Potasio (mg)	--	1329.00
Sodio (mg)	--	659.00
Fósforo (mg)	--	510.00
Magnesio (mg)	--	442.80
Ácido linoleico (%)	--	39.31
Ácido oleico (%)	--	32.06
Ácido palmítico (%)	--	20.84
Ácido esteárico (%)	--	5.88

(Da-Costa et al., 2014; Ortega & Guerrero, 2012).

La composición de los cálices de la flor de jamaica varía de acuerdo a factores como la variedad, el color, la genética y las condiciones en que se cultivaron las plantas. Varios estudios han determinado que en ellos se presenta un contenido importante de ácidos orgánicos: hibísico (13-14 %), málico (2-9 %), cítrico (12-20 %), tartárico (8 %) y ascórbico (0.02-0.05 %) (Da-Costa et al., 2014). Además brindan un aporte de todos los aminoácidos esenciales, a excepción del triptófano (Ortega & Guerrero, 2012).

2.1.4. PRODUCCIÓN DE FLOR DE JAMAICA EN EL ECUADOR

La flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*) fue introducida con éxito en estas últimas décadas en Ecuador. El cultivo generalmente se desarrolla en condiciones óptimas de temperatura que oscilan entre los 15 y 38 °C; pero puede soportar temperaturas entre los 12 y 46 °C; una altura de entre los 0 y 1400 m.s.n.m. y requerir precipitaciones anuales promedio de 900 mm³; además de suelos arenosos que eviten el encharcamiento del agua a fin de proteger al cultivo de plagas, hongos y bacterias (Chavarría, 2012). Gracias a las características ambientales de la región Amazónica, que cumplen con las condiciones óptimas para el cultivo de jamaica, se pueden encontrar ciertas zonas dedicadas a la producción de esta planta en las provincias de Napo, Morona Santiago y Pastaza, principalmente en sitios como el Tena, Puyo, Macas, Pomona, Teniente Hugo Ortiz y Sucúa (Cárdenas, 2015). Actualmente solo en la parroquia de Pomona el 12 % de la población económicamente activa se dedica al cultivo y producción de subproductos de flor de jamaica (Naranjo, 2013).

El cáliz de esta flor puede ser utilizado para la obtención de varios subproductos alimenticios principalmente refrescos, vinos, conservas, mermeladas y jaleas, por lo que hoy en día su cultivo ha tenido una gran acogida. En las provincias de Pastaza, Tena y Morona Santiago, los cálices están siendo procesados para la obtención de bebidas refrescantes para su venta, además en los mercados locales se puede encontrar las flores frescas y secas que son expandidas para ser utilizadas en infusiones debido a sus propiedades diuréticas (Naranjo, 2013).

2.2. VINOS

El vino proveniente del latín *vinum*, según la Organización Mundial de la Viña y el Vino (OIV), es exclusivamente la bebida resultante de la fermentación alcohólica completa o parcial de la uva fresca (*Vitis vinífera*) o de su mosto, cuya graduación alcohólica no debe ser menor a 8.5 % vol., no obstante debido a las condiciones climáticas de cultivo o de variedad de la uva, el grado alcohólico total mínimo podrá ser de 7 % vol. (OIV, 2016).

2.2.1. GENERALIDADES

Indiscutiblemente la materia prima ideal para la elaboración de vinos es la uva gracias a sus características químicas y composicionales, pero las frutas distintas a ésta, mediante sencillas correcciones técnicas de sus mostos, también pueden ser convertidas en vinos de excelente calidad (González, 2012).

Con este fundamento el Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) define a los vinos de frutas como: “Vino obtenido por fermentación alcohólica de mostos constituidos por jugos de frutas, convenientemente corregidos en lo que se refiere a contenido en azúcares y acidez con un grado alcohólico entre 5 y 18 ° GL” (Izurieta, Parreño, Jara, Reyes, Riofrío, Freile & Arteaga, 1987).

2.2.2. VINO DE FLOR DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Si bien se sabe que los cálices de flor de jamaica, no se constituyen como una fruta en sí, debido a las características de su composición química rica en azúcares y compuestos responsables de su agradable aroma y sabor, se ha

podido obtener productos alimenticios como jugos, refrescos, jaleas, dulces y mermeladas (Chavarría, 2012) con base en esta materia prima.

Partiendo de que el vino es producto de la fermentación del jugo o mosto de una fruta (González, 2012), además de acuerdo a la Asociación de la industria de la Sidra y el Vino de Fruta de la Unión Europea (AICV), un vino de frutas fortificado se define como “Bebida alcohólica obtenida por fermentación completa o parcial de zumo o pulpa fresco, concentrado o reconstituido de frutas comestibles (domésticas o tropicales) u otras partes de plantas frescas, distintas a la uva, con o sin la adición de agua, azúcar y alcohol agrario” (Ruiz, 2011); técnicamente es posible obtener una bebida fermentada de los cálices de flor de jamaica.

2.2.3. OPERACIONES PRE FERMENTATIVAS

2.2.3.1. Selección y limpieza de la materia prima

Esta fase empieza desde la cosecha de los cálices de flor de jamaica, al haber alcanzado el grado de madurez adecuado. Una vez que la materia prima llega al lugar donde se efectuará la selección, es recomendable lavarla con agua potable para eliminar tejidos vegetales en mal estado y otros contaminantes (Mariño, 2013).

2.2.3.2. Caracterización de la materia prima

Consiste en la determinación cuantitativa de las principales características físico-químicas que posee la materia prima, éstas son: cantidad de sólidos solubles ($^{\circ}$ Brix), pH, acidez, índice de madurez y condiciones sanitarias

(González, 2013; Mariño, 2013), de las cuales dependerá la formulación del mosto y los tratamientos correctivos que se realicen en él. En la Tabla 2 se puede visualizar la caracterización físico-química de los cálices de flor de jamaica.

Tabla 2. Caracterización físico-química de los cálices de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Parámetro	Resultado
Sólidos solubles (° Brix)	5-12
pH	2.5-3.4
Color	Rojo oscuro
Sabor	Ácido

(González, Rosales & Del Val, 2009; Salinas, Zúñiga, Jiménez & Serrano, 2012)

2.2.3.3. Tratamientos mecánicos

El estrujado de la materia prima consiste en romper los tejidos vegetales mediante el troceo y molienda manual de los cálices para liberar el zumo rico en azúcares, pigmentos y sabores (Mariño, 2013); la finalidad de estas operaciones es la obtención del mosto en las mejores condiciones físicas y químicas para la fermentación (Bujan, 2003).

2.2.3.4. Formulación del Mosto

Para esta operación es importante realizar previamente el análisis físico-químico del mosto puro, en el cual se determinan las características de pH y contenido de sólidos solubles (°Brix), que constituyen factores indispensables para realizar la corrección del mosto diluido y el balance másico, que mediante un sencillo sistema de ecuaciones, permitirá definir la cantidad de componentes a añadir, como los cálices, agua, azúcar, aditivos de acondicionamiento y levaduras (González, 2013).

2.2.3.5. Tratamientos correctores

La corrección de azúcar o chaptalización consiste en la adición de azúcar al mosto con la finalidad de aumentar la cantidad de azúcares fermentables o sustrato a niveles similares a los ideales presentes en el mosto de uva (Bujan, 2003), por lo que se busca obtener un acondicionamiento óptimo entre 20-24 °Brix para empezar con el proceso fermentativo (González, 2012).

La corrección del pH y la acidez durante la preparación del mosto es importante, debido a que estos parámetros tienen una marcada influencia en el crecimiento y desarrollo metabólico de las levaduras, intervienen en las reacciones de óxido-reducción durante la fermentación, además influyen en el sabor y color finales del vino. Los valores óptimos de pH para la iniciación de la fermentación se encuentran entre (3-3.6), además impiden la proliferación de microorganismos patógenos (González, 2012).

Cuando se obtienen mezclas con elevados niveles de acidez y niveles bajos de pH, es decir mostos ácidos es necesaria la desacidificación agregando 1 g/L de CaCO_3 , que permite la disminución de hasta 1 grado de acidez en el mosto (Mariño, 2013; Vallejo, 2011). En el caso de obtener mezclas con niveles de acidez bajos y pH elevados, que pueden ocasionar riesgos de contaminación por el crecimiento de microorganismos patógenos, oxidaciones del mosto (González, 2012); es necesaria la acidificación con la adición de ácido tartárico o ácido cítrico (Bujan, 2003).

2.2.3.6. Tratamientos bioacondicionadores

El sulfitado consiste en añadir compuestos azufrados que permitan la formación de dióxido de azufre (SO_2) en el mosto, con la finalidad de ejercer una acción antiséptica y selectiva respecto al agente fermentativo a través de

la eliminación de microorganismo patógenos y bacterias ácido-lácticas; bloquea las oxidasas y cumple una función antioxidante, evita el pardeamiento oxidativo; constituye un agente degradante contribuyendo a la maceración de los tejidos vegetales; cumple un efecto clarificante; además ayuda a potenciar las cualidades organolépticas de la mezcla, puesto a que reacciona con el acetaldehído formando una combinación estable, evitando los sabores rancios, favoreciendo a la frescura, aroma y sabor del vino (Bujan, 2003; González, 2012; Hidalgo, 2011).

Las formas más comunes de sulfitar al mosto previamente a la fermentación es la adición de metabisulfito de potasio ($K_2S_2O_5$) o metabisulfito de sodio ($Na_2S_2O_5$) (Bujan, 2003). La legislación recomienda una dosis de (100-200 ppm) como máximo en relación al mosto, puesto a que en cantidades excesivas se puede producir sulfuro de hidrógeno (H_2S) y mercaptanos, responsables de olores desagradables en el vino, además de ser una sustancia ligeramente tóxica, alérgica y perjudicial para la salud del consumidor (González, 2012; Vallejo, 2011; Hidalgo, 2011).

2.2.4. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

La fermentación alcohólica es el proceso bioquímico y metabólico anaerobio llevado a cabo por ciertos microorganismos (levaduras) consumidores de sustancias orgánicas denominadas sustratos o azúcares fermentables, que a través de transformaciones de óxido-reducción y la intervención de sistemas enzimáticos que suceden en el interior de sus estructuras celulares, producen principalmente etanol, dióxido de carbono y otros productos secundarios; con una ganancia positiva de energía, que dichas células utilizan para su crecimiento, desarrollo y reproducción (Hidalgo, 2011). En la Tabla 3, se pueden visualizar los principales productos generados durante la fermentación de un vino.

Tabla 3. Productos principales, subproductos primarios y subproductos secundarios generados durante la fermentación de un vino

Productos	Metabolismo	Componentes
<i>Principales</i>	Fermentación alcohólica	Etanol Dióxido de carbono Energía
	Fermentación gliceropirúvica	Glicerol Ácido pirúvico Ácido α -cetoglutámico Acetaldehído
<i>Subproductos primarios</i>	Fermentación maloalcohólica	Ácido málico Etanal
	Fermentación alcohólica	Ácido láctico Ácido succínico Ácido tartárico Ácido acético Ácido fumárico Acetoína Diacetilo 2,3-butanediol Ácidos grasos de cadena larga: palmítico Palmitoleico Esteárico Oleico Ácidos grasos de cadena corta: Caproico Caprílico Cáprico Ésteres
<i>Secundarios</i>	Metabolismo de amonio y aminoácidos	Alcoholes superiores Metanol Ésteres aromáticos
	Metabolismo de compuestos azufrados	Sulfitos Sulfuro de hidrógeno Dimetilsulfuro Mercaptanos Sulfuros Tioésteres
	Otros	Azúcares residuales Inositol Manitol Sorbitol Taninos Terpenos Polifenoles

(Bujan, 2003; Hidalgo, 2011)

2.2.4.1. Levaduras

Varias cepas de levaduras son capaces de producir la fermentación alcohólica, principalmente en los vinos de uva se han encontrado muchos tipos de levaduras vínicas como: *Saccharomyces cerevisiae*; *Saccharomyces pastorianus*, *Saccharomyces ellipsoideus*; *Kloeckera apiculata*; *Schizosaccharomyces*; *Candida micoderma*; *Hanseniaspora uvarum* o conocidas como levaduras salvajes puesto a que están presentes en las frutas de manera natural, entre otras muchas cepas (Hidalgo, 2011).

La operación de siembra o inoculación del mosto se realiza añadiendo levaduras comerciales seleccionadas que realizan fermentaciones completas, seguras, uniformes, gobernables y con altos rendimientos en alcohol (12-18 % v/v) (Vallejo, 2011; Hidalgo, 2011).

Las cepas de levaduras comerciales más empleadas en la industria vinícola son *Saccharomyces ellipsoideus* y *Saccharomyces cerevisiae*, esta última conocida como levadura panadera, también utilizada en la producción de cerveza, pan y vinos por su alta capacidad fermentativa en un medio anaerobio. *S. cerevisiae* pertenece al grupo de los Ascomicetos, familia Saccharomycetaceae y se caracteriza por desarrollar la mayor parte de la fermentación alcohólica, con un dominio rápido y total del medio fermentativo, presentando un alto rendimiento en producción de alcohol, sabores y aromas que le brindan propiedades organolépticas importantes al vino (Hidalgo, 2011).

Estas levaduras comerciales son fácilmente asequibles, tienen una gran capacidad de sedimentación, propiedad que contribuye a la transparencia de los vinos y al terminar la fermentación, desaparecen con rapidez (Córdova, 2010). Previo a la inoculación, es preciso activar a las levaduras comerciales

utilizando agua potable y la dosis no debe exceder de 0.3 g/L en relación al mosto.

2.2.4.2. Variables de control de la fermentación

La temperatura influye directamente en la velocidad a la cual la fermentación se desarrolla. Temperaturas entre (5 y 35) °C son factibles para que ésta se produzca, siendo el rango de (18 a 25) °C el óptimo para una vinificación adecuada y puedan extraerse la mayor cantidad de polifenoles presentes en el mosto (Hidalgo, 2011; Blouin & Peynaud, 2006).

El pH al cual se acondiciona el mosto debe oscilar entre 3 y 3.6, constituyendo un medio adecuado para el crecimiento y multiplicación de las levaduras teniendo en cuenta que deben mantenerse los valores más bajos posibles para evitar el desarrollo de microorganismos patógenos en el caso de una paralización de la fermentación; siendo el rango de (2.6 a 2.8) los valores mínimos tolerables, caso contrario el metabolismo fermentativo puede tornarse lento, o bien detenerse y no reanudarse (Hidalgo, 2011).

La cantidad de azúcares necesarios para que inicie el proceso debe mantenerse en un rango entre (20-22) °Brix (Córdova, 2010). Por otro lado, es indispensable la presencia en el mosto de compuestos que contengan nitrógeno, ya que las levaduras necesitan sintetizar los aminoácidos esenciales para su crecimiento y desarrollo (Córdova, 2010; Hidalgo, 2011).

2.2.5. OPERACIONES POST FERMENTATIVAS

2.2.5.1. Trasiego

Al culminarse la fermentación, cesa la producción de energía y del movimiento del vino dentro del fermentador, por lo que la materia en suspensión se precipita en el fondo del tanque. El trasiego consiste en la separación del vino joven de esta materia conformada por levaduras, bacterias, restos vegetales y sustancias extrañas, a través tuberías comunicantes hacia otro recipiente limpio y adecuado, para evitar posibles alteraciones y favorecer a la clarificación y limpidez del vino. Esta operación se realiza bajo condiciones de aireación controlada que permite la eliminación de gases como el dióxido de carbono o el anhídrido sulfuroso presentes después de la fermentación y la adición de oxígeno que favorecerán a los procesos oxidativos positivos posteriores (Blouin & Peynaud, 2006; Bujan, 2003).

2.2.5.2. Sulfitado

Puesto a que el vino joven requiere de protección contra la oxidación es conveniente el segundo sulfitado cuyo principal objetivo es detener la fermentación alcohólica y la maloláctica, destruyendo las levaduras y bacterias presentes en el vino (Blouin & Peynaud, 2006).

De manera generalizada se recomienda realizar un sulfitado con dosis de 20-30 ppm de SO₂ en relación a 1 L de vino, teniendo en cuenta que al añadir contenidos inferiores a este rango, su acción es poco eficaz al momento de detener el desarrollo de microorganismos y pueden provocarse rápidamente reacciones oxidativas desfavorables. Para el caso de los vinos ricos en taninos y antioxidantes, es recomendable una dosis de 30-35 ppm de SO₂ que

asegura una excelente destrucción de microorganismos y permite una estabilización fenólica, con pérdida de color y aroma inicial, que luego es recuperada durante el almacenamiento (Blouin & Peynaud, 2006).

2.2.5.3. Clarificación

El principio de la clarificación se fundamenta en el efecto de la gravedad y en la evolución de los coloides por precipitación y puesto a que el vino al ser una mezcla coloidal eléctricamente neutra, está conformado por partículas que tienen cargas negativas, rodeadas por cargas positivas, cuyo reparto varía de acuerdo a la composición y al pH; es susceptible a la precipitación de moléculas grandes con ciertas cargas eléctricas neutralizadas (Blouin & Peynaud, 2006).

La limpidez se consigue mediante tres mecanismos: el primero es la auto clarificación espontánea o decantación, que consiste en la sedimentación natural por efecto de la gravedad de las partículas en suspensión presentes en el vino. La velocidad de esta clarificación depende de la riqueza del vino en cuanto a los coloides protectores que se oponen a la aglomeración y su posterior precipitación, y de la temperatura a la cual se desarrolla el proceso. Para el caso de los vinos ricos en taninos, la clarificación espontánea surge con mayor rapidez, puesto a que estos compuestos tienden a precipitar fácilmente (Blouin & Peynaud, 2006; Mijares & Sáez, 2007; Bujan, 2003).

Es importante recalcar que el efecto clarificante es más intenso cuando se produce a bajas temperaturas, es decir a temperaturas de refrigeración. Una ventaja del método es que el vino obtenido no es alterado por ningún tipo de aditivo añadido, manteniendo así sus propiedades organolépticas originales, pero la desventaja es que el proceso puede demorar un largo tiempo, tomando

en cuenta que no debe sobrepasarse de los 30 días, siendo aconsejable 15 días de decantación (Blouin & Peynaud, 2006).

El segundo mecanismo es la clarificación por encolado que consiste en la adición de una “cola” al vino cuya floculación rápida y vigorosa arrastra partículas y coloides presentes en la mezcla. Las sustancias clarificantes más utilizadas pueden ser de origen proteico: gelatina, caseína, albúmina de huevo, lctiocola; de origen vegetal: agar-agar, alginato de sodio, taninos añadidos; de origen mineral: bentonitas, caolín, silicagel, polivinilpirrolidona, entre otros (Mijares & Sáez, 2007).

El tercer mecanismo es la clarificación por filtración que constituye un procedimiento físico que consiste en hacer pasar al vino a través de capas filtrantes o membranas con poros muy finos. Actualmente esta técnica es la más utilizada a nivel industrial puesto a que el vino filtrado se obtiene en pocos minutos, sin necesidad de esperar lapsos largos de tiempo, como sucede en los mecanismos anteriores (Blouin & Peynaud, 2006; Mijares & Sáez, 2007).

2.2.5.4. Producto estable

Una vez concluida la clarificación, es importante mantener la estabilidad del vino, puesto a que sufrirá varias transformaciones a medida que transcurre el almacenamiento y requiere de cuidados que permitan el desarrollo de sus propiedades organolépticas y eviten alteraciones (Mijares & Sáez, 2007).

Estos trastornos pueden clasificarse en tres tipos: los accidentales que pueden alterar el color, olor y sabor del vino, y que son provocados por la falta de vigilancia e higiene, ventilación inadecuada, exceso de humedad, o errores mecánicos y técnicos al realizar las operaciones post fermentativas; las

enfermedades que son alteraciones producidas por contaminantes biológicos como la podredumbre producida por mohos, las flores del vino producidas por *Candida vini*, el picado acético o avinagramiento por bacterias acéticas, el picado láctico entre otras; y las quiebras que son de origen químico como las precipitaciones tártricas de bitartrato de potasio, las quiebras férricas, cuprosas, proteicas y oxidásicas (Mijares & Sáez, 2007).

2.2.5.5. Parámetros de control del vino

Los parámetros que pueden ser visualizados en la Tabla 4, que son controlados por la legislación ecuatoriana y deben estar dentro del rango de valores permitidos, se encuentran determinados por la norma NTE-INEN 0374 para Vinos de Frutas y sus requisitos.

Tabla 4. Requisitos del vino de frutas

Requisitos	Unidad	Mínimo	Máximo	Método de ensayo
Grado alcohólico a 20 °C	°GL	5	18	INEN 360
Acidez volátil, como ácido acético	g/L	-	2.0	INEN 341
Acidez volátil, como ácido málico	g/L	4.0	16	INEN 341
Metanol	*	Trazas	0.02	INEN 347
Cenizas	g/L	1.4	-	INEN 348
Alcalinidad de las cenizas	meq/L	1.4	-	INEN 1547
Cloruros, como cloruro de sodio	g/L	-	2.0	INEN 353
Glicerina	**	1.0	10	INEN 355
Anhídrido sulfuroso total	g/L	-	0.32	INEN 356
Anhídrido sulfuroso libre	g/L	-	0.04	INEN 357

*cm³ por 100 cm³ de alcohol anhidro.

** g por 100 g de alcohol anhidro.

(Izurieta et al., 1987)

2.2.5.6. Envasado

El envasado es la última operación delicada y de tipo mecánico que se realiza con el vino antes de que llegue al consumidor, por lo que es de vital

importancia el manejo del embotellado y los materiales que se requieren como las botellas de vidrio, filtros y corchos, con una adecuada preparación, limpieza y esterilización. Para su almacenamiento y expedición, el vino debe embotellarse en botellas de vidrio verde selladas con un tapón de corcho, que proporcionan un ambiente estéril, aislado y reductor que permite la evolución sensorial y el envejecimiento (Bujan, 2003).

2.2.5.7. Almacenamiento

Durante la fase de almacenamiento en botella, el vino puede desarrollar cualidades organolépticas de aroma, sabor y color, adquirir limpidez, y sus expresiones tánicas y fenólicas pueden sufrir transformaciones de oxidación debido al contacto relativo con el oxígeno durante el embotellamiento, y posteriormente de reducción en ausencia de este gas dentro de la botella (Mijares & Sáez, 2007). Las condiciones de almacenamiento de un vino son: un sitio que permita el resguardo de las botellas en posición horizontal; mantenimiento de la humedad relativa del aire entre 60 y 70 %; poca luz; sin ruidos ni trepidaciones; sin olores extraños y un control de la temperatura constante entre 10 y 18 ° C, sin que las fluctuaciones de temperatura sobrepasen los tres grados (Mijares & Sáez, 2007).

2.3. ESTUDIOS DE VIDA ÚTIL

La vida útil de un alimento se refiere al periodo de tiempo en el cual, el producto mantiene como aceptables sus cualidades sensoriales, nutricionales y de seguridad alimentaria (Casp & Abril, 2003). La determinación de la vida útil de un alimento es normada legalmente y su no cumplimiento exige sanciones para quien elabora dicho producto (Delgado, 2012).

En el Ecuador la norma INEN 1334-1 emite los requisitos para el rotulado de productos alimenticios, en los que se determina la declaración obligatoria y explícita del tiempo máximo de consumo; la cual se aplica para la gran mayoría de productos, exceptuando los vinos, vinos de frutas, vinos espumosos, bebidas alcohólicas, entre otros (Ortiz, Pérez, Cuásquer, Briones, Larrea, Chacón & Dávalos, 2014).

A pesar del considerable conocimiento científico, aún no es posible construir un único modelo definitivo que permita predecir la vida útil del vino. La variedad considerable de estilos de vinos, las variaciones en la composición, la gama de técnicas de vinificación, los distintos tipos de envases utilizados y las diferencias en las percepciones personales de los consumidores, hacen imposible determinar un modelo de predicción (Reeves, 2010).

2.3.1. FACTORES EXTRÍNSECOS QUE INTERVIENEN EN EL DETERIORO DE LOS VINOS

El oxígeno es uno de los factores más importantes que determinan el potencial de pérdida de vida útil de los vinos. Los productos finales de las reacciones redox producidas entre el O₂, el SO₂ y los compuestos fenólicos determinan la aceptabilidad y el tiempo de vida útil. Dependiendo del contenido fenólico, el vino puede absorber el oxígeno y sus componentes se oxidan, el carácter sensorial y nutricional se altera o incluso se pierde. En cantidades limitadas el oxígeno facilita la degradación de las fragancias generadas por ésteres frutales y diversos terpenos, acumulándose aromas no deseados derivados de aldehídos, tioles, furfural y hexanal en el vino. Por otro lado la presencia de oxígeno molecular interviene en el pardeamiento prematuro y en la formación de óxidos provenientes de alcoholes monoterpénicos responsables de aromas desagradables

La temperatura de almacenamiento del vino no sólo afecta significativamente la velocidad y las características del envejecimiento, sino que también puede acortar su vida útil. Temperaturas superiores a 25 °C modifican las características de sabor de manera inaceptable, y facilitan las reacciones de Maillard que son desfavorables para el color del producto. Temperaturas frías menores a 10 °C, pueden prolongar aún más la vida útil, pero a expensas de una maduración excesivamente lenta y de la formación de cristales de tartrato de potasio, que le dan turbidez al vino (Jackson, 2011).

El mantenimiento de la humedad relativa ambiental entre el rango de 60 a 70 %, es importante para evitar que el corcho se contraiga, permitiendo la entrada de oxígeno en el interior. Una humedad excesiva puede permitir la invasión de moho en el corcho (Reeves, 2010).

La exposición a la luz es un factor determinante perjudicial para el vino. Cerca de la radiación ultravioleta se pueden activar reacciones oxidativas, mientras que la exposición directa a la luz solar puede provocar daños inducidos por el calor. La mayoría de las reacciones activadas por luz implican la producción de oxidantes potentes como el oxígeno singlete, responsable de la oxidación, olores y sabores desagradables en el vino, disminuyendo su tiempo de vida útil. Por este motivo, es recomendable mantener al vino en condiciones de almacenamiento de poca luz o en la oscuridad (Jackson, 2011).

2.3.2. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO

La medición de los sólidos solubles totales permite la medición del contenido de azúcares en el vino (García, 1990). Si la fermentación ha sido total, los vinos resultantes prácticamente no contendrán materias azucaradas, pero si la fermentación fue bloqueada y tuvo una terminación prematura, la presencia

de azúcares residuales será alta; lo que se convierte en un aspecto no deseado respecto a la vida útil, debido a que el producto se vuelve mucho más propenso al deterioro microbiano, a las reacciones de Maillard y a la degradación térmica, que generan compuestos cromóforos que producen colores marrones y compuestos aromáticos que brindan sabores maderizados desfavorables para la aceptabilidad del vino (Jackson, 2011).

El pH en el vino ejerce un importante efecto sobre los microorganismos, color, sabor, potencial redox, acción del dióxido de azufre, la impresión organoléptica de la astringencia y acidez; las quiebras férricas y tartáricas producidas en el vino durante su almacenamiento (García, 1990).

La acidez volátil elevada indica que el vino ha sufrido la acción de microorganismos, principalmente por *Acetobacter*, generadores de ácido acético. El mantenimiento de la vida útil de los vinos se ve reforzado por un contenido de ácidos totales deseables, pero a niveles muy bajos de pH se produce la oxidación de los compuestos fenólicos del vino y se genera la degradación de los ésteres frutales responsables de las características organolépticas deseables en el vino (García, 1990).

La turbidez puede ser provocada por la presencia de cantidades excesivas de iones de hierro y cobre; por neblinas coloidales formadas por proteínas suspendidas, taninos y antocianinas; por la presencia de cristales de tartrato de potasio; o por el crecimiento de bacterias no deseadas como *Oenococcus oeni* y *Pediococcus* (Jackson, 2011).

Los cambios de color durante el almacenamiento se consideran normales y esperados y no contribuyen a la reducción de la vida útil del producto; a excepción de los cambios cromáticos que están relacionados con una cantidad insuficiente de flavonoides que impiden la estabilización del color, o que exista una penetración excesiva del oxígeno en el vino y se produzca un

pardeamiento prematuro inaceptable acompañado de un sabor oxidado (Jackson, 2011; Fu, Lim & McNicholas, 2009).

2.3.3. PRUEBAS DE ESTABILIDAD

En la actualidad, la estimación del potencial de tiempo de vida útil de un vino se basa en experiencias pasadas de enólogos y expertos en viticultura, más que en criterios objetivos o verificables, por tanto son sólo una guía general que supone condiciones ideales de almacenamiento. No obstante, algunos investigadores están desarrollando métodos no destructivos in situ para evaluar algunos aspectos de la vida útil del vino, estos incluyen la resonancia magnética nuclear y la espectroscopia (Jackson, 2011).

La resonancia magnética nuclear permite la cuantificación de ciertos constituyentes del vino, como la presencia de cantidades de ácido acético y acetaldehído que son indicadores del deterioro de un vino. La espectroscopia se limita actualmente a evaluar el grado de pardeamiento oxidativo, contenido total y libre de dióxido de azufre, y contenido de compuestos fenólicos en el vino. Otros investigadores recomiendan la oxidación forzada como un indicador del potencial de un vino para resistir la oxidación prematura, este método puede utilizarse para evaluar la necesidad de antioxidantes adicionales previos al embotellado (Jackson, 2011).

2.3.3.1. Condiciones de almacenamiento

Para predecir la estabilidad de un alimento, se deben considerar las interrelaciones entre los factores extrínsecos e intrínsecos más importantes que intervienen en su deterioro, entre estos se encuentran, principalmente el tiempo y la temperatura; por este motivo las condiciones de almacenamiento

que se utilizan para los estudios de vida útil, generalmente se basan en la combinación de estos factores, a fin de crear diferentes ambientes (Speigel, 1992).

La determinación experimental de la vida útil, puede requerir de un diseño eficiente con un enfoque estadístico que permita controlar el número de mediciones necesarias, que se realizan en una cantidad considerable de experimentos. El tipo de prueba más utilizada, es el diseño escalonado de Gacula que puede ser observado en la Figura 3.

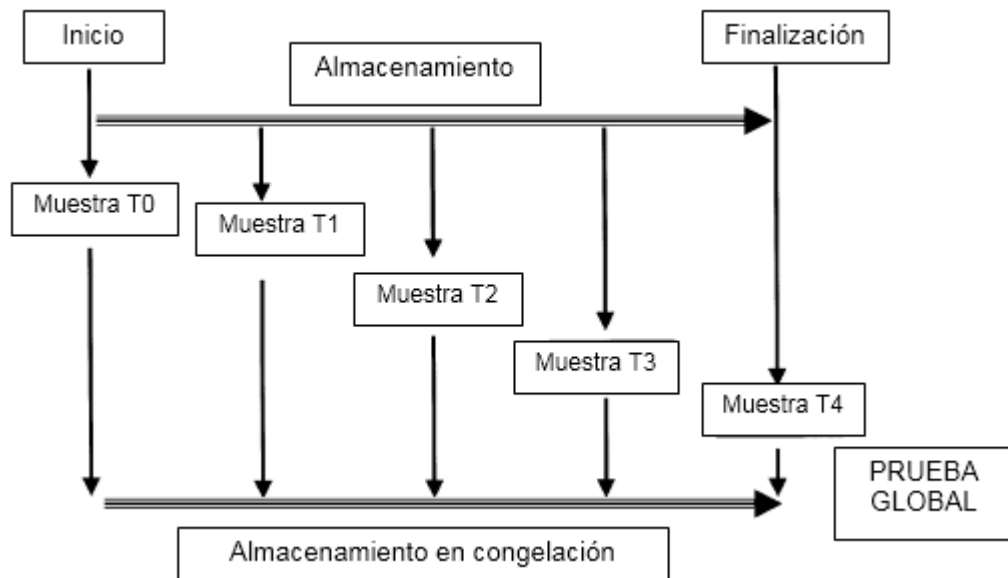


Figura 3. Diseño de muestras almacenadas para pruebas de vida útil
(Kilcast & Subramaniam, 2000)

En el modelo escalonado de Gacula, un lote de producto y las respectivas réplicas, se ponen a prueba en el momento cero y posteriormente en almacenamiento, y se toman muestras para ensayos a intervalos determinados de tiempo por la expectativa probable de vida útil y se mantienen en condiciones no cambiantes, por ejemplo congeladas, hasta que se alcanza el tiempo de almacenamiento requerido. Este tipo básico de diseño tiene la ventaja de que los datos relacionados con la vida útil, se generan a

intervalos y se acumulan para dar una imagen en movimiento del cambio de acuerdo al deterioro (Kilcast & Subramaniam, 2000).

2.3.4. ANTIOXIDANTES

Muchas investigaciones se han centrado en el estudio de la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*), ya que se ha demostrado que tienen un alto contenido de moléculas antioxidantes como vitamina E y C, compuestos fenólicos principalmente ácidos polifenólicos, flavonoides y antocianinas (Ortega & Guerrero, 2012) atribuyéndoles una actividad antioxidante. De acuerdo a varias investigaciones científicas, esta propiedad le confiere a la flor de jamaica efectos anticancerígenos, cardioprotectores, diuréticos, antifebriles, antiaterogénicos, antiinflamatorios, antimicrobianos (Chen et al., 2013) protectores del daño celular y peroxidación de lípidos, astringentes, emolientes y sedativos (Galicia et al., 2008), por lo que expertos nutricionistas recomiendan su consumo.

2.3.4.1. Compuestos Fenólicos

Los compuestos fenólicos están formados por anillos aromáticos unidos a uno o varios grupos hidroxilos (HO-) (Ferreti, Bacchetti, Belleggia & Neri, 2010), pueden ser simples de bajo peso molecular o complejos, (Pérez, Neveu, Vos, & Scalbert 2010). Se pueden distinguir dos subclases: los no-flavonoides comprendidos por alcoholes monofenólicos, ácidos fenólicos, estilbenos, derivados del ácido benzoico y del ácido cinámico, y los flavonoides.

Diversos estudios realizados con extractos de cálices y hojas de flor de jamaica han determinado que en los tejidos de estas estructuras existe una alta concentración de antioxidantes fenólicos de tipo no-flavonoides y

flavonoides simples o polimerizados (Da-Costa et al., 2014); a continuación en la Tabla 5 se describen los compuestos fenólicos no-flavonoides o taninos hidrolizables presentes en *Hibiscus sabdariffa L.*

Tabla 5. Compuestos polifenólicos no-flavonoides (Taninos hidrolizables) presentes en los cálices y hojas de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*)

Clase	Componente
Ácidos fenólicos	Eugenol Ácido elágico
Derivados del ácido Hidroxicinámico	Ácido clorogénico Ácido cafeico Ácido ferúlico Ácido <i>p</i> -cumárico Ácido quínico Ácido 2-O-trans-cafeoil-hidroxicítrico Ácido 5-cafeoilquinico Ácido 3-cafeoilquinico Ácido Coumaroilquinico Ácido 5-O-cafeoilshikimico
Derivados del ácido Hidroxibenzoico	Ácido protocatéquico Ácido 3,4-dihidrobenzoico Ácido gálico Galato de metilo Ácido glucósido protocatéquico

(Sindi, Marshall & Morgan, 2014).

2.3.4.2. Flavonoides y Antocianinas

Dentro del grupo de los flavonoides se identifican 5 subtipos de acuerdo a sus características estructurales: flavanonas, flavanoles, flavonoles, flavonas y antocianidinas (Martínez, González, Culebras & Tuñón, 2002). Diversos estudios han determinado que los cálices de flor de jamaica son ricos en compuestos antioxidantes fenólicos, principalmente flavonoides (Da-Costa et al., 2014). A continuación en la Tabla 6 se enlistan los compuestos flavonoides presentes en la flor de jamaica:

Tabla 6. Compuestos polifenólicos flavonoides presentes en los cálices y hojas de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Clase	Componente
Flavanonas	Naringenina
Flavanoles	Catequina Galato de galocatequina Galato de epicatequina Metillegicalocatequina Galocatequina
Flavonoles	Hibiscetin-3-glucósido (Hibiscitrina) Gosipetina-7-glucósido (Gosipitrina) Gosipetina-8-glucósido Sabdaritrina Quercetina Quercetina-3-glucósido Quercetina-3-rutinoso (Rutina) Kaempferol Quercetina-3-sambiosido Quercetina-3-rutinósido Kaempferol-3-O-sambubiosido (Leucósido) Quercetina-3-glucósido Kaempferol-3-O-rutinósido Kaempferol-3-p-coumarilglucósido Kaempferol-3-glucósido Miricetina
Flavonas	Luteolina Tilirosido Sabdaritrin hidroxiflavona

(Sindi, Marshall & Morgan, 2014).

Las antocianinas son pigmentos naturales solubles en agua, presentes en casi todos los tejidos vegetales de las plantas, responsables de la mayor parte de colores rojo, azul y púrpura de las frutas, verduras y flores (Yang, Koo, Song & Chun, 2011). A distintos niveles de pH se distinguen cuatro formas estructurales de antocianinas: cationes de flavilio, hemicetales, bases quinonoides y chalconas; las cuales pueden ser moléculas agliconadas o glicósidas (Yang, Koo, Song & Chun, 2011).

Los cálices de flor de jamaica son ampliamente estudiados por contener un alto porcentaje de antocianinas en sus tejidos estructurales, ya que

constituyen los principales pigmentos responsables de sus colores rojo y azul y varían de acuerdo al pH. La primera antocianina aislada en *Hibiscus sabdariffa L.* fue la hibiscina o delfinidina-3-sambubiosido, posteriormente se identificaron a delfinidina-3-glucósido, cianidina-3-glucósido denominada crisantenina y cianidina-3-sambubiosido o gospicianina (Da-Costa et al., 2014). En la Figura 4 se pueden observar las estructuras moleculares de las principales antocianinas presentes en la flor de jamaica.

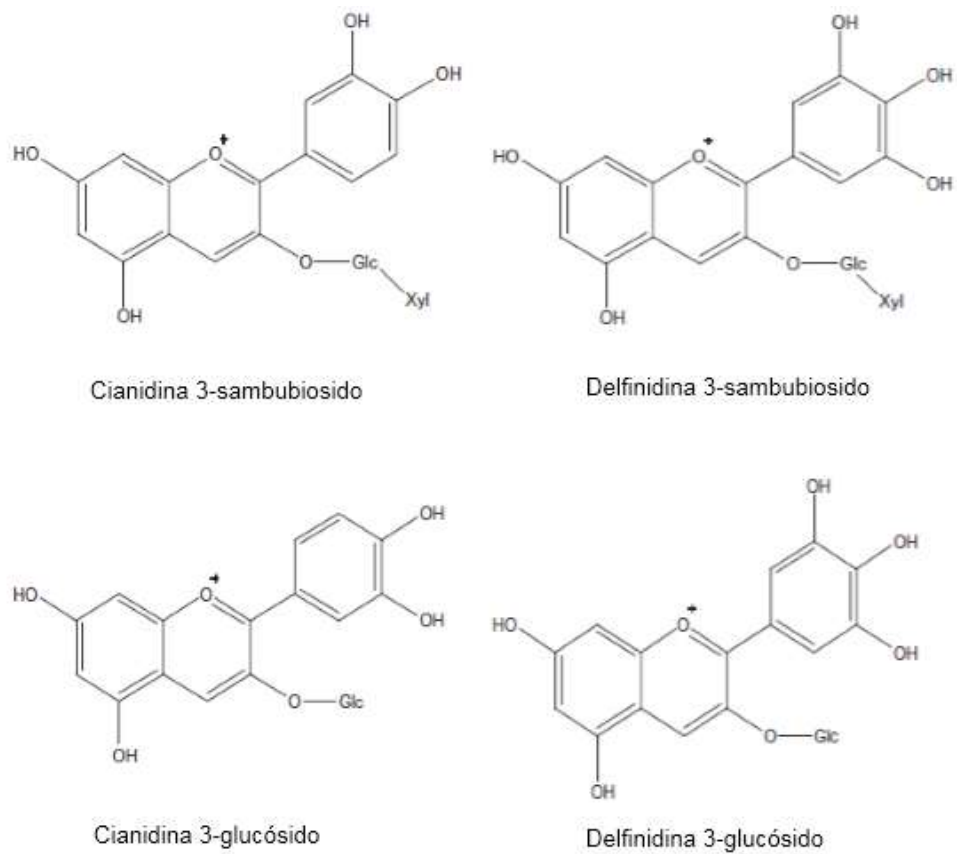


Figura 4. Estructuras de las principales antocianinas presentes en los cálices de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*)

(Sindi, Marshall & Morgan, 2014)

A continuación en la Tabla 7 se enlistan las principales antocianinas presentes en la flor de jamaica:

Tabla 7. Principales antocianinas presentes en los cálices de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

Clase	Componente
Cationes flavilios	Delfinidina-3-glucósido
	Delfinidina-3-sambubiosido (Hibiscina)
	Cianidina-3-sambubiosido (Gosipicianina)
	Cianidina-3-glucósido (delfinidina-pentósido glucósido) (Crisantenin)
	Cianidina-3,5-diglucósido
	Cianidina-3-(2G-glucosilrutinosido)
	Cianidina-3-rutinósido
	Pelargonidina

(Da-Costa et al., 2014)

2.3.5. POLIFENOLES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

2.3.5.1. Compuestos fenólicos presentes en el vino

La composición de un vino es compleja y de naturaleza coloidal, puesto a que la mayoría de sus componentes fenólicos provienen de la fruta con la que se obtuvo el mosto y otros fueron formados durante el proceso fermentativo. Se han identificado cerca de 500 compuestos polifenólicos en los vinos (Martínez, González, Culebras & Tuñón, 2002), y su concentración depende de la materia prima que se utilizó, de la variedad de la fruta, del tiempo que duró la fermentación, entre otros factores (Camussoni & Carnevali, 2004).

Los polifenoles son responsables del color de los vinos, y desempeñan un papel importante en sus características organolépticas, tanto por su estructura como por su concentración (Barhé & Tchouya, 2016). Los principales compuestos fenólicos presente en el vino que demuestran capacidad antioxidante son: derivados de los ácidos fenólicos; ácidos cinámicos y tirosina; estilbenos; flavonoides que incluyen flavonoles, antocianinas, flavanoles, catequinas epicatequinas y sus derivados glicosilados; y taninos condensados (Camussoni & Carnevali, 2004).

2.3.5.2. Contenido de polifenoles totales

El método que generalmente se utiliza para la medición del contenido de polifenoles totales, es el Protocolo de Folin-Ciocalteus, en el cual el conjunto de los compuestos fenólicos del vino se oxida por el reactivo Folin-Ciocalteus. Este reactivo constituido por una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$) se reduce, por la oxidación de los fenoles, en una mezcla de óxidos azules de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}). La coloración azul producida posee una absorción máxima en torno a 760 nm y es proporcional al porcentaje de compuestos fenólicos presentes en el vino (Moreno, 2003).

2.3.5.3. Capacidad antioxidante

Los vinos con mayores concentraciones fenólicas, son menos susceptibles a la oxidación. Los polifenoles son particularmente activos en el consumo de oxígeno presente, mostrando una capacidad antioxidante y protegiendo de la oxidación a otros compuestos aromáticos del vino. La generación de acetaldehído, como consecuencia de la oxidación de los fenoles, permite la estabilización del vino durante su almacenamiento, formando polímeros de antocianina-tanino resistentes a la oxidación (Jackson, 2011; González, 2013).

La capacidad antioxidante del vino no viene dada solo por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes; también depende de las condiciones de almacenamiento a la que se encuentra expuesto (Kuskoski, Asuero, Troncoso, Mancini & Fett, 2005). Los fenoles interactúan entre sí, pudiendo producirse efectos sinérgicos o inhibitorios. Por lo tanto, todas las prácticas de producción vinícola y de almacenamiento, que estén enfocadas en la obtención de vinos con un alto contenido fenólico

mejorado y con una mayor capacidad antioxidante, permitirán prolongar la vida útil de un vino, incluso superior a 5 o 10 años, evitando además la utilización excesiva de aditivos antioxidantes como el SO₂ (Jackson, 2011).

Alternativamente, diversos compuestos cromógenos (ABTS, DPPH, DMPD, DMPO y FRAP) son utilizados para determinar la capacidad de los compuestos fenólicos que contienen los frutos para captar los radicales libres generados, operando así en contra los efectos perjudiciales de los procesos de oxidación, que implican a especies reactivas de oxígeno denominadas EROS. Uno de los métodos más aplicados para la determinación de capacidad antioxidante es el TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox), mediante la utilización del radical ABTS•+, que requiere de una preparación previa a través de una reacción que puede ser química (dióxido de manganeso, persulfato de potasio); enzimática (peroxidasa, mioglobulina) o también electroquímica. Con el radical ABTS•+ se puede medir la actividad de compuestos de naturaleza hidrofílica y lipofílica, además tiene la ventaja de que su espectro presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico (Kuskoski et al., 2005).

Entre los métodos químicos utilizados para determinar la capacidad antioxidante (captación de radicales libres), el radical ABTS•+ es uno de los más rápidos, originando resultados reproducibles y coherentes. Además, el ABTS presenta importantes ventajas, puesto a que muestra varios máximos de absorción y una buena solubilidad (Kuskoski et al., 2005).

2.3.6. CALIDAD SENSORIAL DEL PRODUCTO

La calidad sensorial del vino es subjetiva y depende de factores como: el tipo de vino y la experiencia del consumidor. Los consumidores frecuentemente no reconocen los defectos en el vino, y por consiguiente no los consideran un

problema de vida útil. Incluso los críticos de vino son a menudo ambivalente en las fallas, aceptando colores, olores y aromas extraños. Por lo tanto, las fallas del vino, y su importancia en la vida útil, son a menudo percepciones influenciadas por la experiencia y sesgos exteriores, mas no por decisiones objetivas (Jackson, 2011).

2.3.6.1. Método de análisis sensorial

Ciertos alimentos como el vino, experimentan cambios sensoriales a lo largo del almacenamiento, que generan características que pueden influir en las decisiones de compra del consumidor. Las pruebas de aceptabilidad del consumidor, dan como una medida directa del gusto, y es la más apropiada para estimar la vida útil de un producto. El procedimiento consiste en pedir a los consumidores representativos de la población objeto, una evaluación en la escala de aceptabilidad de categoría de 9 puntos, desde el gusto extremo, hasta el disgusto extremo. Deben utilizarse un mínimo de 50 consumidores, y preferiblemente de 100. Puede obtenerse información sobre características específicas del producto como: aspecto, olor, sabor y color; y puede ser realizada en un laboratorio móvil, a fin de aumentar el grado de control con los panelistas (Kilcast & Subramaniam, 2000).

3. METODOLOGÍA

3. METODOLOGÍA

La fase experimental, se realizó en la Planta Piloto de Alimentos, en el Laboratorio de Química General y en el Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Tecnológica Equinoccial.

3.1. MATERIA PRIMA

Para los estudios del vino de flor de jamaica y su réplica, se utilizó flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*), procedente del cantón Macas, Provincia de Morona Santiago.

3.1.1. CARÁCTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA Y MICROBIOLÓGICA DE LA FLOR DE JAMAICA

Los análisis físico-químicos y microbiológicos correspondientes a la flor de jamaica (Anexo I) se realizaron en un laboratorio acreditado, de acuerdo a lo establecido por la Norma Mexicana NMX-FF-115-SCFI-2010 para Productos agrícolas destinados para el consumo humano: Flor (cáliz) de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*) – Especificaciones y métodos de prueba (NMX, 2010), presentados en la Tabla 8.

Tabla 8. Métodos de referencia utilizados para la caracterización físico-química y microbiológica de la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO	
PARÁMETROS	MÉTODO DE REFERENCIA
*Sólidos Solubles (°Brix)	AOAC 932.12
*pH	AOAC 960.19
Humedad	INEN 1114
Ceniza	INEN 1117
Materia seca	M. interno SEIDLABORATORY
ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO	
Recuento de Aerobios mesófilos	INEN 1529-5
Recuento de Coliformes Totales	AOAC 991,14
Recuento de Mohos y levaduras	INEN 1529-10
Recuento de Coliformes fecales	INEN 1529-8
Salmonella spp.	AOAC 96725.26.27 FDA/CF SAN BAM (CAP V)

*Análisis realizados en los laboratorios de la Universidad Tecnológica Equinoccial

3.2. DESCRIPCIÓN DE LA ELABORACIÓN DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA Y ESTUDIOS DE ESTABILIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO

Para la elaboración del vino de flor de jamaica, se utilizó la formulación establecida en el estudio realizado por Mármol (2016), que determina la relación 1:3 (cálices de jamaica: agua), la cual presentó el mayor contenido de polifenoles y la más alta capacidad antioxidante.

Durante el proceso de vinificación, se tomaron muestras del mosto corregido del día 0, y muestras diarias durante 29 días, tiempo en el cual el proceso de fermentación se estabilizó y culminó. En dichas muestras se analizaron sólidos solubles (°Brix), pH y acidez titulable. Posteriormente se sometió al

vino a un proceso de decantación natural durante 6 días, tiempo en el que se tomaron muestras diarias, en las cuales se analizaron sólidos solubles (°Brix), pH, acidez titulable y turbidez.

Culminada la fase de clarificación del vino, se realizó el análisis sensorial de aceptabilidad global, de la primera muestra de vino clarificado previo al almacenamiento. Posteriormente se prepararon dos grupos de muestras para estudios de estabilidad durante el almacenamiento, las cuales fueron sometidas a dos condiciones de temperatura: ambiental a 20 °C y refrigeración a 6 °C respectivamente; durante 14 días consecutivos. Se tomaron muestras de cada grupo de los días 0, 7 y 14 de almacenamiento. En las muestras se analizaron sólidos solubles (°Brix), pH, acidez titulable, turbidez y color.

Al finalizar la etapa de almacenamiento, se realizó el análisis sensorial de aceptabilidad global de las muestras sometidas a almacenamiento durante 14 días a temperatura ambiente y a refrigeración, respectivamente. Se determinaron el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante de las siguientes muestras: cálices frescos de flor de jamaica; mosto corregido previo a la fermentación; vino clarificado previo al almacenamiento; vino almacenado a temperatura ambiente durante 7 días, vino almacenado en refrigeración durante 7 días; vino almacenado a temperatura ambiente durante 14 días y vino almacenado en refrigeración durante 14 días.

Finalmente se enviaron las muestras a un laboratorio acreditado para los análisis físico-químicos establecidos en la norma NTE-INEN 0374 para Vinos de Frutas y sus requisitos, del vino con mayor contenido de polifenoles y capacidad antioxidante.

En la Figura 5 se presenta el diagrama de flujo de la elaboración del vino:

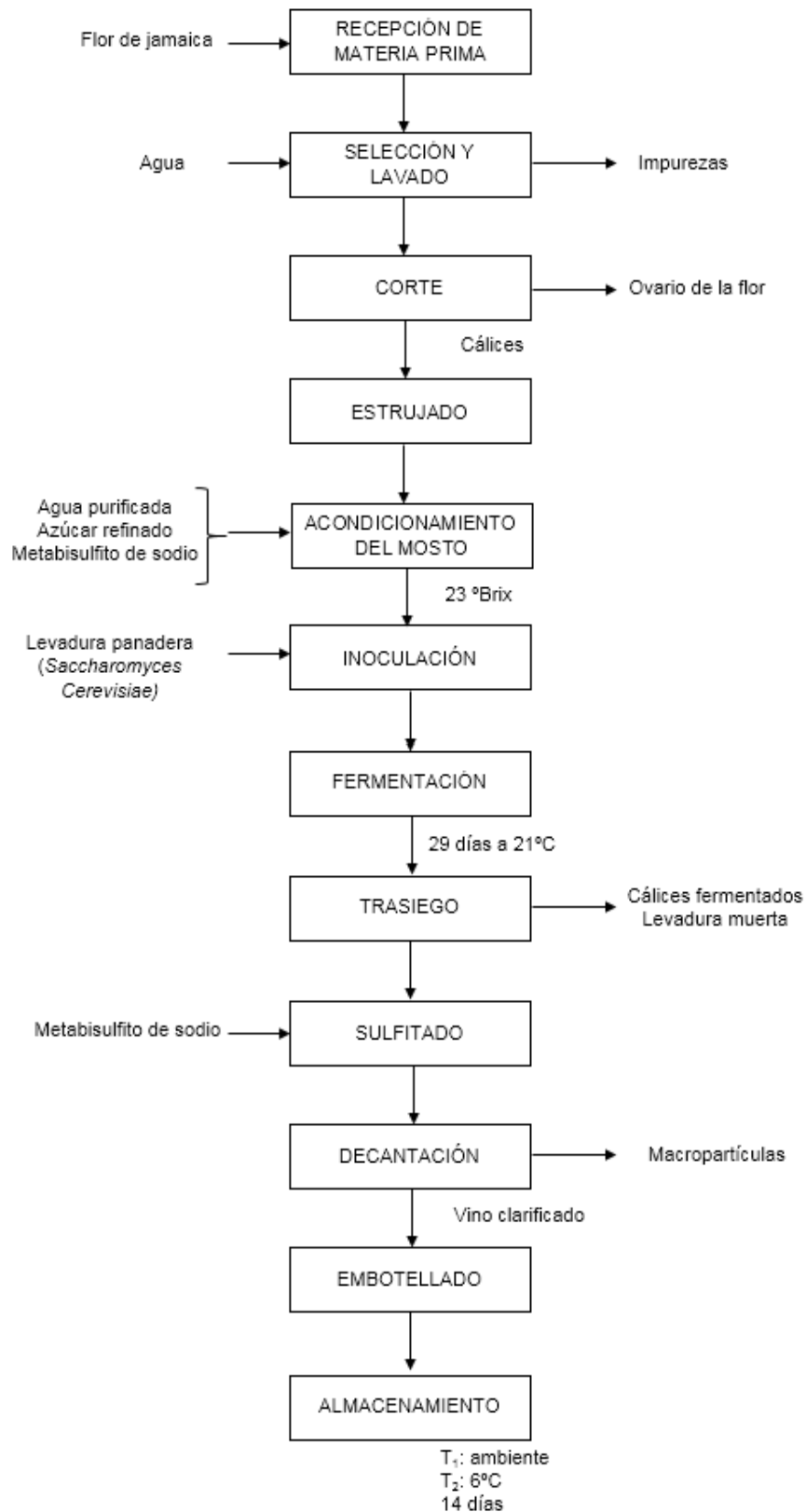


Figura 5. Diagrama de Flujo del proceso de elaboración y almacenamiento del Vino de Flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*)

3.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.3.1. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES (°Brix)

De acuerdo al Método Oficial AOAC 932.12 (AOAC, 2005), se determinaron los sólidos solubles (°Brix) de las muestras obtenidas, mediante el refractómetro digital marca HANNA modelo HI 96801.

3.3.2. DETERMINACIÓN DE pH

Se realizaron las mediciones de pH de las muestras tomadas, conforme al Método Oficial AOAC 960.19 (AOAC, 2012), con el potenciómetro digital Marca Thermo Scientific Mettler Toledo, que cuenta con corrección automática de la temperatura.

3.3.3. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TITULABLE

En función del Método Oficial AOAC 962.12 (AOAC, 2005), se titularon independientemente cada una de las muestras obtenidas, con la ayuda del equipo para titulación ácido-báse, y las mediciones se realizaron con el potenciómetro digital Marca Thermo Scientific Mettler Toledo, que cuenta con corrección automática de temperatura. El cálculo de la acidez titulable de acuerdo a la ecuación 1, se hizo en función del ácido cítrico de acuerdo a estudios similares realizados por Alvarenga (2004) y Mounigan & Badrie (2007).

Ecuación

[1]

$$C_{\text{ácido}} = \frac{V_{\text{NaOH}} \times N_{\text{NaOH}} \times \text{meq}_{\text{ácido}} \times 1000}{V_{\text{vino}}}$$

Donde:

$C_{\text{ácido}}$ = Concentración del ácido (g/L)

V_{NaOH} = Volumen consumido de NaOH durante la titulación (mL)

N_{NaOH} = Concentración del NaOH utilizado para la titulación (N) o (eq/L)

$\text{meq}_{\text{ácido}}$ = milliequivalente químico del ácido (mg/eq)

$\text{meq}_{\text{ácido cítrico}}$ = 0.064 mg/eq

$\text{meq}_{\text{ácido tartárico}}$ = 0.075 mg/eq

V_{vino} = Volumen de vino (mL)

3.3.4. DETERMINACIÓN DE LA TURBIDEZ

Se realizaron las mediciones de turbidez de las muestras obtenidas, conforme al Método Internacional OIV-MA-AS2-08, para determinación de turbidez en vinos mediante el análisis Nefelométrico (OIV, 2009), con la ayuda de un turbidímetro de marca HACH modelo 2100P.

3.3.5. DETERMINACIÓN DEL COLOR

Se realizaron los estudios de color, conforme al Método Glories descrito en la OIV-MA-BS-26, para la determinación de la intensidad del color en vinos (OIV, 2009). Se realizaron mediciones de las absorbancias en el rango de 380 a 780

nm, teniendo mayor relevancia los datos obtenidos a 420, 520 y 620 nm. Para el análisis del color se utilizó el espectrofotómetro Thermo Spectronic Genesys 20.

3.3.6. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES

Se determinó el Contenido de Polifenoles en cada una de las muestras de vino de flor de jamaica en estudio, mediante el Protocolo de Folin-Ciocalteus descrito por (Zhen, Villani, Guo, Qi, Chin, Pan & Wu, 2016), y se utilizó el espectrofotómetro Thermo Spectronic Genesys 20. El método fue adaptado a las condiciones del Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Tecnológica Equinoccial, y se encuentra detallado en el Anexo VII.

3.3.7. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

De acuerdo al método espectrofotométrico descrito por (Re, Pellegrini, Proteggente, Pannala, Yang & Rice, 1999), basando en la decoloración del radical ABTS, se determinó la capacidad antioxidante de cada una de las muestras de vino de flor de jamaica en estudio. El radical ABTS se generó a partir de la reacción química entre el dióxido de manganeso y el persulfato de potasio, y permite medir compuestos hidrofílicos y lipofílicos.

El método fue adaptado a las condiciones del Laboratorio de Química Analítica de la Universidad Tecnológica Equinoccial, y se encuentra detallado en el Anexo VIII.

3.3.8. DETERMINACIÓN DE LA ACEPTABILIDAD GLOBAL MEDIANTE ANÁLISIS SENSORIAL

Se realizó la evaluación sensorial de aceptabilidad global de las muestras de los dos grupos de vino almacenado, bajo dos condiciones de temperatura. Las muestras que se estudiaron fueron de los días 0 y 14 de almacenamiento. El método utilizado fue la prueba hedónica de aceptabilidad global descrita por Kilcast & Subramaniam (2000), con un panel de 100 consumidores inexpertos.

En el Anexo IX, se pueden visualizar los test hedónicos de evaluación sensorial diseñados para el estudio. Esta prueba hedónica se aplicó con una escala de 9 puntos, en donde:

- 1 corresponde a “extremadamente desagradable”
- 2 corresponde a “muy desagradable”
- 3 corresponde a “desagradable”
- 4 corresponde a “ligeramente desagradable”
- 5 corresponde a “ni agradable ni desagradable”
- 6 corresponde a “ligeramente agradable”
- 7 corresponde a “agradable”
- 8 corresponde a “muy agradable”
- 9 corresponde a “extremadamente agradable”,

Cada participante recibió tres muestras de vino y se utilizó como neutralizador de sabor un vaso de agua purificada.

Los atributos analizados en el vino pueden ser visualizados en la Tabla 9:

Tabla 9. Atributos analizados en el estudio de sensorial del vino de flor de jamaica sometido a dos condiciones de almacenamiento

Análisis Sensorial	Método	Norma
Apariencia Color Olor Sabor Aceptabilidad global	Sensorial	Norma ISO 3972

3.3.9. DETERMINACIÓN DE LAS CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA

Se solicitó a un laboratorio acreditado, la realización de los análisis físico-químicos correspondientes al vino de flor de jamaica con mayor contenido de polifenoles y más alta capacidad antioxidante (Anexo X), de acuerdo a lo establecido por la norma NTE-INEN 0374 para Vinos de Frutas y sus requisitos, presentados en la Tabla 10.

Tabla 10. Métodos de referencia utilizados para la caracterización físico-química del vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*)

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO	
PARÁMETROS	MÉTODO DE REFERENCIA
Grado alcohólico 20 °C	NTE INEN 360
*Acidez volátil, como ácido acético	NTE INEN 341
*Acidez volátil, como ácido málico	NTE INEN 341
Metanol	NTE INEN 347
Anhídrido sulfuroso total	NTE INEN 356
Anhídrido sulfuroso libre	NTE INEN 357

*Análisis realizados en los laboratorios de la Universidad Tecnológica Equinoccial

3.4. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ESTADÍSTICO

El estudio estadístico se realizó en el software InfoStat Student Version, aplicando un diseño experimental completamente al azar, en el que se analizaron las variables independientes: Tiempo de almacenamiento (0, 7, 14) días, y la Temperatura de almacenamiento (T ambiente a 20 °C y T refrigeración a 6 °C); y el efecto causado en las variables dependientes: sólidos solubles (°Brix), pH, acidez titulable, color, turbidez, contenido de polifenoles y capacidad antioxidante.

Los resultados obtenidos fueron procesados mediante el análisis de varianza ANOVA, y las medias fueron comparadas utilizando la prueba de Tukey, con un nivel de confianza del 95 %.

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.1. CARACTERIZACIÓN DE LA MATERIA PRIMA

4.1.1. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DE LA FLOR DE JAMAICA

En la Tabla 11 se pueden observar los resultados obtenidos de los análisis físico-químicos de la flor de jamaica fresca, que corresponden al Anexo I.

Tabla 11. Análisis físico-químicos de la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*) proveniente de la Provincia de Morona Santiago

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO		
PARÁMETROS	RESULTADOS	MÉTODO DE REFERENCIA
Sólidos Solubles (°Brix)	5.6	AOAC 932.12
pH	3.6	AOAC 960.19
Humedad	86.51 %	INEN 1114
Ceniza	0.83 %	INEN 1117

Las flores de jamaica frescas utilizadas para el análisis presentaron un valor de sólidos solubles de 5.6 °Brix, muy cercano al reportado por Naranjo (2013) de 6.9 °Brix, quien hizo el estudio en flores de jamaica provenientes de la provincia de Pastaza. En la caracterización físico-química realizada por Salinas, Zúñiga, Jiménez & Serrano (2012) se obtuvieron valores de sólidos solubles de entre 0.70 a 0.85 °Brix en cálices frescos de flor de jamaica provenientes de distintas zonas del mundo, cantidades notoriamente inferiores a las obtenidas de las variedades cultivadas en Ecuador, por lo que tecnológicamente es favorable la utilización de variedades de flor de jamaica ecuatoriana para la elaboración de mostos, con una respectiva corrección de la cantidad de azúcar para la posterior fermentación y obtención de vinos.

El valor obtenido en el análisis de las flores de jamaica frescas fue de pH 3.6, similar al presentado en el estudio de Naranjo (2013) de pH 3.2. Salinas et al. (2012) reporta valores de pH entre 2.4 a 2.64 para diferentes variedades de *Hibiscus sabdariffa L.* provenientes de varios países del mundo. La Norma Mexicana NMX-FF-115-SCFI-2010 refiere que el valor de pH de los cálices frescos de flor de jamaica para el consumo humano debe ser máximo de 3.0, pero tecnológicamente para la preparación del mosto, el valor obtenido en el estudio es adecuado, puesto a que González (2012) determina que los valores óptimos de pH para la iniciación de la fermentación del mosto se encuentran entre (3-3.6), además impiden la proliferación de microorganismos patógenos.

La flor de jamaica estudiada presentó un contenido de humedad de 86.51 %, comparable con los valores reportados por Cid & Guerrero (2012) de 86.50 % en cálices de jamaica rojos y de 85.30 % en cálices de jamaica rojo-oscuros provenientes de México. En los análisis realizados por Naranjo (2013) en flor de jamaica cultivada en Pastaza, se obtuvo un contenido de humedad superior de 88.25 %; por lo que se determina que la humedad de la flor de jamaica de Morona Santiago utilizada en este estudio, es similar a las flores de jamaica mexicanas, y de acuerdo con Cid & Guerrero (2012), los cálices de jamaica de variedades rojo y rojo oscuro cultivados en México son ideales para la obtención de extractos acuosos con los cuales se pueden preparar bebidas refrescantes.

El contenido de cenizas obtenido en el análisis de la flor de jamaica utilizada para este estudio fue de 0.83 %, un porcentaje bajo en comparación a los valores obtenidos por Cid & Guerrero (2012) de 6.90 % en cálices frescos; Sáyago & Goñi (2010) de 6.80 %; y Naranjo (2013) de 5.02 %. Un contenido alto de cenizas sugiere la presencia de un adulterante inorgánico, o de otros productos químicos utilizados durante el cultivo del alimento como pesticidas (Valencia, Arboleda, Burgos & Mendoza, 1978). Por otro lado la Norma

Mexicana NMX-FF-115-SCFI-2010 determina el valor de cenizas de 10 % como límite máximo para los cálices de jamaica para consumo humano, lo que refleja que la flor de jamaica proveniente de Morona Santiago contiene pocos residuos minerales y que probablemente fue cultivada bajo procedimientos naturales y orgánicos que evitan la utilización de químicos y contaminantes, que puedan alterar el contenido de cenizas.

4.1.2. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICOS DE LA FLOR DE JAMAICA

En la Tabla 12 se pueden observar los resultados obtenidos de los análisis microbiológicos de la flor de jamaica fresca.

Tabla 12. Análisis microbiológico de la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*) proveniente de la Provincia de Morona Santiago

ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO		
PARÁMETROS	RESULTADOS	MÉTODO DE REFERENCIA
Recuento de Aerobios mesófilos	94 x 10 ² UFC/g	INEN 1529-5
Recuento de Coliformes Totales	79 x 10 ¹ UFC/g	AOAC 991,14
Recuento de Mohos y levaduras	50 x 10 ² UPM/g	INEN 1529-10
Recuento de Coliformes fecales	<3 NMP/g	INEN 1529-8
Salmonella spp. 25 g	Ausencia	AOAC 96725.26.27 FDA/CF SAN BAM (CAP V)

El resultados para el recuento de aerobios mesófilos totales de 94 x 10² UFC/g de la flor de jamaica fresca utilizada para el estudio, se encuentran dentro de los límites establecidos por la Norma Peruana Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano, para frutas y hortalizas frescas respecto al recuento de aerobios mesófilos entre 10⁴ y 10⁶ UFC/g.

Los resultados de los recuentos de Coliformes fecales de <3 NMP/g y la ausencia de *Salmonella* en 25 g de muestra, son acordes a lo establecido por la Norma Mexicana NMX-FF-115-SCFI-2010, que determina para el recuento de Coliformes fecales un límite máximo de 10 UFC/g y ausencia respecto a *Salmonella*.

Sin embargo los recuentos de Coliformes totales de 79×10^1 UFC/g; y mohos y levaduras de 50×10^2 UPM/g, se encuentran fuera de los límites de dichas normas, por lo que pueden corresponder a la flora microbiológica proveniente del agua de riego o de otras alteraciones sufridas durante la etapa de cultivo, por lo que es importante un tratamiento adecuado de desinfección de los cálices previos a su procesamiento.

Por otro lado, como determinan Hidalgo (2011) y Bujan (2003), el procedimiento del sulfitado del mosto permite la eliminación de todo tipo de microorganismos patógenos que puedan afectar al proceso de fermentación, por lo que se considera a la presencia de esta cantidad de microorganismos como inofensiva.

4.2. ELABORACIÓN DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA ***(Hibiscus sabdariffa L)***

4.2.1. RENDIMIENTOS DEL PROCESO

En la Tabla 13, se puede observar de manera general los rendimientos calculados durante el proceso de elaboración del vino de flor de jamaica.

Tabla 13. Rendimientos obtenidos durante el proceso de elaboración del vino de flor de jamaica

Materia	Porcentaje (%)
Cálices frescos de jamaica	58.14
Restos vegetales y ovarios de las flores de jamaica	41.86
Vino de flor de jamaica	53.24
Muestras de vino para análisis, residuos orgánicos, mermas propias del proceso	46.76

Durante los procesos de recepción de materia prima, limpieza, lavado, selección y corte; se obtuvieron 11.034 kg de cálices frescos de flor de jamaica listos para procesar, 7.94 kg de mermas y se calculó el rendimiento de la flor, que puede ser observado en el Anexo III, el cual fue de 58.14 %, valor superior al reportado por Vallecillo & Gómez (2004) de 46.94 % en relación a los cálices frescos utilizables para el procesamiento, y a la semilla de la flor la cual fue desechada. Viteri (2009) en su estudio determina que el rendimiento de la mora de castilla (*Rubus glaucus Benth*) es de 90.25 %, lo que indica que el rendimiento de los cálices de jamaica es bajo en comparación al rendimiento de otras frutas como la mora, también utilizada para la elaboración de vinos frutales en el Ecuador.

En la caracterización físico-química de los cálices frescos de jamaica adquiridos para el estudio, se obtuvieron valores de sólidos solubles de 5.6 °Brix y 3.6 de pH. En el Anexo IV, se presentan los resultados del balance de masa, calculado a fin de obtener un mosto corregido de aproximadamente 23 °Brix y un pH adecuado para la iniciación de la fermentación.

En el proceso de elaboración del mosto de cálices de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*), se obtuvieron 56.34 L de mosto corregido, el cual fue sulfitado con 5.63 g de metabisulfito de sodio (100 ppm) y luego inoculado con 20.28 g de levadura panadera (0.36 g/L), valores de acuerdo a lo establecido por Córdova (2010), Hidalgo (2011) y Bujan (2003).

Se obtuvo un mosto inicial corregido de flor de jamaica de 23.68 ± 0.035 °Brix, un pH de 2.44 ± 0.007 , acidez titulable respecto al ácido cítrico de 3.71 ± 0.091 g/L y turbidez de 252.50 ± 2.12 NTU. Alvarenga (2004), en su estudio realizado en la elaboración de vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*), reporta un mosto inicial corregido con características físico-químicas similares de 24 ° Brix, pH de 2.37. Mounigan & Badrie (2007), de igual manera reportan en su experimento de elaboración de vino de flor de jamaica un mosto de 22 °Brix, pH de 2.52, acidez titulable respecto al ácido cítrico de 2.4 g/L, y 212.8 NTU de turbidez.

Bujan (2003) y González (2012) recomiendan acondicionar al mosto respecto a sólidos solubles en un rango entre (20 a 24) °Brix y un pH de (3 a 3.6) para iniciar la fermentación y evitar que ésta se desarrolle lentamente. Por lo tanto las condiciones iniciales del mosto elaborado fueron las adecuadas para iniciar con la fermentación.

El proceso de fermentación se desarrolló durante 29 días. En el Anexo XI se puede observar el Registro de la evolución de las variables estudiadas a través del tiempo de fermentación del vino de flor de jamaica.

Al estabilizarse la fermentación en el día 29, se obtuvieron 30.0 L de vino de cálices de jamaica y 26.34 L de mermas equivalentes a los restos orgánicos, muestras para análisis, y pérdidas propias del proceso. Se calculó el rendimiento del proceso de vinificación, el cual puede ser observado en el Anexo V, dando un valor de 53.24 % similar al obtenido por Alvarenga (2004), quien en su estudio obtuvo un rendimiento de 55.55 %.

Mariño (2013) y Córdova (2010) en la elaboración de vino de mora de castilla (*Rubus glaucus Benth.*), obtuvieron rendimientos superiores de 84.22 % y 74.64 % respectivamente; por lo tanto se puede observar que el rendimiento de la vinificación utilizando flor de jamaica es menor al obtenido en procesos

que utilizan otro tipo de frutas, esto se debe a la gran cantidad de mermas generadas por los cálices de jamaica, que tienen un gran tamaño en comparación a los restos de otras frutas pequeñas como las bayas, cuyo peso y tamaño no son significativos, dando de esta manera un mayor rendimiento al proceso de vinificación.

4.2.2. FERMENTACIÓN DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA

Transcurridos los 29 días de fermentación, se obtuvo un vino de flor de jamaica con las siguientes características: 15.15 ± 0.071 °Brix, pH de 2.38 ± 0.006 , acidez titulable de 7.78 ± 0.045 g/L de ácido cítrico y 748 ± 0.7 NTU de turbidez. Estos valores son relativamente cercanos en comparación a los reportados por Mounigan & Badrie (2007), quienes después de 26 días de fermentación obtuvieron un vino de flor de jamaica de 12.02 °Brix, un pH de 2.48 y acidez titulable de 5.6 g/L de ácido cítrico; por otro lado Alvarenga (2004) obtuvo después de 19 días de fermentación, un vino de flor de jamaica de 8 °Brix y con un pH de 2.85.

Las diferencias entre estos tres experimentos respecto al consumo de sustrato, radica en que al vino en estudio no se le añadieron nutrientes que favorecen al desarrollo metabólico de la levadura durante la fermentación, como en el caso de (Mounigan & Badrie, 2007) quienes adicionaron una mezcla de fosfato de diamonio y sulfato de amonio, sin embargo el consumo de azúcar es similar puesto a que ambas fermentaciones se desarrollaron a temperaturas cercanas, mientras que Alvarenga (2004) en su estudio añadió fosfato de diamonio al mosto y la fermentación se desarrolló a 27.83 °C, por estos motivos en este último experimento el consumo de sustrato fue mayor en comparación a los anteriores.

A fin de asegurar la estabilidad del producto y evitar alteraciones físico-químicas o microbiológicas (Mijares & Sáez, 2007), se procedió con el sulfitado del vino de flor de jamaica, cuyo principal objetivo fue detener la fermentaciones alcohólica y maloláctica. Se añadieron 600 mg de metabisulfito de sodio por cada litro de vino (20 ppm) de acuerdo a la dosis mencionada por Blouin & Peynaud (2006).

4.2.2.1. Sólidos solubles (°Brix)

En la Figura 6 se expresa el consumo de sustrato o azúcar presente en el mosto durante el proceso de fermentación. Se observa que el efecto de la fermentación del vino de flor de jamaica al transcurso de 29 días, si fue significativo ($p < 0.05$) respecto a los sólidos solubles (°Brix).

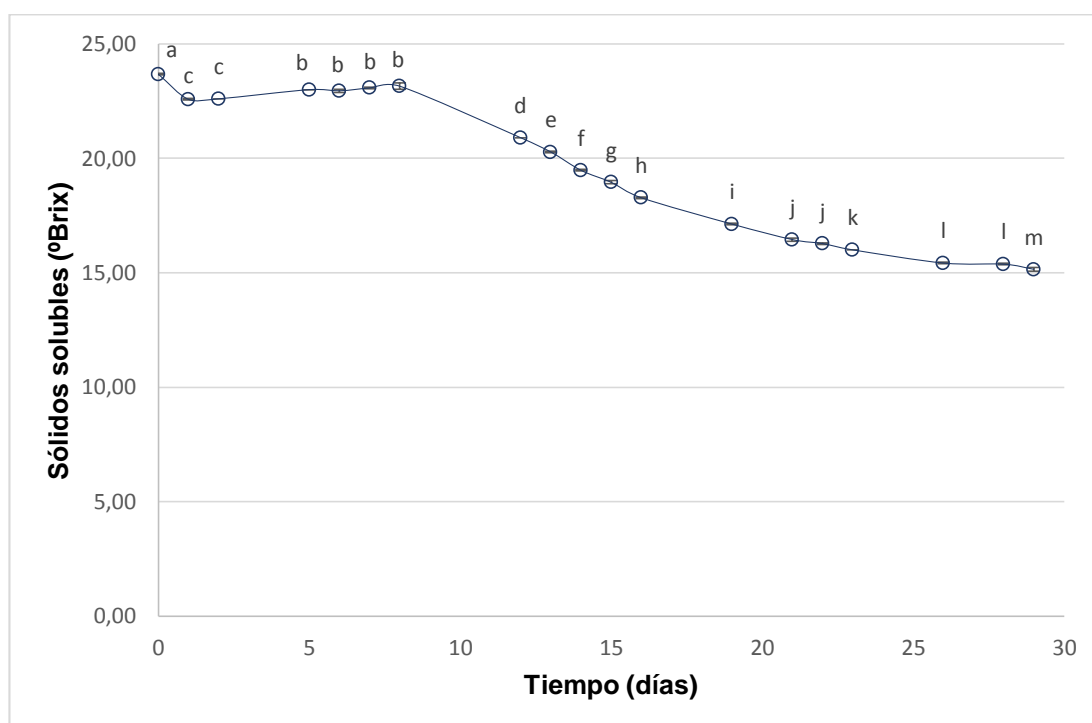


Figura 6. Consumo de sustrato (°Brix) durante el proceso de fermentación

$n=2 \pm$ Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una ($P < 0.05$)

Durante la fermentación en función del tiempo, se puede observar que el proceso se estabilizó en el día 29, este tiempo fue similar al reportado por Mounigan & Badrie (2007), en el cual la fermentación se desarrolló a lo largo de 26 días a 23 °C sin fluctuaciones de temperatura, y extenso comparado al estudio realizado por Alvarenga (2004), en el cual la fermentación se estabilizó en el día 19, después de iniciado el proceso. Esta diferencia en los tiempos, puede deberse a que Alvarenga (2004) desarrolló la fermentación a una temperatura promedio de 27.83 °C con fluctuaciones de ± 3 °C, mientras que en el presente estudio se trabajó a una temperatura de 21 °C con fluctuaciones de ± 1 °C.

Es entendible que exista diferencias significativas respecto a los °Brix medidos durante el transcurso de los días que la fermentación tardó en estabilizarse, puesto a que las levaduras consumen los azúcares fermentables presentes en el vino y al mismo tiempo producen todos los compuestos producto de la fermentación, principalmente etanol y gas carbónico (Hidalgo, 2011).

De acuerdo con Hidalgo (2011) las temperaturas elevadas pueden acelerar la velocidad del proceso metabólico de la fermentación. Por otro lado, la condición inicial del mosto respecto al pH, es menor a la establecida por el rango de 3 a 3.6 y de acuerdo con Mariño (2013) y Vallejo (2011), los mostos con niveles elevados de acidez y niveles bajos de pH pueden lograr que el proceso fermentativo se torne lento. Por lo tanto estas condiciones pudieron influir en que el proceso de fermentación se haya estabilizado en un tiempo extenso de 29 días.

4.2.2.2. pH

En la Figura 7 se indica la evolución del pH a través del tiempo durante el proceso de fermentación. Se observa que el efecto de la fermentación del vino

de flor de jamaica al transcurso de 29 días, si fue significativo ($p < 0.05$) respecto al pH.

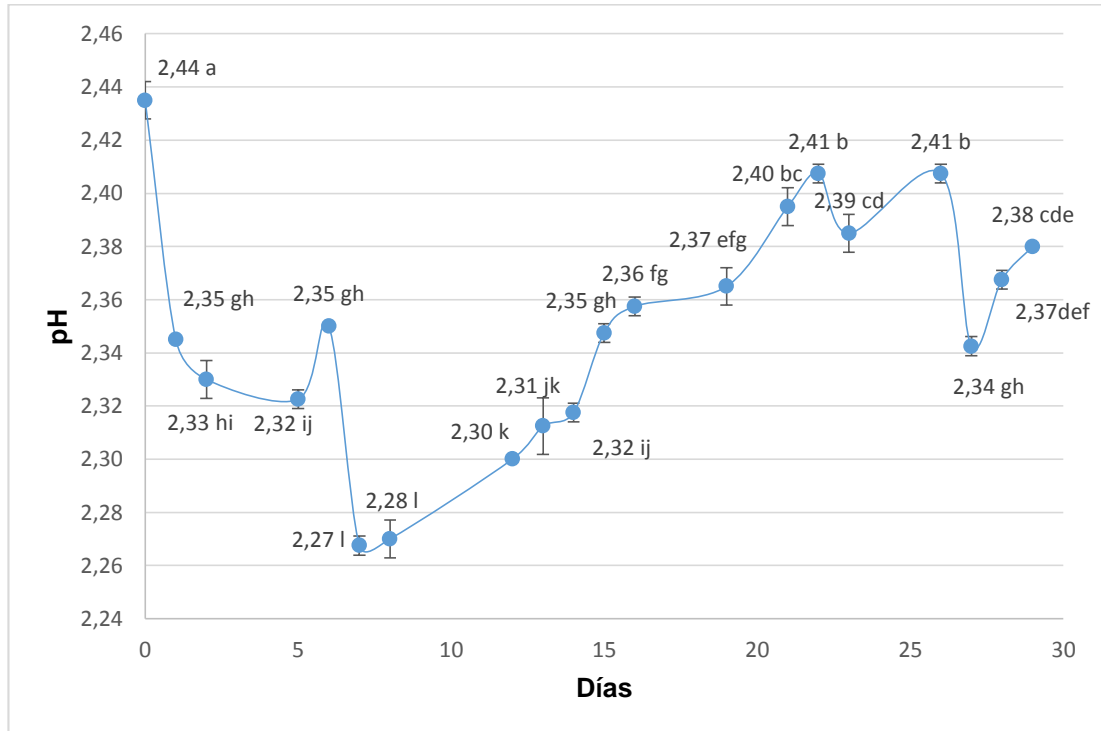


Figura 7. Evolución del pH durante el proceso de fermentación

$n=2 \pm$ Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una ($P < 0.05$)

Se observa que durante el transcurso de los 29 días de fermentación existieron fluctuaciones respecto al nivel del pH, teniendo un mosto inicial de $\text{pH } 2.44 \pm 0.007$, el cual descendió y ascendió a medida que sucedía el proceso de vinificación. Finalmente al llegar al último día del proceso, se obtuvo un vino con un $\text{pH de } 2.38 \pm 0.006$, este comportamiento es similar al reportado por Mounigan & Badrie (2007), en el cual también se observaron fluctuaciones en el nivel de pH teniendo un valor inicial de 2.52, que posteriormente descendió a un pH de 2.48 al concluir la fermentación en el día 26.

De acuerdo con Hidalgo (2011), el pH equivale a la concentración de varias funciones ácidas libres en el vino, es decir a la concentración de iones H^+ estrictamente responsables de la acidez, al ser el vino una bebida ácida debido a la presencia de un conjunto de ácidos orgánicos de carácter débil, muchos de ellos se encuentran salificados con cationes de potasio, estando éstos parcialmente disociados, donde una parte manifiesta su carácter ácido mediante sus hidrogeniones H^+ y otra parte sin disociar, presentando en consecuencia una resistencia a la modificación del pH cuando se alteran las condiciones durante la fermentación, proporcionándole un poder tampón al vino.

El descenso y ascenso del pH durante el proceso de vinificación puede estar estrechamente relacionado a la producción de ácidos orgánicos débiles parcialmente disociados durante la fermentación (Blouin & Peynaud, 2006), por lo tanto se puede considerar que la variación del pH de los vinos durante la fermentación depende principalmente de los contenidos de ácidos orgánicos principalmente el tartárico y a la presencia de cationes de potasio o calcio (Hidalgo, 2011).

4.2.2.3. Acidez Titulable

En la Figura 8 se indica la evolución de la acidez titulable respecto al ácido cítrico a través del tiempo durante el proceso de fermentación. Se observa que el efecto de la fermentación del vino de flor de jamaica al transcurso de 29 días, si fue significativo ($p < 0.05$) respecto a la acidez titulable.

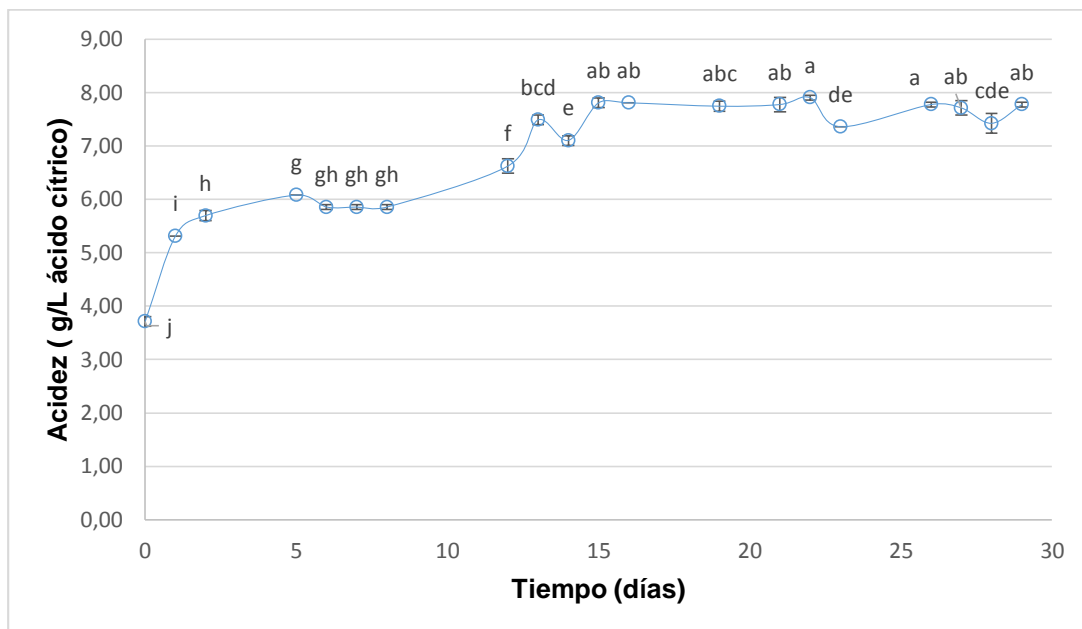


Figura 8. Evolución de la acidez titulable durante el proceso de fermentación

n=2 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

Se observa que la acidez titulable respecto al ácido cítrico aumentó a medida que transcurrieron los días durante la fermentación, teniendo un mosto inicial con una acidez de 3.71 ± 0.09 g/L de ácido cítrico, valor que ascendió con el pasar del tiempo hasta concluir en el día 29 con un vino de acidez de 7.78 ± 0.04 g/L de ácido cítrico. Este comportamiento es similar al reportado por Mounigan & Badrie (2007), en el cual también se observó un ascenso de la acidez titulable durante la fermentación, teniendo un mosto inicial de 4.5 g/L de ácido cítrico, el cual ascendió a 5.6 g/L de ácido cítrico al concluir la fermentación en el día 26.

Este aumento en la acidez titulable se debe a que durante la fermentación se producen ácidos orgánicos de carácter débil, propios del proceso metabólico que influyen directamente en el ascenso de la acidez real del vino y está estrechamente relacionada con el cambio del pH (Blouin & Peynaud, 2006).

4.2.3. CLARIFICACIÓN DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA

Posteriormente se sometió al vino a un proceso de decantación durante 6 días bajo condiciones de refrigeración a 6 °C, considerado por Blouin & Peynaud (2006), Mijares & Sáez (2007) y Bujan (2003) como un método de autoclarificación espontánea o clarificación natural que permite desarrollar la limpidez del vino, sin utilizar aditivos.

En la Figura 9 se presenta la evolución del proceso de decantación del vino respecto al tiempo, evaluado a través de la turbidez medida en unidades NTU. Se observa que el efecto de la decantación del vino de flor de jamaica al transcurso de 6 días, si fue significativo ($p < 0.05$) respecto a la turbidez.

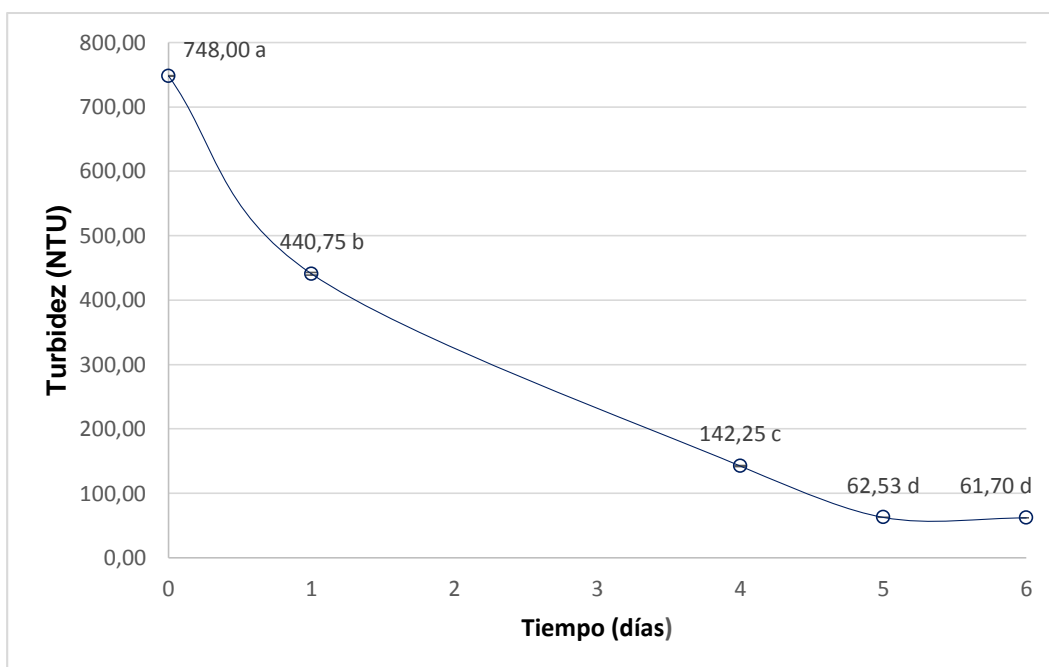


Figura 9. Turbidez (NTU) del vino de flor de jamaica durante el proceso de decantación

$n=2 \pm$ Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una ($p < 0.05$)

Durante los 6 días de decantación se realizó un seguimiento del vino, a través de la medición de la turbidez, que puede ser visualiza en el Anexo XIII y su

análisis estadístico se encuentra en el Anexo XIV. Finalmente al concluir con el proceso de decantación, se obtuvo un vino de flor de jamaica clarificado naturalmente, con mejores características respecto a la limpidez y transparencia, medidas en unidades nefelométricas de 61.70 ± 0.07 NTU, este valor dista del registrado por Mounigan & Badrie (2007), quienes en su estudio utilizaron 25 g de bentonita por cada hL de vino de flor de jamaica para agilizar el proceso de clarificación y obtuvieron un vino de 19.52 NTU.

El principal motivo por el cual los valores de turbidez entre el vino en estudio y el vino obtenido por Mounigan & Badrie (2007) son distintos, es el método utilizado para la clarificación. En el primero se puede observar que la sedimentación natural, tiene efecto por la gravedad de las partículas en suspensión presentes y su velocidad depende de la riqueza del vino en cuanto a los coloides protectores que se oponen a la aglomeración y su posterior precipitación (Blouin & Peynaud, 2006; Mijares & Sáez, 2007; Bujan, 2003); mientras que en el experimento de Mounigan & Badrie (2007), la utilización de bentonita como adición de una “cola” al vino, favoreció a la floculación rápida y vigorosa que permitió el arrastre de partículas y coloides presentes en la mezcla (Mijares & Sáez, 2007), obteniendo un producto más transparente.

Una vez concluido el proceso de decantación durante 6 días, se observó que el vino de flor de jamaica obtenido, tenía una ligera disminución respecto a la cantidad de sólidos solubles y acidez titulable, y un ligero aumento en el pH, puesto a que se inició el proceso de clarificación en 15.15 °Brix, un pH de 2.38 y acidez titulable de 7.78 g/L de ácido cítrico, y se finalizó en 15.13 °Brix, un pH de 2.42 y acidez titulable de 7.71 g/L de ácido cítrico.

El mismo comportamiento respecto a estos tres parámetros, fueron reportados por Mounigan & Badrie (2007), después de someter al vino de flor de jamaica al proceso de clarificación con bentonita, ya que en este caso, el

proceso se inició con 12.02 °Brix, un pH de 2.48 y acidez titulable de 5.6 g/L de ácido cítrico, y concluyó con un vino de 10.30 °Brix, un pH de 2.64 y acidez titulable de 4.9 g/L de ácido cítrico.

De acuerdo a Pérez, Neveu, Vos & Scalbert, (2010) las antocianinas y flavonoides suelen encontrarse como compuestos conjugados, glicosilados unidos a ciertos azúcares, que durante el proceso de clarificación ya sea por decantación o con la utilización de colas para la floculación, tienden a precipitar fácilmente, sedimentándose al mismo tiempo con algunos azúcares conjugados y moléculas de ácido (Blouin & Peynaud, 2006; Mijares & Sáez, 2007; Bujan, 2003). Es por este motivo que los sólidos solubles y de acidez disminuyen después del proceso de clarificación.

4.3. ESTUDIOS DE ESTABILIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA

De acuerdo con el diseño escalonado de Gacula para estudios de vida útil de un alimento, descrito por Kilcast & Subramaniam (2000), se analizaron los parámetros físico-químicos de sólidos solubles (°Brix), pH, acidez titulable, turbidez y colorimetría de los dos grupos de muestras sometidos a dos condiciones de almacenamiento durante 14 días. Los estudios estadísticos mediante el análisis de varianza (ANOVA) y el seguimiento de estos parámetros a través del tiempo de almacenamiento, pueden ser visualizados en los Anexos XV, XVI, XVII y XVIII respectivamente.

4.3.1. SÓLIDOS SOLUBLES (°BRIX)

Como se muestra en la Figura 10, el efecto del almacenamiento del vino de flor de jamaica bajo dos condiciones de temperatura al transcurso de 14 días, no fue significativo ($p > 0.05$) respecto a los sólidos solubles (°Brix).

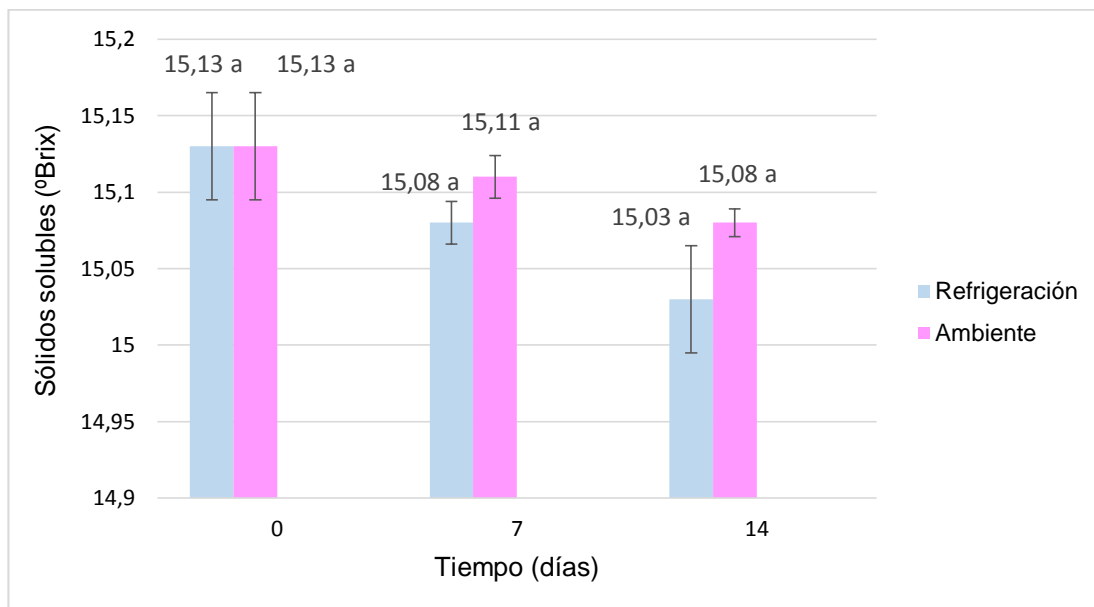


Figura 10. Comportamiento de la cantidad de sólidos solubles (°Brix) en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

n=2 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

Se puede observar que la cantidad de sólidos solubles en el día 0 de almacenamiento fue de 15.13 ± 0.035 °Brix, al transcurrir 7 días de almacenamiento a temperatura ambiente, hubo una ligera disminución a 15.11 ± 0.014 °Brix, y finalmente a los 14 días no existió un cambio significativo disminuyendo a 15.08 ± 0.009 °Brix.

Un comportamiento similar, se detectó bajo condiciones de almacenamiento a temperatura de refrigeración, puesto que al transcurrir 7 días, hubo una ligera disminución a 15.08 ± 0.014 °Brix, y a los 14 días fue de 15.03 ± 0.035 °Brix. En el análisis físico-químico realizado por Mounigan & Badrie (2007), al someter a condiciones de almacenamiento a 23 °C durante 8 semanas al vino de flor de jamaica, no se registraron diferencias significativas en la cantidad de sólidos solubles entre las muestras, las cuales fueron medidas cada 30 días, dando como resultados a las 4 semanas de almacenamiento un valor de 10.22° Brix, y a las 8 semanas 10.17 °Brix.

Por lo tanto, se puede evidenciar que la cantidad de sólidos solubles en el vino de flor de jamaica, no sufre cambios significativos en el transcurso del tiempo, bajo condiciones ambientales o de refrigeración durante el almacenamiento.

La estabilidad de los sólidos solubles, se debe a que de acuerdo con Blouin & Peynaud (2006) gracias a un adecuado sulfitado se destruyen las levaduras y bacterias presentes en el vino, que puedan continuar con el consumo lento de sustrato. Por otro lado, la ligera disminución sin diferencia significativa en la cantidad de sólidos solubles, puede deberse a que, a pesar de que el vino atravesó por un proceso de decantación previo; durante el tiempo de almacenamiento en reposo, el vino continúa decantándose lentamente, sedimentándose ciertos taninos glicosilados, que pueden llevarse consigo a cristales de azúcares hacia el fondo de la botella, provocando una ligera disminución en los °Brix (Blouin & Peynaud, 2006; Mijares & Sáez, 2007; Bujan, 2003).

4.3.2. pH

Como se muestra en la Figura 11, el efecto del almacenamiento del vino de flor de jamaica bajo dos condiciones de temperatura al transcurso de 14 días, no fue significativo ($p > 0.05$) respecto al pH.

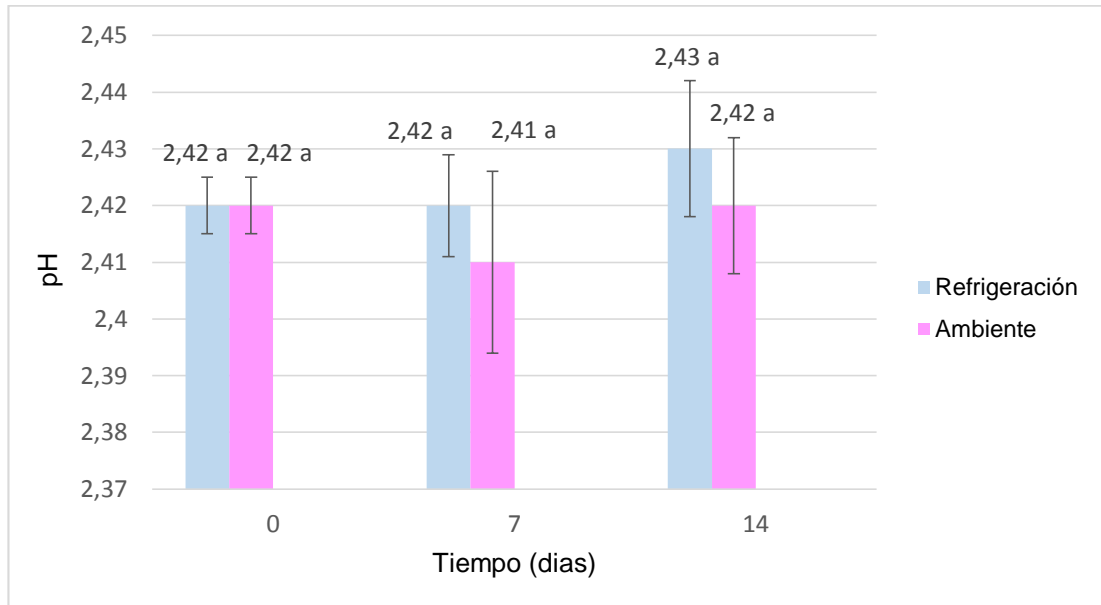


Figura 11. Comportamiento del pH en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

n=2 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

Se puede observar que en el día 0 de almacenamiento, el nivel de pH es de 2.42 ± 0.005 y no presenta diferencias significativas en el transcurso de los 14 días, bajo dos condiciones distintas de almacenamiento, en donde las muestras de ambiente concluyen con un pH de 2.42 ± 0.012 y las de refrigeración con un pH de 2.43 ± 0.012 .

A diferencia del comportamiento registrado por Mounigan & Badrie (2007), en el cual el proceso de almacenamiento empieza con un pH de 2.61, al transcurso de 4 semanas disminuyó a un pH de 2.43 y finalmente se observó a las 8 semanas un aumento a un pH de 2.77.

En los dos estudios de almacenamiento realizados con vino de flor de jamaica, coinciden los valores de pH dentro del nivel recomendado por Jackson (2011) y Reeves (2010), quienes describen que los pH inferiores a 3.5 son favorables para el mantenimiento de la vida útil puesto a que aumentan el poder

antiséptico y la capacidad antioxidante del sulfitado; proporcionan a los vinos un sabor fresco, reducen el pardeamiento; se enriquece la intensidad colorante y el tono; y se minimiza la concentración de la forma fenólica más fácilmente oxidable de los polifenoles.

4.3.3. ACIDEZ TITULABLE

Como se muestra en las Figura 12, el efecto del almacenamiento del vino de flor de jamaica bajo dos condiciones de temperatura al transcurso de 14 días, no fue significativo ($p>0.05$) respecto a la acidez titulable en relación al ácido cítrico.

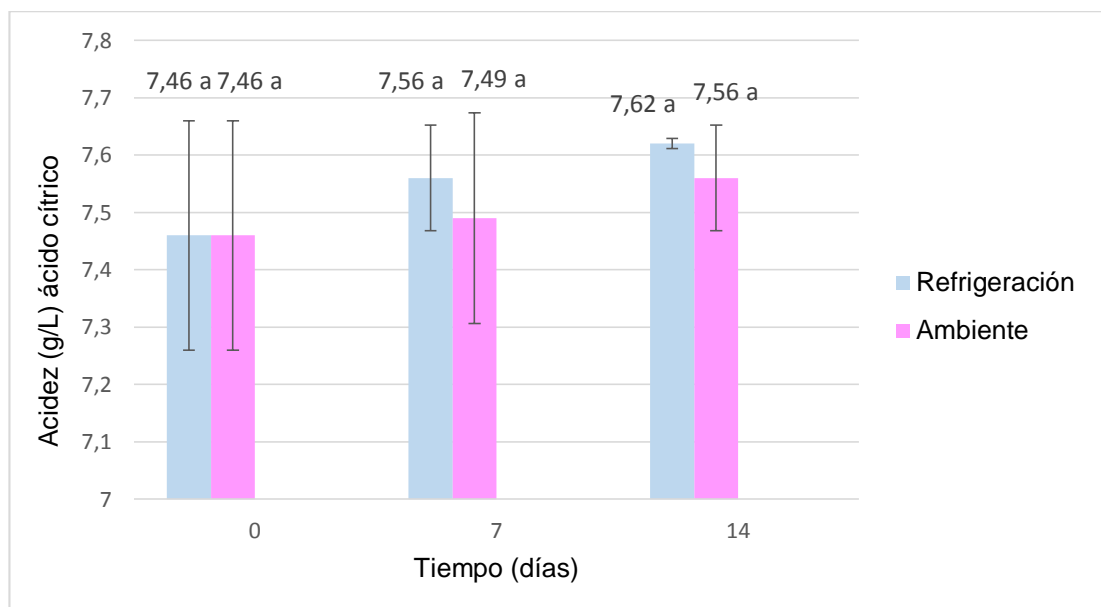


Figura 12. Comportamiento de la acidez titulable respecto al ácido cítrico en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

$n=2 \pm$ Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una ($P<0.05$)

Los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante el transcurso de 14 días, no presentaron diferencias significativas respecto a la cantidad de ácido cítrico presente. Las muestras iniciaron el proceso de

almacenamiento en refrigeración, con una acidez titulable de 7.46 g/L de ácido cítrico y concluyeron a los 14 días con una acidez de 7.62 g/L de ácido cítrico.

Para el caso de las muestras sometidas a condiciones ambientales, iniciaron el almacenamiento con una acidez de 7.46 g/L de ácido cítrico y culminaron a los 14 días con una acidez de 7.56 g/L de ácido cítrico. De manera similar Mounigan & Badrie (2007), en su estudio de almacenamiento de vino de flor de jamaica, no reportaron diferencias significativas respecto a la acidez titulable con relación al ácido cítrico durante el periodo de 8 semanas de almacenamiento, puesto a que sus muestras iniciaron con una acidez 4.2 g/L de ácido cítrico, y concluyeron a las 8 semanas con una acidez de 4.8 g/L de ácido cítrico.

De acuerdo con Jackson (2011), la vida útil de todos los vinos se ve reforzada por un contenido de ácido deseable y un nivel de pH bajo, puesto a que a un nivel de acidez bajo se favorece la oxidación de los compuestos fenólicos y la presencia del estado más fácilmente oxidado del fenolato, además tiene una gran influencia en la degradación de los ésteres frutales. Cuando la acidez del vino es indeseablemente baja, se puede ajustar hacia arriba mediante la adición de ácido tartárico o ácido cítrico, puesto a que son constituyentes naturales de las frutas, pero principalmente debido a que estos ácidos no son metabolizados adecuadamente por la mayoría de las bacterias, reduciendo así la probabilidad de deterioro microbiano.

4.3.4. TURBIDEZ

Como se muestra en las Figura 13, el efecto del almacenamiento del vino de flor de jamaica bajo dos condiciones de temperatura al transcurso de 14 días, si fue significativo ($p < 0.05$) respecto a la turbidez.

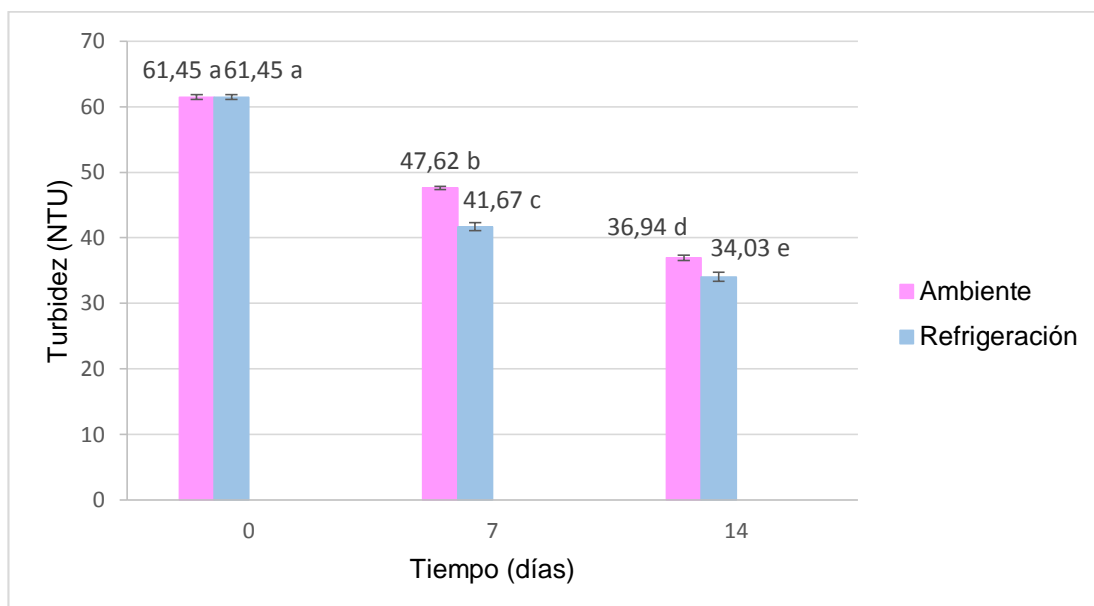


Figura 13. Comportamiento de la turbidez (NTU) en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

n=2 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

Se puede observar que las muestras de vino ingresaron a la etapa de almacenamiento con una turbidez de 61.45 ± 0.3 NTU. Para el caso de las muestras que fueron sometidas a temperatura ambiente a $21\text{ }^{\circ}\text{C}$, la turbidez disminuyó notablemente hacia el día 7, llegando a 47.62 ± 0.2 NTU; y reduciéndose hasta en un 39.88 % hasta el día 14, en el que se reportó 36.94 ± 0.3 NTU.

Para el caso de las muestras que fueron sometidas a temperatura de refrigeración a $6\text{ }^{\circ}\text{C}$, la turbidez disminuyó más en comparación a los vinos almacenados en ambiente, puesto que hacia el día 7 llegaron a 41.67 ± 0.6 NTU; y reduciéndose hasta en un 44.62 % hasta el día 14, en el que se reportó 34.03 ± 0.7 NTU.

Las muestras de vino sometidas a condiciones de refrigeración, tuvieron una mejor respuesta respecto al descenso de los valores de turbidez en el

transcurso de los 14 días de almacenamiento, esto es acorde a Blouin & Peynaud (2006), quienes describen que el efecto clarificante, ya sea por decantación o por floculación con colas, es más intenso cuando se produce a bajas temperaturas, o a temperaturas de refrigeración.

Sin embargo, durante el almacenamiento en reposo, los vinos a pesar de haber sido clarificados en un proceso previo de decantación, continúan sedimentándose en las botellas. La turbidez generalmente se debe a la presencia de las neblinas de flavonoles, taninos y cristales finos de quercetina y de ácido elágico (Jackson, 2011), que son polifenoles importantes en el vino, que continúan decantándose a lo largo del tiempo; por este motivo, las muestras sometidas a dos condiciones de almacenamiento, tuvieron una disminución notoria en la turbidez, lo cual es favorable sensorialmente para los vinos, puesto a que adquieren propiedades de transparencia y limpidez (Blouin & Peynaud, 2006; Mijares & Sáez, 2007).

4.3.5. COLOR

4.3.5.1. Absorbancia

En la Figura 14, se observan las medias de las mediciones de absorbancia obtenidas mediante espectrofotometría, a través del barrido del espectro electromagnético (380 a 780 nm), el cual puede ser revisado en el Anexo XVI, de cada una de las muestras de vino sometidas a diferentes condiciones de almacenamiento.

Se pudo comprobar que para todas las muestras, tienen el mayor valor de absorbancia entre 500 y 520 nm, ubicando la región del color rojo. Mariño (2013), en su estudio de color en vino de mora de castilla (*Rubus glaucus benth*) reporta un comportamiento similar de las absorbancias, situándose en

un rango entre 515 y 520 nm. De acuerdo con Jackson (2011) y Reeves (2010), los resultados de ambos estudios arrojan similitudes puesto a que tanto la flor de jamaica como la mora de castilla, son materias primas ricas en antocianinas y otros compuestos fenólicos responsables de la pigmentación roja en los vinos.

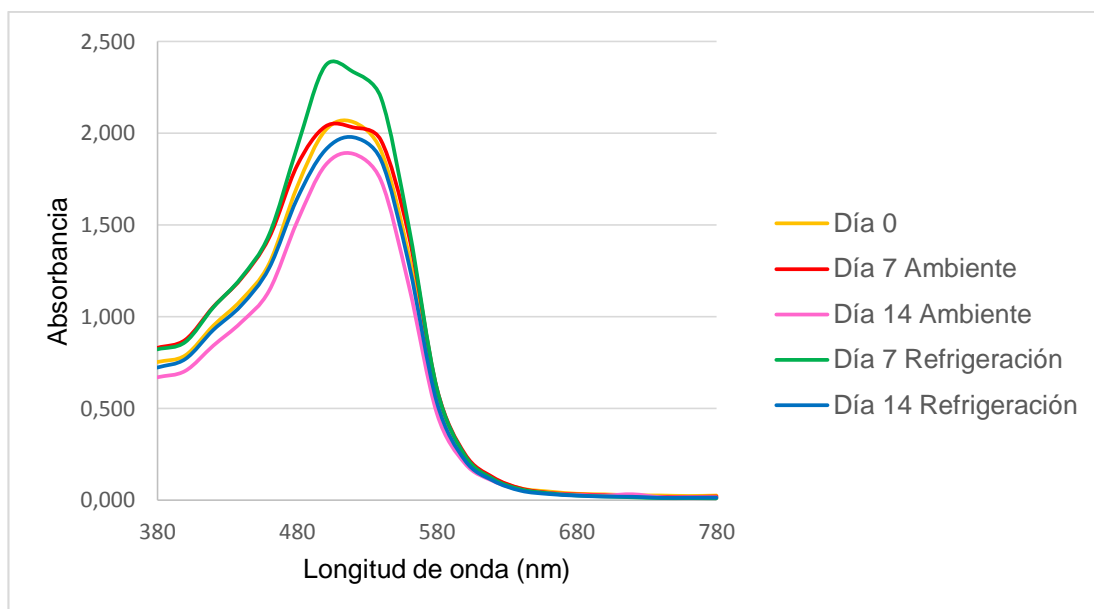


Figura 14. Comportamiento de las absorbancias de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

El método de Glories, permitió determinar la intensidad colorante (IC), el tono (T), el porcentaje de amarillo, el porcentaje de rojo y el porcentaje de azul en las muestras de vino sometidas a dos condiciones distintas de almacenamiento, valores que pueden ser observados en el Anexo XVII.

4.3.5.2. Intensidad Colorante

La intensidad colorante es una característica cromática relacionada con la luminosidad. En la Figura 15 se puede observar que, el efecto del almacenamiento del vino de flor de jamaica bajo dos condiciones de

temperatura al transcurso de 14 días, si fue significativo ($p < 0.05$) respecto a la intensidad colorante.

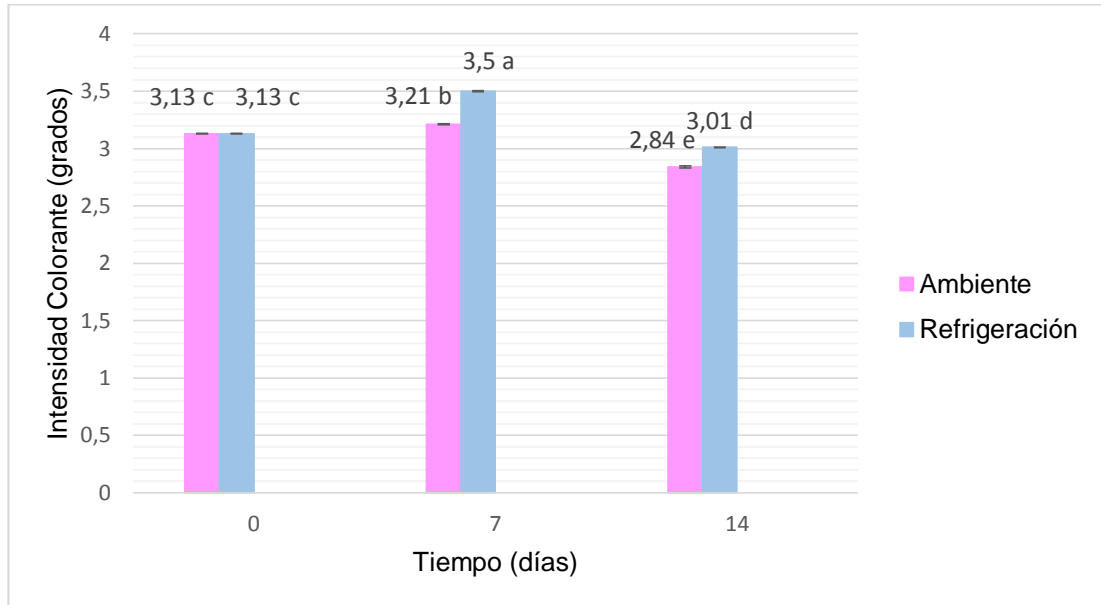


Figura 15. Comportamiento de la intensidad colorante en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

$n=2 \pm$ Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una ($P < 0.05$)

El vino sometido a condiciones de almacenamiento en refrigeración durante 7 días, presentó el valor más alto de $3.5^{\circ} \pm 0.005$ IC, sufriendo una ligera disminución en el día 14 a $3.01^{\circ} \pm 0.001$ IC. Para el caso del vino sometido a condiciones de almacenamiento ambientales al día 7, presentó un valor bajo de $3.21^{\circ} \pm 0.005$ IC, disminuyendo finalmente al día 14 a $2.84^{\circ} \pm 0.009$ IC.

De acuerdo con Jackson (2011), las temperaturas bajas o de refrigeración, evitan el desarrollo de las reacciones de Maillard que pueden generar compuestos que afecten a la luminosidad del vino, por otro lado ralentizan la oxidación de los compuestos fenólicos flavonoides, especialmente las catequinas en quinonas, que pueden modificar las propiedades cromáticas, generando pigmentos de colores parduzcos y brindar opacidad al vino. Es por este motivo, que los vinos almacenados a temperaturas de refrigeración

presentan valores más altos de intensidad colorante, respecto a las muestras almacenadas a temperatura ambiente.

4.3.5.3. Tono

El matiz o tono (T) es el factor de cualidad del color y corresponde a la longitud de onda dominante (amarillo, rojo, azul) que caracteriza la tonalidad del vino (García, 1990) y expresa la variación cualitativa del color en la muestra (Íñiguez, Ortega, Rosales, Ayala & Puras, 1995). En la Figura 16 se puede observar que el efecto del almacenamiento del vino de flor de jamaica bajo dos condiciones de temperatura al transcurso de 14 días, si fue significativo ($p < 0.05$) respecto a la tonalidad.

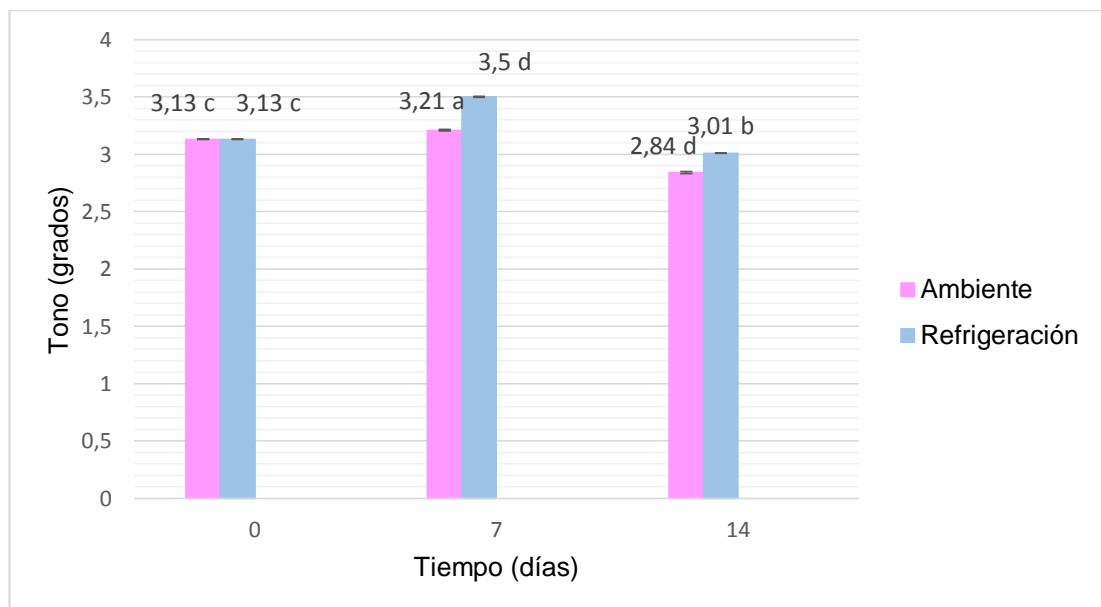


Figura 16. Comportamiento de la tonalidad en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

$n=2 \pm$ Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una ($P < 0.05$)

Las muestras de vino iniciaron el proceso de almacenamiento con una tonalidad de $0.46^{\circ} \pm 0.004$. Las muestras sometidas a condiciones de

almacenamiento en refrigeración sufrieron ligeras variaciones en el tono, culminando en el día 14 con un valor de $0.47^{\circ} \pm 0.001$. Las muestras sometidas a condiciones de almacenamiento en ambiente, mostraron una variación más significativa, siendo la del día 7 la más elevada con un valor de $0.52^{\circ} \pm 0.002$ para T, este valor superior del tono está estrechamente relacionado con el también elevado porcentaje de rojo, visible en la Figura 16, para esta muestra.

4.3.5.4. Porcentajes de Amarillo, Rojo y Azul

En los vinos, son los componentes polifenólicos, las principales sustancias que absorben las radiaciones y por lo tanto son las responsables de los colores que reflejan (Íñiguez, Ortega, Rosales, Ayala & Puras, 1995). En la Figura 17 se pueden identificar los diferentes porcentajes de pigmentos amarillos, rojos y azules presentes en las muestras de vino sometidas a dos condiciones de almacenamiento.

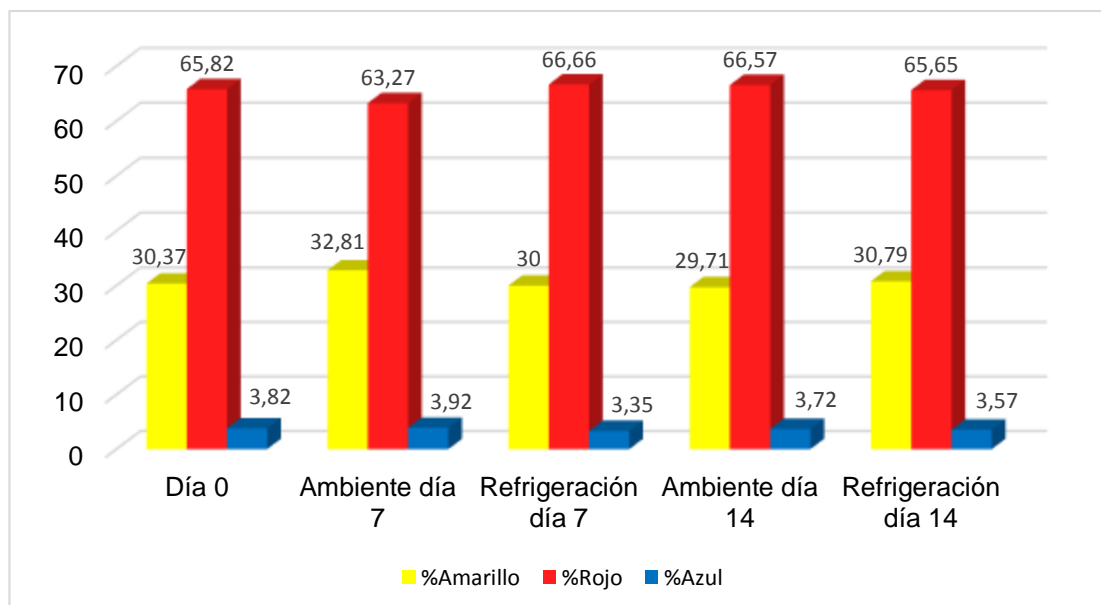


Figura 17. Comportamiento de la cantidad de pigmentos en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

Todos los vinos coinciden con un porcentaje elevado de color rojo de alrededor del 65 %, de acuerdo con Da-Costa et al. (2014), la flor de jamaica es rica en antocianinas principalmente en delphinidina-3-sambubiosido, delphinidina-3-glucósido y cianidina-3-glucósido, que corresponden a cationes flavilios y a un valor de pH entre 1 y 3, son responsables de reflejar el color rojo.

En la Figura 17 también se puede observar que todos los vinos en estudio, tienen un contenido de alrededor de 30 % de amarillo, concordante a lo descrito por Galicia et al. (2008), quienes reportan que la flor de jamaica es rica en compuestos fenólicos como Quercetina, Quercetina-3-glucósido, Quercetina-3-rutinosa y Kaempferol, y que de acuerdo a Jackson (2011), son responsables de reflejar el color amarillo.

Además se observa, que todas las muestras tienen muy inferior a los colores anteriores de cerca de 4 % de azul; según Yang, Koo, Song & Chun (2011), ciertas antocianinas del grupo quinonoides presentes en la flor de jamaica son las responsables de reflejar el color azul.

Las variaciones significativas ($p < 0.05$) respecto a los porcentajes de colores amarillo, rojo y azul en las muestras de vino sometidas a diferentes condiciones de almacenamiento durante 14 días, es acorde a lo descrito por Jackson (2011) quien en su estudio de color en vinos, asevera que cambios de color durante el almacenamiento se consideran normales y esperados, y no contribuyen a la reducción de la vida útil del producto. Reeves (2010), describe que durante el almacenamiento los complejos glicosilados formados por las antocianinas pueden romperse, quedando susceptibles a la oxidación que genera una degradación del color y que muchas otras reacciones bioquímicas sucedidas durante esta etapa, generan una gama de pigmentos que le dan características específicas a cada vino.

4.4. CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES

4.4.1. CONTENIDO DE POLIFENOLES DURANTE LA VINIFICACIÓN Y DECANTACIÓN DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA

El cálculo del contenido de polifenoles totales, se obtuvo a partir de la ecuación de la curva de calibración de ácido gálico realizada previamente al ensayo, la cual puede ser visualizada en el Anexo XIX. El estudio estadístico mediante el análisis de varianza (ANOVA) para el contenido de polifenoles de las muestras, puede ser revisado en el Anexo XXI. En la Figura 18, se puede observar que la evolución del contenido de polifenoles si fue significativa ($p < 0.05$), desde la materia prima que constituyen los cálices frescos de flor de jamaica, su posterior procesamiento durante la vinificación y finalmente durante la clarificación del vino a través de la decantación.

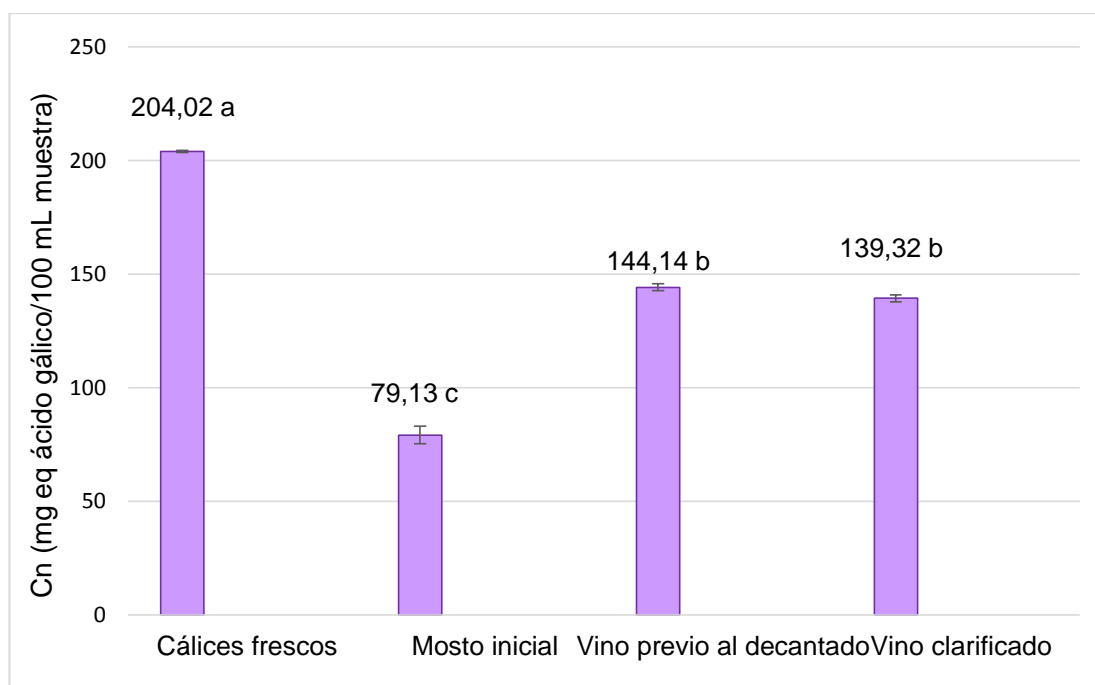


Figura 18. Comportamiento del contenido de polifenoles desde la materia prima hasta los procesos de vinificación y decantación

$n=2 \pm$ Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una ($P < 0.05$)

Para el análisis del contenido de polifenoles, se realizó un extracto con los cálices frescos de flor de jamaica mediante una solución extractora de 70 % v/v de acetona, dando un valor de 204.02 ± 0.4 mg equ. ácido gálico/100 g muestra, similar a los reportados por Zhen et al. (2016) y Sindi, Marshall & Morgan (2014) de 189.8 mg equ. ácido gálico/100 g y 216.7 mg equ. ácido gálico/100 g, respectivamente. La diferencia entre estos valores puede deberse al método de extracción utilizadas por Zhen et al. (2016) y Sindi, Marshall & Morgan (2014); quienes emplearon soluciones extractoras de metanol/agua 70 % v/v, además de la variedad de flor de jamaica utilizada en cada estudio y su grado de maduración.

Posteriormente se observa, que el mosto inicial corregido presenta un valor inferior del contenido de polifenoles de 79.13 ± 3.9 mg equ. ácido gálico/100 mL muestra, el cual es reducido en comparación al contenido de los cálices frescos, debido a que el mosto contiene 75 % de agua, por lo tanto los polifenoles provenientes de la flor de jamaica, se encuentran presentes en menor cantidad en la dilución cálices: agua de 1:3.

Después del proceso de vinificación, la cantidad de polifenoles obtenidos en el vino, es significativamente superior en comparación al mosto inicial, dando un valor de 144.14 ± 1.5 mg equ. ácido gálico/100 mL muestra.

Este aumento notorio del contenido fenólico después de la vinificación, es acorde al estudio comparativo de la composición fenólica de la uva y del vino realizado por Flanzy (2003), y a lo enunciado por Hidalgo (2011) en sus estudios sobre fermentación en vinos, quienes describen que durante la etapa fermentativa se generan otros compuestos fenólicos, resultantes de la evolución de los polifenoles nativos de la materia prima utilizada para la elaboración del vino.

Finalmente, se obtuvo un vino clarificado mediante decantación con un contenido ligeramente menor, pero sin diferencia significativa, en comparación al vino previo a la decantación, dando un valor de 139.32 ± 1.6 mg equ. ácido gálico/100 mL muestra.

Este ligero descenso en el contenido de polifenoles es normal de acuerdo con lo descrito por Blouin & Peynaud (2006), debido a que durante el proceso de decantación, los taninos y otros polifenoles polimerizados tienden a sedimentarse, disminuyendo su concentración. Blouin & Peynaud (2006), enuncian que la cantidad de taninos eliminados durante la clarificación es escasa pero puede ser variable en concentraciones desde 50 a 300 mg/L.

4.4.2. ESTUDIO DE ESTABILIDAD DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA

Como se indica en la Figura 19 el efecto del almacenamiento del vino de flor de jamaica bajo dos condiciones de temperatura durante el transcurso de 14 días, no fue significativo ($p > 0.05$) respecto al contenido de polifenoles en las muestras.

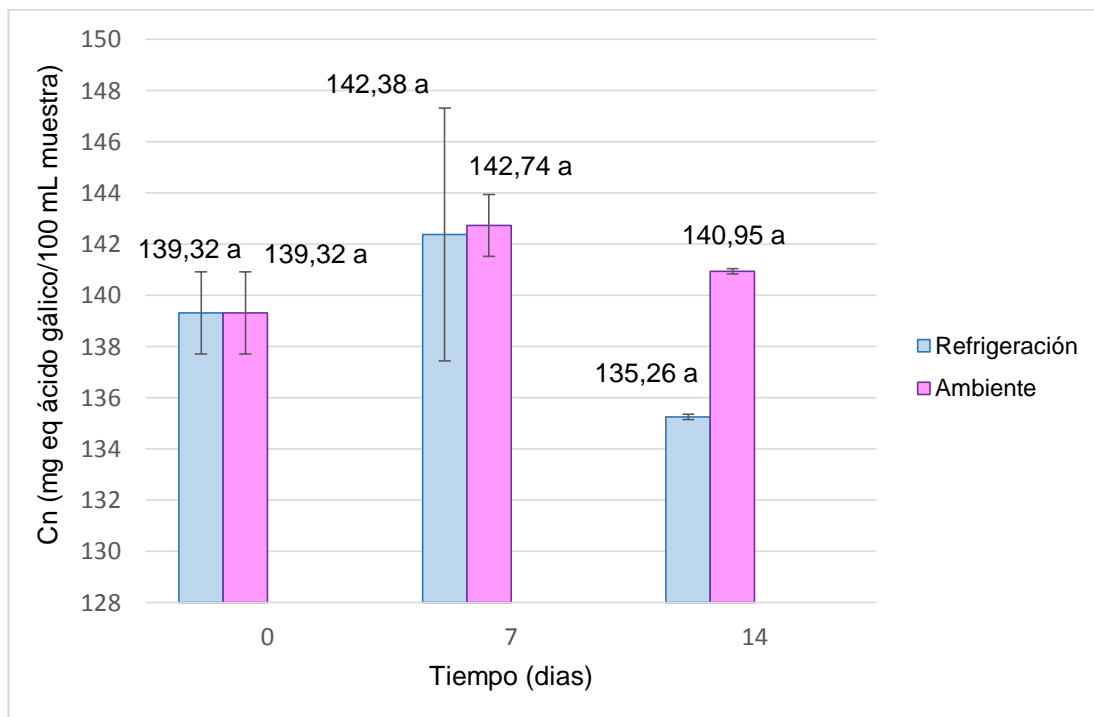


Figura 19. Comportamiento del contenido de polifenoles en los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

n=2 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

Al iniciar el proceso de almacenamiento en el día 0, el contenido de polifenoles totales fue de 139.32 ± 1.6 mg equ. ácido gálico/100 mL muestra, y no presentó diferencias significativas, respecto a los valores obtenidos durante el transcurso de los 14 días de estudio bajo dos condiciones de temperatura; por lo que se observa que la cantidad de compuestos fenólicos presentes en las muestras de vino, permanecieron estables a pesar del transcurso del tiempo y de las temperaturas de almacenamiento.

Sáyago & Goñi (2010); Da-Costa et al. (2014); Chen et al. (2013) y Zhen et al. (2016), afirman que la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L) tiene un importante contenido fenólico, entre el cual se identifican principalmente flavonoides y antocianinas, responsables del color tinto del vino. La notable estabilidad registrada en el presente estudio, se encuentra acorde con Jackson (2011) y Reeves (2010), quienes describen que durante el

almacenamiento del vino, suceden reacciones oxidativas entre ciertos compuestos fenólicos como flavonoides, catequinas, y otros constituyentes del vino como el acetaldehído producido durante la fermentación; que favorecen a la polimerización entre flavonoides, flavonoles y antocianinas, generando su aparente estabilidad en el transcurso del tiempo.

Blouin & Peynaud (2006) y Bujan (2003), acentúan de la importancia del sulfitado en los vinos previos al embotellamiento, puesto a que las dosis entre 20-35 ppm de SO₂ aseguran una excelente destrucción de microorganismos y permite una estabilización del contenido fenólico durante el almacenamiento, motivo por el cual también se explica la estabilidad del contenido de compuestos fenólicos presentes en los vinos sometidos a dos condiciones de almacenamiento durante el transcurso de 14 días.

A pesar, de no existir una diferencia significativa entre las dos temperaturas ni el tiempo de almacenamiento, se observa que las muestras sometidas a refrigeración tienen un contenido fenólico ligeramente menor en comparación a las muestras sometidas a temperatura ambiente, lo que se explica debido a que de acuerdo con Blouin & Peynaud (2006) y Jackson (2011), el vino durante el almacenamiento se encuentra decantándose constantemente, y la temperatura de refrigeración favorece a la sedimentación de las moléculas grandes polimerizadas de taninos.

Avalos, Sgroppo & Avanza (2003), en su estudio de contenido de polifenoles totales en vinos de uva argentinos con distintos tiempos de envejecimiento, reportan valores promedio de 180.33 mg equ. ácido gálico/100 mL en vinos tintos; 57.41 mg equ. ácido gálico/100 mL en vinos rosados y 31.80 mg equ. ácido gálico/100 mL en vinos blancos. Camussoni & Carnevali (2004), reportan valores de 190.4 mg equ. ácido gálico/100 mL en vinos tintos argentinos. De acuerdo con estas comparaciones, se puede determinar que los vinos de flor de jamaica sometidos al estudio de estabilidad durante el

almacenamiento bajo dos condiciones de temperatura tienen, en general tienen un contenido fenólico inferior a los vinos tintos de uva, lo cual se encuentra acorde a la investigación realizada por Barhé & Tchouya (2016), en la que describe que el contenido fenólico del vino tinto de uva, es superior al de los extractos de flor de jamaica. Por otro lado el contenido fenólico de los vinos de flor de jamaica es notablemente superior al de los vinos rosados y blancos.

4.5. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

4.5.1. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DURANTE LA VINIFICACIÓN Y DECANTACIÓN DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA

El cálculo de la capacidad antioxidante, se obtuvo a partir de la ecuación de la curva de calibración de Trolox, realizada previamente al ensayo, la cual puede ser visualizada en el Anexo XXII. El estudio estadístico mediante el análisis de varianza (ANOVA) para la capacidad antioxidante de las muestras, puede ser revisado en el Anexo XXIV. En la Figura 20, se puede observar que la evolución de la capacidad antioxidante si fue significativa ($p < 0.05$), desde la materia prima que constituyen los cálices frescos de flor de jamaica, su posterior procesamiento durante la vinificación y finalmente durante la clarificación del vino a través de la decantación.

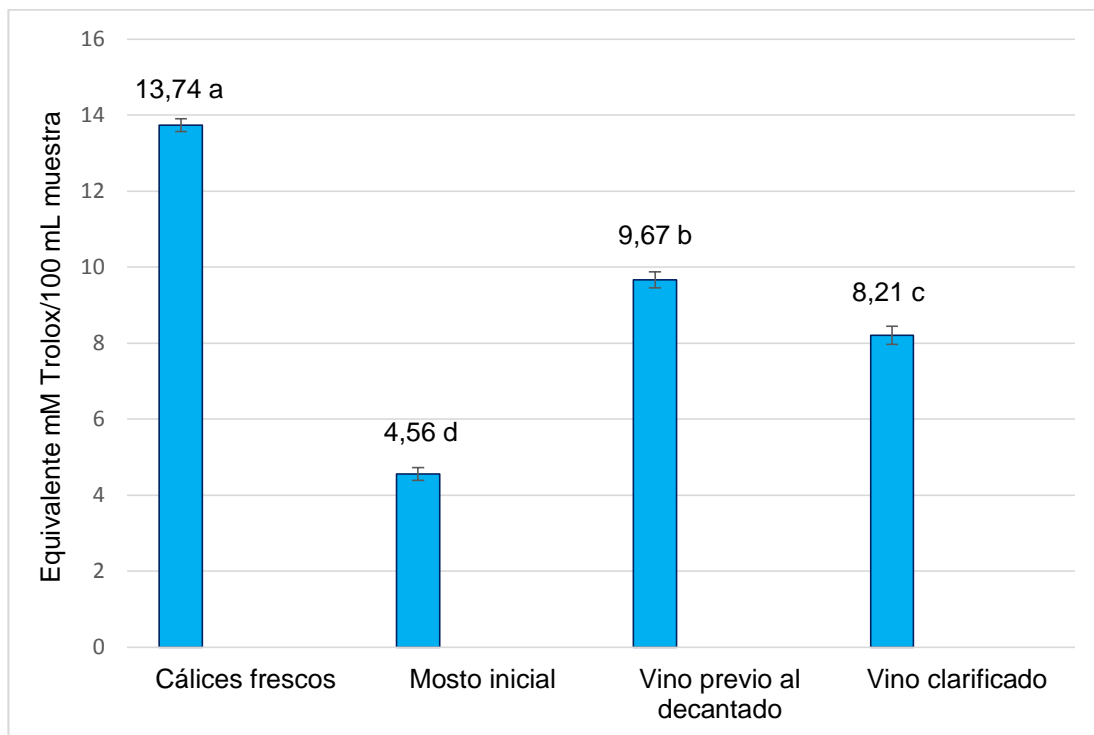


Figura 20. Comportamiento de la capacidad antioxidante desde la materia prima hasta los procesos de vinificación y decantación

n=2 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

Para el análisis de la capacidad antioxidante, se realizó un extracto con los cálices frescos de flor de jamaica con una solución extractora de 70 % v/v de acetona, la cual mediante la medición de TEAC dio un valor de 13.74 ± 0.1 Equiv mM Trolox/100 g muestra, similar al reportado por Zhen et al. (2016) de 15.25 Equiv mM Trolox/100 g, y superior al reportado por Sáyago & Goñi (2010) de 9.08 Equiv mM Trolox/100 g. La diferencia entre estos valores puede deberse al método de extracción, puesto a que de acuerdo con Kuskoski et al. (2005), la actividad antioxidante es dependiente de la concentración del extracto, y las mejores respuestas obtenidas, dependen de los disolventes aplicados.

Posteriormente se observa, que el mosto inicial corregido presenta un valor inferior de la capacidad antioxidante de 4.56 ± 0.1 Equiv mM Trolox /100 mL muestra, la cual es reducida en comparación a la capacidad antioxidante de

los cálices. Vinson & Hontz (1995), en su estudio de comparación de actividad antioxidante en vinos tintos y blancos determinaron que existe una correlación directa entre los polifenoles totales y la actividad antioxidante; este es el motivo por el cual se explica que, el mosto inicial al contener una cantidad de polifenoles totales baja (Figura 18), también tuvo una capacidad antioxidante baja, puesto a que de acuerdo con Avalos, Sgroppo & Avanza (2003), existe una relación lineal entre los polifenoles totales y el valor de la capacidad de captar radicales libres, o actividad antioxidante.

Después del proceso de vinificación, la capacidad antioxidante, es significativamente superior en comparación al mosto inicial, dando un valor de 9.67 ± 0.2 Equiv mM Trolox/100 mL muestra. Este aumento notorio de la actividad antioxidante va relacionado con el aumento del contenido fenólico después de la fermentación, acorde a lo mencionado por Flanzky (2003) e Hidalgo (2011).

Finalmente, se obtuvo un vino clarificado mediante decantación con una capacidad antioxidante significativamente menor, en comparación al vino previo a la decantación, dando un valor de 8.21 ± 0.2 Equiv mM Trolox/100 mL muestra. Este descenso en la actividad antioxidante es normal de acuerdo con Blouin & Peynaud (2006), debido a la decantación de los taninos y otros polifenoles polimerizados y a la ligera disminución en su concentración y actividad antioxidante.

Por otro lado Kuskoski et al. (2005), mencionan que la capacidad antioxidante de una mezcla depende del microambiente en que se encuentran los polifenoles, puesto a que interactúan entre sí, pudiendo producirse efectos sinérgicos o inhibitorios, y es probable que durante el proceso de sedimentación en frío, los polifenoles hayan interactuado entre sí, inhibiendo su ligeramente su actividad.

4.5.2. ESTUDIO DE ESTABILIDAD DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DURANTE EL ALMACENAMIENTO DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA

Como se indica en la Figura 21, el efecto del almacenamiento del vino de flor de jamaica bajo dos condiciones de temperatura durante el transcurso de 14 días, no fue significativo ($p > 0.05$) respecto a la capacidad antioxidante de las muestras. El análisis estadístico realizado mediante el cálculo de la ANOVA, puede ser revisado en el Anexo XXIV.

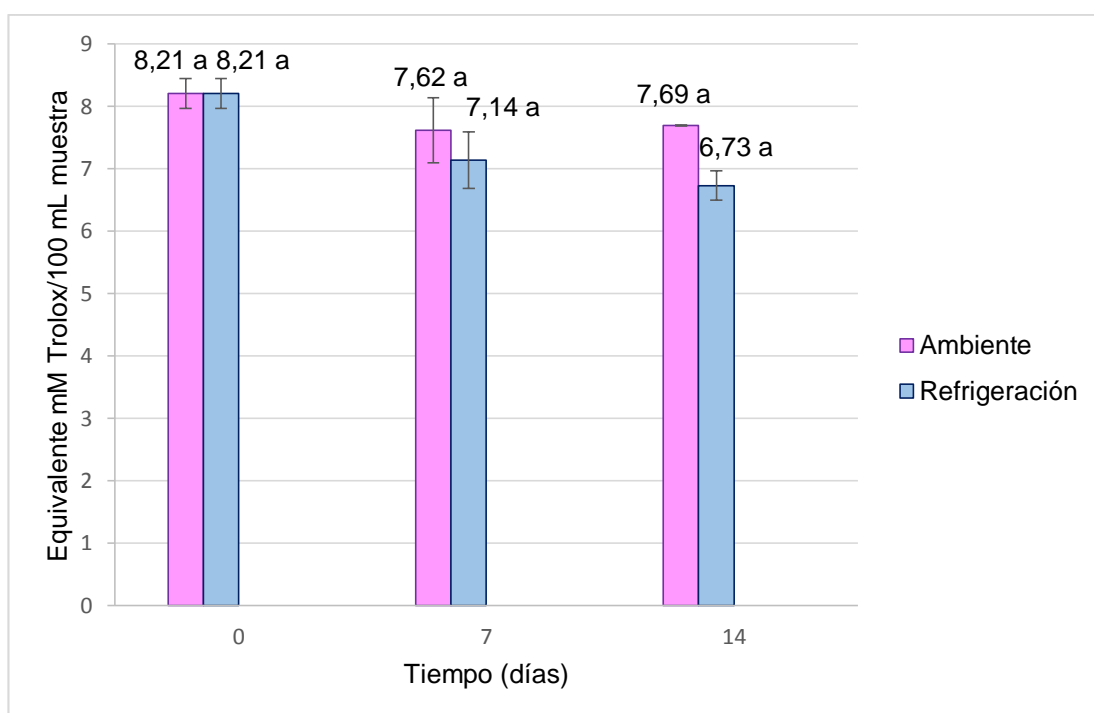


Figura 21. Comportamiento de la capacidad antioxidante de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

$n=2 \pm$ Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una ($P < 0.05$)

Al iniciar el proceso de almacenamiento en el día 0, la capacidad antioxidante fue de 8.21 ± 0.2 Equiv mM Trolox/100 mL muestra, y no presentó diferencias significativas, respecto a los valores obtenidos durante el transcurso de los 14 días de estudio bajo dos condiciones de temperatura; por lo que se observa

que la capacidad antioxidante de las muestras de vino, permaneció estable a pesar del transcurso del tiempo y de las temperaturas de almacenamiento, al igual que el contenido fenólico; lo cual se explica por la correlación directa que existe entre el contenido de polifenoles totales y la capacidad de éstos de captar radicales libres, o su actividad antioxidante (Avalos, Sgroppo & Avanza, 2003). Al existir una notable estabilidad del contenido fenólico, es entendible que exista también una estabilidad durante el tiempo, en la capacidad antioxidante.

Se indica que a pesar de no existir una diferencias significativas entre las muestras ni el tiempo, si existe una diferencia significativa entre las temperaturas de almacenamiento ($p < 0.05$), es por ello que las muestras sometidas a refrigeración tienen una capacidad antioxidante ligeramente menor en comparación a las muestras sometidas a temperatura ambiente, lo que se explica debido a que el fenómeno de sedimentación de los taninos sucede más rápido a temperaturas de refrigeración, disminuyendo su concentración y su actividad antioxidante (Blouin & Peynaud, 2006).

Por otro lado se observa que este mismo comportamiento de una ligera reducción de la actividad antioxidante, también se presentó posteriormente a la decantación en frío, por lo que existe la posibilidad de que los polifenoles hayan interactuado entre sí, inhibiendo su actividad por el efecto de la baja temperatura (Kuskoski et al., 2005).

En la Figura 22, se puede observar que el porcentaje de inhibición de los antioxidantes contenidos en los vinos de flor de jamaica sometidos a dos condiciones de almacenamiento durante 14 días, no tiene diferencia significativa respecto a las muestras.

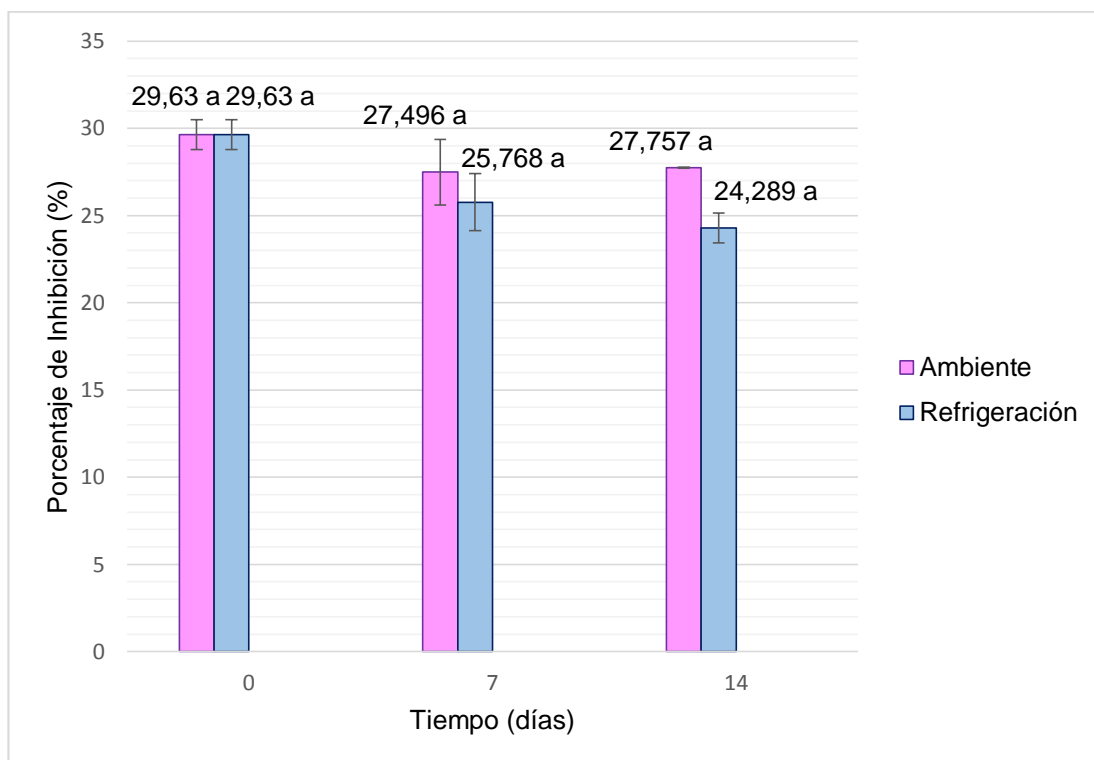


Figura 22. Comportamiento del porcentaje de inhibición del radical ABTS●+ de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

n=2 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

Muñoz, Fernández, Ramos & Alvarado (2007), en su estudio de evaluación de la actividad antioxidante en vinos de uva sometidos a distintos tiempos de envejecimiento, reportan valores promedio de 2.44 Equiv mM Trolox/100 mL y un porcentaje de inhibición de 10.59 % para el vino Oporto; 4.13 Equiv mM Trolox/100 mL y un porcentaje de inhibición de 19 % para el vino Cepa de Viñedo de Mendoza; 6.72 Equiv mM Trolox/100 mL y un porcentaje de inhibición de 31.89 % para el vino Borgoña; 9.37 Equiv mM Trolox/100 mL y un porcentaje de inhibición de 45.04 % para el vino Barbera Malbec; 15.93 Equiv mM Trolox/100 mL y un porcentaje de inhibición de 77.71 % para el vino Cabernet-Sauvignon; 16.45 Equiv mM Trolox/100 mL y un porcentaje de inhibición de 80.28 % para el vino Merlot.

De acuerdo con estas comparaciones, se puede determinar que los vinos de flor de jamaica sometidos al estudio de estabilidad durante el almacenamiento bajo dos condiciones de temperatura tienen, en general una capacidad antioxidante y un porcentaje de inhibición de radicales libres intermedios, en comparación a los vinos de uva.

En el análisis estadístico realizado para la determinación el porcentaje de inhibición del radical ABTS●+ que puede ser visualizado en el Anexo XXIV, se indica que a pesar de no existir una diferencias significativas entre las muestras ni el tiempo, si existe una diferencia significativa entre las temperaturas de almacenamiento ($p < 0.05$), es por ello que las muestras sometidas a refrigeración tienen un porcentaje de inhibición ligeramente menor en comparación a las muestras sometidas a temperatura ambiente, lo que se explica debido a que el porcentaje de inhibición está estrechamente relacionado a la disminución de la capacidad antioxidante en las muestras.

4.6. ANÁLISIS SENSORIAL DE ACEPTABILIDAD GLOBAL DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA

El análisis sensorial de aceptabilidad global realizado con una población de 200 panelistas no entrenados, se llevó a cabo en la Planta Piloto de Alimentos de la UTE, y permitió obtener resultados de los principales parámetros de estudios sensoriales como la apariencia, color, olor, sabor y un criterio de aceptabilidad global en general, que los consumidores emitieron respecto a las tres muestras de vino de flor de jamaica que se les entregó. En el Anexo XXV se pueden visualizar los análisis estadísticos realizados con los datos obtenidos en el estudio sensorial del vino.

4.6.1. APARIENCIA

Como se indica en la Figura 23, el efecto del almacenamiento del vino de flor de jamaica bajo dos condiciones de temperatura durante el transcurso de 14 días, no fue significativo ($p>0.05$) respecto a la apariencia de las muestras.

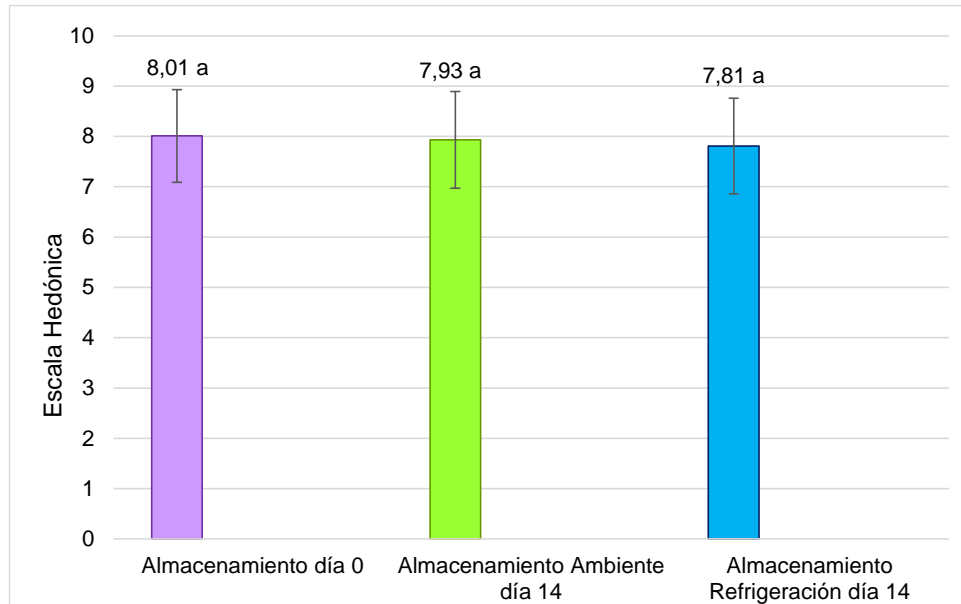


Figura 23. Análisis sensorial de Apariencia de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

n=200 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una ($P<0.05$)

4.6.2. COLOR

En la Figura 24 se observa que tampoco existen diferencias significativas respecto al color de las muestras ($p>0.05$).

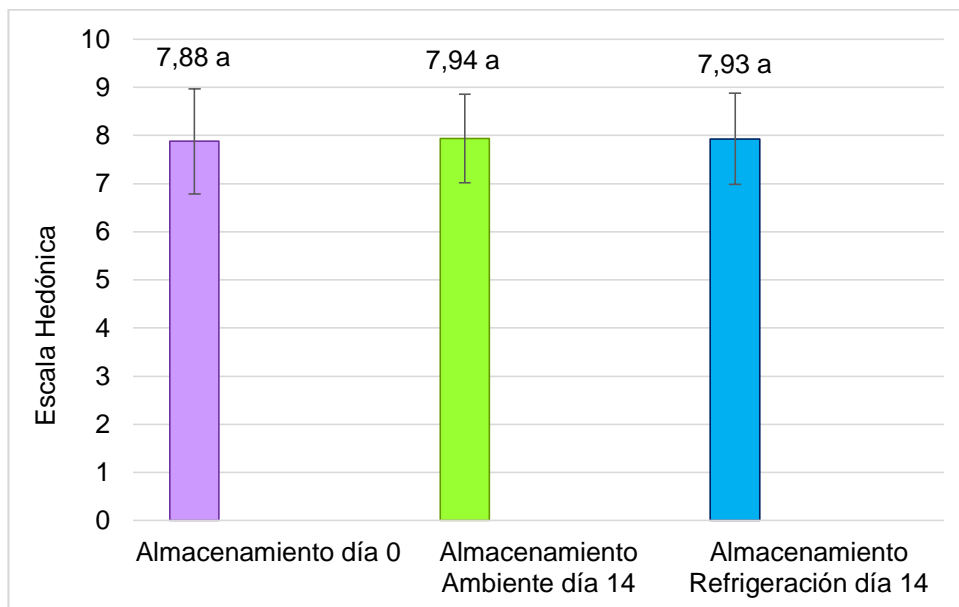


Figura 24. Análisis sensorial de Color de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

n=200 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

De acuerdo a Kilcast & Subramaniam (2000), los cambios de apariencia general en el almacenamiento se pueden rastrear fácilmente, y son claramente identificables mediante una interpretación precisa de los cambios de color del vino. Zhen et al. (2016), afirma que la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L*) tiene un importante contenido fenólico, entre el cual se identifican principalmente flavonoides y antocianinas, responsables del color tinto del vino, por lo tanto al encontrarse estable el contenido de compuestos fenólicos, también se estabilizarán los posibles cambios de color y la apariencia del vino.

4.6.3. OLOR

En la Figura 25, se indica que el efecto del almacenamiento del vino de flor de jamaica bajo dos condiciones de temperatura durante el transcurso de 14 días, si fue significativo (p<0.05) respecto al olor de las muestras.

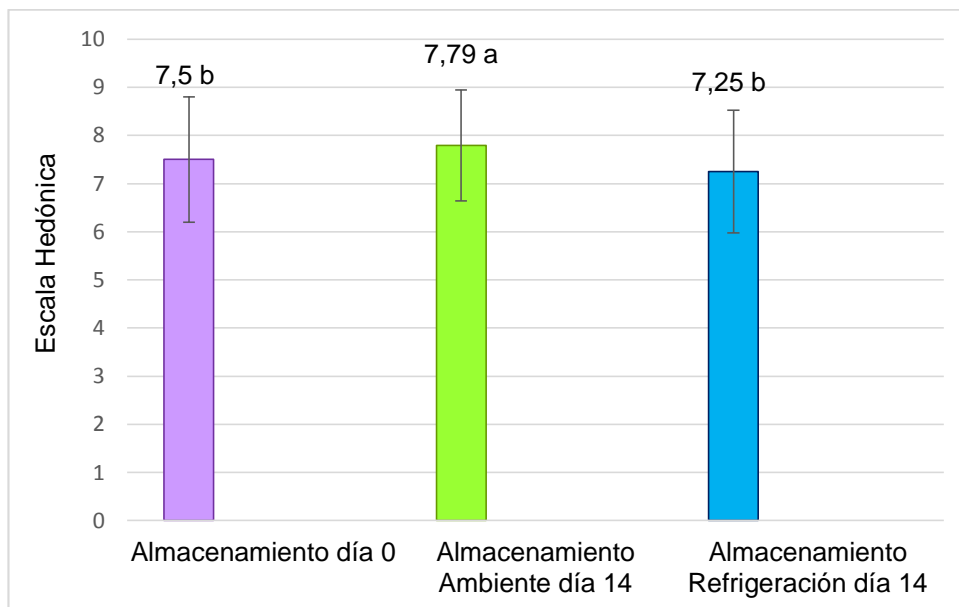


Figura 25. Análisis sensorial de Olor de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

n=200 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

En el Anexo XXV, el análisis estadístico realizado para la prueba sensorial del olor, refleja que si existe una diferencia significativa ($p < 0.05$), respecto a la temperatura de almacenamiento, dando como una mejor respuesta de los panelistas de “Muy agradable” al olor del vino almacenado al ambiente durante 14 días.

De acuerdo con Jackson (2010), la disminución de la capacidad antioxidante de las muestras sometidas a refrigeración, generó un impacto en la sensibilidad de los compuestos aromáticos del vino a la oxidación y por ende, un deterioro en el umbral sensorial aromático. Los vinos con una disminuida capacidad antioxidante adquieren un olor a oxidado, debido a la generación del acetaldehído como subproducto indirecto de la oxidación de los compuestos fenólicos. Las modificaciones más significativas que afectan la vida útil implican un deterioro aromático. La fragancia fresca y afrutada de los vinos jóvenes es atribuida a la presencia de ésteres de acetato, la concentración de estos compuestos individuales dependen de la temperatura

de almacenamiento y el pH del vino. Jackson (2011) y Reeves (2010) describen que durante el almacenamiento bajo condiciones adecuadas, empieza a desarrollarse el ramo aromático que depende de la degradación de los carotenoides, enriqueciendo las características aromáticas del vino.

4.6.4. SABOR

En la Figura 26, se indica que el efecto del almacenamiento del vino de flor de jamaica bajo dos condiciones de temperatura durante el transcurso de 14 días, si fue significativo ($p < 0.05$) respecto al sabor de las muestras.

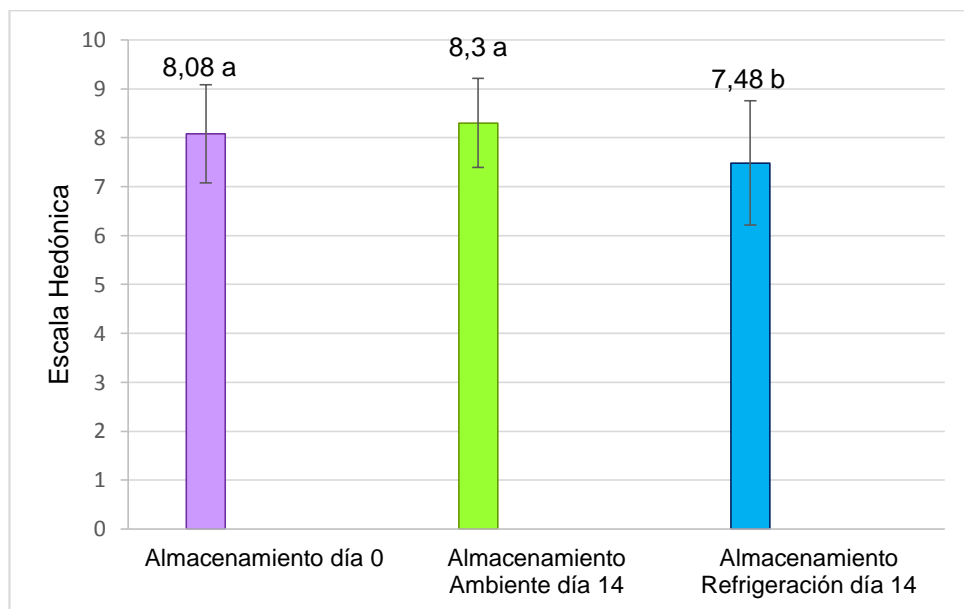


Figura 26. Análisis sensorial de Sabor de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

n=200 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una ($P < 0.05$)

En el Anexo XXV, el análisis estadístico realizado para la prueba sensorial del sabor, refleja que si existe una diferencia significativa ($p < 0.05$), respecto a la temperatura de almacenamiento, dando como una mejor respuesta de los

panelistas de “Muy agradable” al sabor del vino almacenado al ambiente durante 14 días.

De acuerdo con Jackson (2010), uno de los beneficios típicos derivados del almacenamiento del vino es la reducción de la amargura, la astringencia y la acidez, y es atribuido generalmente a la polimerización y precipitación de los flavonoides. Aparte de la importancia gustativa de la polimerización fenólica, puede también notarse una pérdida ligera de la dulzura producido por la hidrólisis de los ésteres de acetato. La fragancia frutal del vino mejora y evoluciona durante el almacenamiento, e induce a la percepción de una gama de sabores agradables que favorecen al mantenimiento de la vida útil del vino.

4.6.5. ACEPTABILIDAD GLOBAL

Finalmente en la Figura 27, se indica que el efecto del almacenamiento del vino de flor de jamaica bajo dos condiciones de temperatura durante el transcurso de 14 días, si fue significativo ($p < 0.05$) respecto a la aceptabilidad de las muestras.

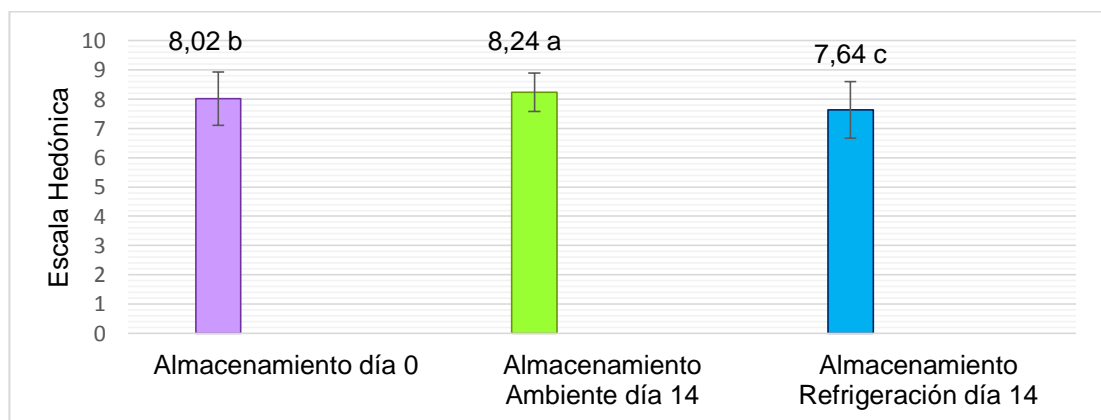


Figura 27. Análisis sensorial de Aceptabilidad Global de los vinos almacenados bajo dos condiciones de temperatura durante 14 días

n=200 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una ($P < 0.05$)

En el Anexo XXV, el análisis estadístico realizado para la prueba sensorial de aceptabilidad global, refleja que si existe una diferencia significativa ($p < 0.05$), respecto a la temperatura de almacenamiento, dando como una mejor respuesta de los panelistas de “Muy agradable” respecto a la aceptabilidad global del vino almacenado al ambiente durante 14 días. Lo que se explica a manera general, debido a las respuestas positivas de los panelistas a los atributos sensoriales como el olor y sabor respecto a este vino.

4.7. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA

En la Tabla 14 se pueden observar los resultados obtenidos de los análisis físico-químicos del vino de flor de jamaica que presentó la mayor capacidad antioxidante, que corresponde al Anexo X.

Tabla 14. Análisis físico-químicos del vino de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa L.*) que presentó la mayor capacidad antioxidante

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO		
PARÁMETROS	RESULTADOS	MÉTODO DE REFERENCIA
Grado alcohólico (°GL)	6 °GL	INEN 340
Metanol	14.88 mg/L	INEN 347
Anhídrido sulfuroso libre	0.09 g/L	INEN 357
Anhídrido sulfuroso total	0.13 g/L	INEN 356

Como se puede apreciar en la Tabla 14, el valor del grado alcohólico del vino de flor de jamaica es de 6 °GL y se encuentra dentro de los límites permitidos por la norma INEN NTE 374 para vinos de frutas, que determina valores entre 5 y 18 °GL de acuerdo al método de ensayo INEN 340.

El valor del metanol es de 14.88 mg/L y se encuentra dentro de los límites permitidos por la norma INEN NTE para vinos de frutas, que determina valores entre trazas mínimas y hasta 158 mg/L como límite máximo.

El contenido de anhídrido sulfuroso total de 0.13 g/L también se encuentra dentro de los límites permitidos por la norma INEN NTE 374, que determina valores entre 0 y 0.32 g/L respecto a este parámetro. Sin embargo el valor del anhídrido sulfuroso libre, se encuentra fuera del límite permitido por la norma INEN NTE 374, que determina un rango entre 0 y 0.04 g/L, lo cual puede ser corregido de acuerdo a Reeves (2010), mediante la adición de un oxidante fuerte al vino como el peróxido de hidrógeno en mínimas cantidades.

Por otro lado Jackson (2011) asegura que el contenido de anhídrido sulfuroso libre se consume durante el almacenamiento del vino debido a la progresiva y lenta oxidación, por lo que su concentración se verá reducida a través del paso del tiempo.

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

Técnicamente, es favorable la utilización de cálices de flor de jamaica ecuatorianos para la elaboración de mostos para vinos, puesto a que tienen un contenido más elevado de sólidos solubles totales y cumplen con las características físico-químicas establecidas por la norma mexicana Norma Mexicana NMX-FF-115-SCFI-2010.

Los análisis microbiológicos de la flor de jamaica reflejaron que los recuentos de Coliformes totales, mohos y levaduras se encontraron fuera de los límites establecidos por la Norma Mexicana NMX-FF-115-SCFI-2010.

El desarrollo de la fermentación del vino de flor de jamaica tuvo un tiempo promedio largo, lo cual se debió a la baja temperatura, al pH bajo y a la falta de adición de nutrientes como fosfato de diamonio y sulfato de amonio, factores que hicieron que el proceso transcurriera lentamente.

El proceso de clarificación mediante decantación natural tuvo mejores resultados al ser realizado bajo condiciones de refrigeración. El valor de turbidez obtenido finalmente, se considera aceptable para un vino que no fue sometido a la adición de aditivos clarificantes.

El pH bajo y la acidez titulable alta del vino son características favorables que permiten el mantenimiento de la vida útil, influyen favorablemente en la impresión del color y en la aceptabilidad sensorial del producto.

Los sólidos solubles presentes en el vino, el nivel bajo de pH y la acidez titulable elevada se mantuvieron estables tanto en la condición de refrigeración, como en la condición a temperatura ambiente durante los 14 días de almacenamiento.

Respecto a la turbidez del vino, si se encontraron diferencias significativas entre las dos condiciones de almacenamiento, siendo las muestras de vino sometidas a refrigeración durante 14 días, las que presentaron una velocidad de decantación más alta que las muestras sometidas al ambiente.

Todas las muestras sometidas a dos condiciones de almacenamiento durante 14 días, presentaron sus niveles más altos de absorbancias en un rango representativo de los pigmentos que reflejan el color rojo, los cuales corresponden a una alta concentración de antocianinas, además tienen un porcentaje considerable de amarillo, el cual es generado por polifenoles específicos que reflejan este color.

Las muestras sometidas a refrigeración tuvieron valores más elevados de intensidad colorante y de tono que las muestras sometidas al ambiente durante 14 días.

El contenido de polifenoles totales se mantuvo estable, y sin presentar diferencias significativas tanto para las muestras de vino sometidas a refrigeración, como para las muestras sometidas a temperatura ambiente durante 14 días de almacenamiento, lo que es adecuado y favorable para el mantenimiento de la vida útil del vino, ya que el contenido de polifenoles está directa y linealmente relacionado con la capacidad antioxidante.

La capacidad antioxidante se mantuvo estable durante el tiempo de almacenamiento, pero si se presentaron diferencias entre las dos condiciones de estudio, siendo las muestras sometidas a temperatura ambiente las que mostraron valores mayores de capacidad antioxidante, por lo tanto su capacidad de inhibición de los radicales libres es mayor y la probabilidad de oxidación de los compuestos fenólicos presentes en el vino se ve reducida en condiciones ambientales. Por lo tanto se concluye que la condición más

adecuada para almacenar al vino de flor de jamaica es a temperatura ambiente.

El análisis sensorial de aceptabilidad global presentó las mejores respuestas de “Muy agradable” para el vino almacenado bajo condiciones ambientales durante 14 días, por lo que se concluye que la condición de almacenamiento al ambiente contribuye positivamente en el desarrollo de los atributos sensoriales gustativos y aromáticos del vino de flor de jamaica.

El consumo limitado de sólidos solubles durante la fermentación influyó en la obtención de un bajo grado alcohólico, sin embargo este valor se encuentra dentro del límite establecido por la norma INEN NTE 374.

El contenido de metanol y de anhídrido sulfuroso total se encontraron dentro de los límites establecidos por la norma INEN NTE 374, por lo que se concluye que el vino de flor de jamaica es apto para el consumo humano.

5.2. RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar una investigación que permita la disminución del tiempo de fermentación del vino de flor de jamaica, a través del estudio de la adición de nutrientes como el fosfato de diamonio o sulfato de amonio y el control de una temperatura más elevada.

Realizar una investigación sobre la utilización de los residuos de cálices de flor de jamaica fermentados, para optimizar el rendimiento del proceso de vinificación.

Estudiar la estabilidad del contenido de polifenoles y de la capacidad antioxidante del vino de flor de jamaica clarificado a través de tecnología de membranas, durante el almacenamiento.

Realizar un estudio sobre el efecto de aditivos como la bentonita sódica, en la clarificación del vino de flor de jamaica.

Hacer una investigación acerca del estudio de color del vino de flor de jamaica mediante el método CIE L*a*b* y compararlo con el método de Glories.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- AENOR. (09 de Abril de 2014). *Análisis sensorial. Metodología. Método de investigación de la sensibilidad gustativa*. Norma UNE-ISO 3972:2013. Recuperado el 19 de Diciembre de 2016, de <http://www.aenor.es/aenor/normas/normas/fichanorma.asp?tipo=N&codigo=N0050600#.WHEkn1PhDIU>
- Agudo, L. (2010). *Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos*. Revista de la Educación en Extremadura, 27-34. Recuperado el 18 de Diciembre de 2016, de http://www.anpebadajoz.es/autodidacta/autodidacta_archivos/numero_9_archivos/l_a_medina.pdf
- Alvarenga, Y. C. (2004). *Funcionalidad de tres agentes clarificantes en los vinos de flor de rosa de jamaica (Hibiscus sabdariffa L) y naranja (Citrus sinensis)*. Tesis inédita de pregrado. Universidad Zamorano. Honduras. Recuperado el 10 de Diciembre de 2016, de <https://bdigital.zamorano.edu/handle/11036/1968>
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis: Acidity (titratable) of wine*. Recuperado el 04 de Diciembre de 2016, de <http://www.eoma.aoac.org/methods/info.asp?ID=29456>
- AOAC. (2005). *Official Methods of Analysis: Solids (soluble) in fruits and fruits products Method 932.12*. Recuperado el 03 de Diciembre de 2016, de <http://www.eoma.aoac.org/methods/info.asp?ID=15125>
- AOAC. (2012). *Official Methods of Analysis: pH of wine Method 960.19*. Recuperado el 04 de Diciembre de 2016, de http://www.aoacofficialmethod.org/index.php?main_page=product_info&cPath=1&products_id=557
- Avalos, K., Sgroppo, S., & Avanza, J. (2003). *Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales en vinos de origen nacional*. Facena, 19,

11-19. Recuperado el 17 de Diciembre de 2016, de <http://exa.unne.edu.ar/revisfacena/19/11-19.pdf>

Barhé, A., & Tchouya, F. G. (2016). *Comparative study of the anti-oxidant activity of the total polyphenols extracted from Hibiscus Sabdariffa L., Glycine max L. Merr., yellow tea and red wine through reaction with DPPH free radicals*. Arabian Journal of Chemistry, 9, 1-8. Recuperado el 28 de Agosto de 2016, de <http://dx.doi.org/10.1016/j.arabjc.2014.11.048>

Blouin, J., & Peynaud, É. (2006). *Enología práctica: conocimiento y elaboración de vino* (Cuarta ed.). Barcelona: Mundi-Prensa. Recuperado el 25 de Octubre de 2016

Bujan, J. (2003). *Guía de la Nueva Cultura del Vino: Introducción y práctica* (Primera ed.). Barcelona: Freixenet. Recuperado el 16 de Octubre de 2016

Camussoni, G., & Carnevali, E. (Noviembre de 2004). *Determinación comparativa del contenido de polifenoles en vinos tintos de origen argentino*. INVENIO, 151-159. Recuperado el 26 de Noviembre de 2016, de <https://dialnet.unirioja.es/descarga/articulo/3350830.pdf>

Cárdenas, 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 Ortiz*. (Tesis inédita de pregrado). Universidad Central del Ecuador. Quito. Recuperado el 26 de Agosto de 2016, de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/4542>

Casp, A., & Abril, J. (2003). *Proceso de conservación de alimentos* (Segunda ed.). Madrid: Mundi-Prensa. Recuperado el 24 de Noviembre de 2016

Chavarría, P. (Enero de 2012). *Guía: Flor de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) e (Hibiscus cruento Bertol)*. Asociación para el Desarrollo Eco-Sostenible ADEES. Recuperado el 05 de Septiembre de 2016, de <http://www.adeesnic.org/wp-content/uploads/2012/02/Gu%C3%ADa-Flor-de-Jamaica.pdf>

- Chen, J. H., Wang, C. J., Wang, C. P., Sheu, J. Y., Lin, C. L., & Lin, H. H. (2013). *Hibiscus sabdariffa* leaf polyphenolic extract inhibits LDL oxidation and foam cell formation involving up-regulation of LXR α /ABCA1 pathway. *Food Chemistry*(141), 397-406. Recuperado el 29 de Agosto de 2016, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23768373>
- Cid, S., & Guerrero, J. (2012). *Propiedades funcionales de la jamaica (Hibiscus sabdariffa L.)*. *Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos*, 6(2), 47-63. Recuperado el 03 de Agosto de 2016, de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Cid-Ortega-et-al-2012.pdf>
- Córdova, V. (2010). *Comparación del comportamiento fermentativo de levadura de panificación y levaduras vínicas (Uvaferm CM, Lalvin EC 118, Lalvin QA23) y sus efectos sobre la calidad de vinos de mora (Rubus glaucus Benth)*. Ambato, Tesis inédita de pregrado. Universidad Técnica de Ambato, Ecuador. Recuperado el 23 de Octubre de 2016, de <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/854/1/AL438%20Ref.%203284.pdf>
- Coronel, M. (2010). *Estandarización y optimización de procesos de Vino de Mora de Castilla (Rubus glaucus Benth)*. Universidad Tecnológica Equinoccial. Recuperado el 23 de Septiembre de 2016, de <https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwjlm8SHqKnQAhWLNiYKHVG7AHlQFggZMAA&url=http%3A%2F%2Fapp.ute.edu.ec%2FadjuntosSICYT%2F2010%2F12%2F21%2F1513%2FART%25CDCULO%2520CIENNT%25CDFICO%2520VINO%2520MORA%2520>
- Da-Costa, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (15 de Diciembre de 2014). *Hibiscus sabdariffa L. A phytochemical and pharmacological review*. *Food Chemistry*, 165, 424-443. Recuperado

el 16 de Agosto de 2016, de
<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>

Delgado, D. (Febrero de 2012). *Estudio de vida útil de néctar a base de zanahoria con naranja*. Tesis inédita de pregrado. Quito. Recuperado el 24 de Noviembre de 2016, de <http://repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/5020>

Ferreti, G., Bacchetti, T., Belleggia, A., & Neri, D. (2010). *Cherry Antioxidants: From Farm to Table*. *Molecules*, 15(10), 6993-7005. Recuperado el 01 de Septiembre de 2016, de <http://www.mdpi.com/1420-3049/15/10/6993>

Flanzy, C. (2003). *Enología: fundamentos científicos y tecnológicos*. Madrid: AMV Ediciones, Mundiprensa. Recuperado el 17 de Diciembre de 2016

Fu, Y., Lim, L., & McNicholas, P. (2009). *Changes on enological parameters of white wine packaged in bag-in-box during secondary shelf life*. *Journal Food Science*, 74(8), 608-618. Recuperado el 25 de Noviembre de 2016, de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19799657>

Galicia, L., Salinas, Y., Espinoza, B., & Sánchez, C. (02 de mayo de 2008). *Caracterización físicoquímica y actividad antioxidante de extractos de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) Nacional e importada*. Chapingo: Serie Horticultura, 14(2), 121-129. Recuperado el 29 de Agosto de 2016, de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60911556003>

García, J. (1990). *Técnicas Analíticas para vinos*. Barcelona: GAB system. Recuperado el 10 de Septiembre de 2016

Glew, R., Vanderjagt, D., Lockett, C., Grivetti, L., Smith, G., Pastuszyn, A., & Millson, M. (Septiembre de 1997). *Amino Acid, Fatty Acid, and Mineral Composition of 24 Indigenous Plants of Burkina Faso*. *Journal of Food Composition and Analysis*, 10, 205-217. Recuperado el 23 de Agosto de 2016, de <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157597905391>

- González, C. (Octubre de 2013). *Determinación de contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en el proceso de vinificación de la mora de castilla (Rubus glaucus Benth)*. (Tesis inédita de pregrado). Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito, Ecuador. Recuperado el 10 de Octubre de 2016, de <http://repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/5057>
- González, J., González, S., González, H., Rosales, T., & Del Val, R. (Diciembre de 2009). *Concentrado de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L.): Análisis físico-químico y microbiológico*. UNACAR Tecnociencia, 3(2), 40-50. Recuperado el 14 de Agosto de 2016, de http://www.academia.edu/24338865/Concentrado_de_jamaica_Hibiscus_sabdariffa_L._An%C3%A1lisis_f%C3%ADsico-qu%C3%ADmico_y_microbiol%C3%B3gico
- González, M. (2012). *Elaboración Artesanal de Vino de frutas: Una guía para fabricar vinos a la medida* (Primera ed., Vol. I). México: Kindle. Recuperado el 25 de Septiembre de 2016
- González, X. (2012). *Desarrollo de una tecnología para elaborar una bebida alcohólica a partir de la grosella blanca (Phyllanthus acidus)*. (Tesis inédita de pregrado). Universidad Técnica de Ambato. Ambato, Ecuador. Recuperado el 16 de Septiembre de 2016, de <http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3164/1/AL499.pdf>
- Goñi, I., & Sáyago, A. S. (2010). *Hibiscus sabdariffa L: Fuente de fibra antioxidante*. Archivos Latinoamericanos de Nutrición, 10(1), 79-84. Recuperado el 29 de Agosto de 2016, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222010000100012
- Hidalgo, J. (2011). *Tratado de Enología: Tomo I* (Segunda ed., Vol. I). Madrid: Ediciones Mundi-Prensa. Recuperado el 25 de Octubre de 2016
- Íñiguez, M., Ortega, A., Rosales, A., Ayala, R., & Puras, P. (1995). *Estudio del color de los vinos tintos de la D.O.C. Rioja*. Zubía Monográfico, 167-

186. Recuperado el 15 de Diciembre de 2016, de file:///C:/Users/usuario/Downloads/Dialnet-EstudioDeColorDeLosVinosTintosDeLaDOCRioja-110330.pdf

Izurieta, W., Parreño, W., Jara, H., Reyes, F., Riofrio, J., Freile, F., & Arteaga, G. (1987). *NTE INEN 0374: Bebidas alcohólicas. Vino de frutas. Requisitos*. Quito: INEN. Recuperado el 23 de Septiembre de 2016, de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0374.1987.pdf>

Jackson, R. S. (2011). *Food and beverage stability and shelf life. Shelf life of wine, 540-565*. Oxford: Woodhead Publishing. Recuperado el 25 de Noviembre de 2016

Kilcast, D., & Subramaniam, P. (2000). *The stability and shelf-life of food*. Boston: Woodhead Publishing Limited. Recuperado el 01 de Diciembre de 2016

Kuskoski, M., Asuero, A., Troncoso, A., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). *Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos*. Ciencia y Tecnología Alimentaria Campinas, 25(4), 726-732. Recuperado el 27 de Noviembre de 2016, de <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>

Larco, D. (noviembre de 2012). *Estudio de factibilidad para la creación de una microempresa de producción y comercialización de vino de frutas silvestres en la ciudad de Ibarra, Provincia de Imbabura*. (Tesis inédita de pregrado). Universidad Técnica del Norte. Ibarra, Ecuador. Recuperado el 23 de Septiembre de 2016, de <http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/1350/1/02%20ICA%20396TESIS.pdf>

Mariño, G. (Enero de 2013). *Estudio del efecto en el color del vino de mora de castilla (Rubus glaucus benth), utilizando bentonita sódica como pre-tratamiento a la microfiltración tangencial*. (Tesis inédita de pregrado). Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito, Ecuador. Recuperado el

15 de Octubre de 2016, de
<http://repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/4977>

Mármol, V. (2016). *Estudio de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en el proceso de fermentación del mosto de flor de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) utilizando cálices frescos*. Tesis inédita de pregrado. Quito. Recuperado el 02 de Diciembre de 2016, de <http://repositorio.ute.edu.ec>

Martínez, S., González, J., Culebras, J., & Tuñón, M. J. (2002). *Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes*. *Nutrición Hospitalaria*, 17, 271-278. Recuperado el 03 de Septiembre de 2016, de <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

Meza, P. (2012). *Guía: flor de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L.)*. Nicaragua: ADES. Recuperado el 09 de Agosto de 2016, de <http://www.adeesnic.org/wp-content/uploads/2012/02/Gu%C3%ADa-Flor-de-Jamaica.pdf>

Mijares, G. & Sáez, J. (2007). *El Vino: de la cepa a la copa (4ta ed.)*. Madrid: Ediciones Mundi-Prensa. Recuperado el 11 de Septiembre de 2016

Moreno, G. (2003). *Análisis de vinos, mostos y alcoholes (Primera ed.)*. Madrid: Mundi-Prensa. Recuperado el 26 de Noviembre de 2016

Morton, J. (1974). *Renewed interest in roselle (Hibiscus Sabdariffa L.) The long-forgotten "Florida Cranberry"*. *Florida State Horticultural Society*, 415-425. Recuperado el 24 de Agosto de 2016, de [http://fshs.org/proceedings-o/1974-vol-87/415-425%20\(MORTON\).pdf](http://fshs.org/proceedings-o/1974-vol-87/415-425%20(MORTON).pdf)

Mounigan, P., & Badrie, N. (2007). *Physicochemical and sensory quality of wines from red sorrel/roselle (Hibiscus sabdariffa L.) calyces: effects of pretreatments of pectolase and temperature/time*. *International Journal of Food Science and Technology*, 42, 469-475. Recuperado el 12 de Diciembre de 2016, de <file:///C:/Users/usuario/Downloads/ANALISIS%20FISICO%20QUIMICOS%20VINO%2035DIAS.pdf>

- Muñoz, A., Fernández, A., Ramos, F., & Alvarado, 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), 49-54. Recuperado el 19 de Diciembre de 2016, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2007000100004&script=sci_arttext
- Naranjo, A. A. (2013). *Evaluación de la actividad diurética y cuantificación de polifenoles de Jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) cultivada en Pomona Pastaza-Ecuador*. (Tesis inédita de pregrado). Escuela Superior Politécnica del Chimborazo. Riobamba, Ecuador. Recuperado el 13 de Agosto de 2016, de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/2693>
- NMX. (2010). *Norma Mexicana NMX-FF-115-SCFI-2010. Productos agrícolas destinados para consumo humano-Flor (cáliz) de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.)-Especificaciones y métodos de prueba, 1-21*. México. Recuperado el 02 de Diciembre de 2016, de http://vlex.com.mx/vid/destinados-humano-flor-l-especificaciones-381800082?_ga=1.23828986.1711189472.1481161900
- OIV. (2009). *Compendium of International Methods of Analysis- OIV: Wine turbidity Method OIV-MA-AS2-08*. Recuperado el 04 de Diciembre de 2016, de <http://www.oiv.int/public/medias/2476/oiv-ma-as2-08.pdf>
- OIV. (2009). *Compendium of international Methods of Analysis of spirituous beverages of vitiviniicultural origin: Measurement of colour intensity*. Recuperado el 04 de Diciembre de 2016, de <http://www.oiv.int/public/medias/2686/oiv-ma-bs-26.pdf>
- OIV. (2016). *Definición de productos específicos de la vid*. Recuperado el 08 de Septiembre de 2016, de Normas y Resoluciones: <http://www.oiv.int/public/medias/3736/definici-n-de-productos-es.pdf>
- Ortega, C., & Guerrero, J. (2012). *Propiedades funcionales de la jamaica (Hibiscus sabdariffa L.)*. Temas Selectos de Ingeniería de Alimentos, 6,

47-63. Recuperado el 18 de Agosto de 2016, de <http://web.udlap.mx/tsia/files/2013/12/TSIA-62Cid-Ortega-et-al-2012.pdf>

Ortiz, A., Pérez, J., Cuásquer, L., Briones, T., Larrea, E., Chacón, G., & Dávalos, M. (2014). *NTE INEN 1334-1 Rotulado de productos alimenticios para consumo humano. Parte 1. Requisitos*. Quito: INEN. Recuperado el 24 de Noviembre de 2016, de <http://www.normalizacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/03/1334-1-4.pdf>

Pérez, J., Neveu, V., Vos, F., & Scalbert, A. (2010). *Systematic Analysis of the Content of 502 Polyphenols in 452 Foods and Beverages: An Application of the Phenol-Explorer Database*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 4959-4969. Recuperado el 02 de Septiembre de 2016, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20302342>

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice, C. (1999). *Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay*. *Free Radical Biology and Medicine*, 26, 1231-1237. Recuperado el 05 de Diciembre de 2016, de [http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)

Reeves, M. (2010). *Food packaging and shelf life. Packaging and the shelf life of wine*, 232-246. Taylor and Francis Group. Recuperado el 25 de Noviembre de 2016, de <http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/9781420078459-c13>

RM, P. (2003). *Norma Sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano*. 1-24. Recuperado el 09 de Diciembre de 2016, de http://www.digesa.sld.pe/norma_consulta/Proy_RM615-2003.pdf

Ruiz, H. (2011). *Desarrollo de un vino de mortiño (arándano) en la corporación Grupo Salinas de Ecuador*. Pamplona, España: Universidad Pública de Navarra. Recuperado el 27 de Septiembre de 2016, de

<http://academica-e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/3447/577414.pdf?sequence=1>

- Salazar, R., Espinoza, G., Ruiz, C., Fernández, M., & Rojas, R. (2011). *Compuestos fenólicos, actividad antioxidante, contenido de resveratrol y componentes del aroma de 8 vinos peruanos*. *Revista Sociedad Química Perú*, 2(77), 135-143. Recuperado el 17 de Diciembre de 2016, de <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v77n2/a06v77n2.pdf>
- Salinas, Y., Zúñiga, A. R., Jiménez, L., & Serrano, V. (2012). *Color en cálices de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos*. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 18(3), 395-407. Recuperado el 23 de Septiembre de 2016, de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60926213012>
- Salvatierra, S. (junio de 2011). *Influencia de la proporción de fruta en el color, composición fenólica y actividad antioxidante de vinos de mora y manzana de Ecuador*. (Tesis inédita de postgrado). Universidad Pública de Navarra. Pamplona, España. Recuperado el 16 de Octubre de 2016, de <http://academica-e.unavarra.es/handle/2454/4943>
- Sáyago, S., & Goñi, I. (2010). *Hibiscus sabdariffa L: Fuente de fibra antioxidante*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 60(1), 79-84. Recuperado el 08 de Diciembre de 2016, de http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222010000100012
- Sindi, H., Marshall, L., & Morgan, M. (01 de Diciembre de 2014). *Comparative chemical and biochemical analysis of extracts of Hibiscus sabdariffa*. *Food Chemistry*, 164, 23-29. Recuperado el 02 de Septiembre de 2016, de <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.04.097>
- Speigel, A. (1992). *Shelf life testing in plastic in food package, properties design and fabrication*. New York. Recuperado el 24 de Agosto de 2016
- Usoh, I., Akpan, E., Etim, E., & Farombi, E. (2005). *Antioxidant Actions of Dried Flower Extracts of Hibiscus sabdariffa L. On Sodium Arsenite- Induced*

Oxidative Stress in Rats. Pakistan Journal of Nutrition, 4, 135-141. Recuperado el 23 de Agosto de 2016, de https://www.researchgate.net/publication/26563441_Antioxidant_Actions_of_Dried_Flower_Extracts_of_Hibiscus_sabdariffa_L_On_Sodium_Arsenite_-_Induced_Oxidative_Stress_in_Rats

Valencia, C., Arboleda, R., Burgos, L., & Mendoza, A. (1978). *INEN NTE 0348 Bebidas alcohólicas: determinación de cenizas*. Quito: INEN. Recuperado el 21 de Septiembre de 2016, de <https://law.resource.org/pub/ec/ibr/ec.nte.0348.1978.pdf>

Valencia, F. (2010). *Enología: vinos, aguardientes y licores*. Madrid: Vértice. Recuperado el 10 de Octubre de 2016

Vallecillo, M., & Gómez, E. (2004). *Cultivo de la rosa de jamaica Hibiscus sabdariffa L: perfil de proyecto*. Managua: IICA. Recuperado el 09 de Diciembre de 2016

Vallejo, R. (2011). *Estudio tecnológico para la elaboración de vino de carambola (Averrhoa carambola)*. (Tesis inédita de pregrado). Universidad Tecnológica Equinoccial. Quito, Ecuador. Recuperado el 14 de Noviembre de 2016, de <http://repositorio.ute.edu.ec/handle/123456789/4918>

Vinson, J., & Hontz, B. (1995). *Phenol Antioxidant index: Comparative Antioxidant Effectiveness of Red and White Wines*. Journal Agriculture and Food Chemistry(43), 401-403. Recuperado el 18 de Diciembre de 2016, de <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf00050a027?journalCode=jafcau>


Viteri, P. (2009). *Estudio de estabilidad de la pulpa de mora sometida a un proceso de liofilización*. Tesis inédita de pregrado. Universidad Politécnica del Litoral. Guayaquil. Recuperado el 09 de Diciembre de 2016, de <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/13705/1/D-43086.pdf>

- Yang, M., Koo, S. I., Song, W. O., & Chun, O. K. (2011). *Food Matrix Affecting Anthocyanin Bioavailability: Review*. *Current Medicinal Chemistry*, 18(2), 291-300. Obtenido de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Food%20matrix%20affecting%20anthocyanin%20bioavailability%3A%20review>
- Zhen, J., Villani, T., Guo, Y., Qi, Y., Chin, K., Pan, M.-H., . . . Wu, Q. (2016). *Phytochemistry, antioxidant capacity, total phenolic content and anti-inflammatory activity of Hibiscus sabdariffa leaves*. *Food Chemistry*, 190(1), 673-680. Recuperado el 05 de Diciembre de 2016, de <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.06.006>

ANEXOS


ANEXO I

ANÁLISIS DE LA FLOR DE JAMAICA (*Hibiscus sabdariffa* L.)




SEIDLABORATORY Cía. Ltda.
SERVICIO INTEGRAL DE LABORATORIO

Asociación Ecuatoriana de Laboratorios Acreditados



Certificado N° 2102-01/02



Servicio de Acreditación Ecuatoriano
Acreditación N° OAE LE IC 03 001
LABORATORIO DE ENSAYOS

LABORATORIO ACREDITADO BAJO NORMA ISO/IEC 17025

INFORME DE ENSAYO NR. 119148

TIPO MUESTRA: <i>destinado por el cliente</i>	FLOR DE JAMAICA
CÓDIGO LABORATORIO:	119148-1
TIPO DE PRODUCTO:	FLOR DE JAMAICA
CLIENTE:	UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL
INTEGRO:	EL CONDADO
CONDICIÓN LEGADA Y TIPO DE ENVASE:	EMPACLE PLÁSTICO BELLADO
NÚMERO DE LOTE:	NO
FECHA RECEPCIÓN:	08/06/08
FECHA INICIO ENSAYO:	08/06/08
CONTENIDO DECLARADO:	NO
CONTENIDO ENCONTRADO:	3453 g
FECHA DE ELABORACIÓN:	NO
FECHA DE CADUCIDAD:	NO
CONDICIONES AMBIENTALES DE LABORIO DE LA MUESTRA:	Temperatura 22° C
FORMA DE CONSERVACIÓN:	ALIENTE
MUESTREO:	ES RESPONSABILIDAD DEL CLIENTE

ENSAYOS FÍSICO QUÍMICOS*	METODO	UNIDAD	RESULTADO
Humedad	INEN 1114	%	86,51
Ceniza	INEN 1117	%	0,03
pH	M. INTERNO	---	7,85
Materia seca	M. INTERNO	---	13,49

ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS	METODO	UNIDAD	RESULTADO
Aerobios mesófilos	SEMM-MB AEROBIOS (INEN 1529- 5)	UFC/g	94 x 10 ¹
Coliformes totales	SEMM-MB COLIFORMES (AOAC 991,14)	UFC/g	79 x 10 ¹
Mohos y levaduras	SEMM-MB MOHOS Y LEVADURAS (INEN 1529- 10)	UFM/g	50 x 10 ²
Coliformes fecales	SEMM-MB COLIFORMES (INEN 1529- 8)	NMP/g	<3
Salmonella 25g	SEMM-MB SALMONELLA (AOAC 967 25,26 27 FDA/CF SAN BAM (CAP V))	---	AUSENCIA

NS: No solicita el cliente / ND: No detecta

"Los ensayos marcados con (*) NO están incluidos en el alcance de la acreditación del BAE y A2LA"

Datos tomados del cuaderno FQ 93 Pág. 233A / Microbiología 91 Pág. 62A

Datos tomados del cuaderno FQ 93 Pág. 233A / Microbiología 91 Pág. 62A

INCERTIDUMBRE:	
PARÁMETRO MICROBIOLÓGICO	INCERTIDUMBRE
AEROBIOS	UFC= 6,14; A= [log CFU/g]; U= Patencia (19,2)
COLIFORMES Y E COLI	UFC= 6,01; A= [log CFU/g]; U= Patencia (19,2)
E COLI	UFC= 6,21; A= [log CFU/g]; U= Patencia (19,2)
MOHOS Y LEVADURAS	UFC= 6,13; A= [log CFU/g]; U= Patencia (19,2)

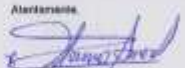
Los resultados expresados arriba tienen validez solo para la muestra analizada en condiciones específicas no siendo extensivo a cualquier lote.

El laboratorio no se responsabiliza por la representatividad de la muestra respecto a su origen y sitio del cual fue tomada.

Este informe no será reproducido, excepto en su totalidad con la aprobación del Director Técnico

• Tiempo de almacenamiento de infecciones: Cinco años a partir de la fecha de ingreso de la muestra

Alertamente



Dr. Mayra Viquez
Directora de Calidad
Directora Técnica (E)

SEIDLAB
AFONA EMBOM

Tiempo de permanencia de las muestras en el laboratorio

Página 1 de 1

Muestras perecibles: 5 días calendario; Muestras no perecibles: 30 días calendario. Si desea repetición de algún parámetro, se debe generar una solicitud en el período estipulado.

ANEXO II

EVIDENCIA FOTOGRÁFICA DEL PROCESO DE ESTUDIOS DE ESTABILIDAD DURANTE EL ALMACENAMIENTO



Recepción de Materia Prima en la Planta Piloto de Alimentos de la UTE



Selección y limpieza manual de la flor de jamaica



Corte y separación del cáliz del ovario de la flor



Estrujado



Acondicionamiento del mosto



Fermentación en biorreactor



Mosto Fermentado (día 29 de fermentación)



Trasiego del Vino



Decantación (clarificación natural)



Trasiego del vino clarificado en la cámara de refrigeración



Envasado del vino en botellas de vidrio verdes



Preparación de muestras para el Almacenamiento



Medición de sólidos solubles (°Brix)



Determinación del pH



Determinación de la acidez titulable



Determinación de la turbidez



Análisis espectrofotométricos de colorimetría



Evaluación sensorial del vino de flor de jamaica



Método del radical ABTS



Protocolo Folin-Ciocalteu's

ANEXO III

RENDIMIENTO DE LA MATERIA PRIMA: FLOR DE JAMAICA

A-III Tabla 1. Datos para el cálculo del porcentaje de rendimiento de la materia prima

Materia	Masa (kg)
Flor de jamaica receptada en la Planta Piloto de la UTE	18.978
Cálices de jamaica disponibles para la elaboración del vino	11.034
Mermas: ovarios de las flores, restos vegetales, impurezas	7.944

$$\text{Porcentaje de rendimiento} = \frac{P_f}{P_i} \times 100 \quad [1]$$

Dónde:

Pf= Masa de la materia prima disponible para procesar

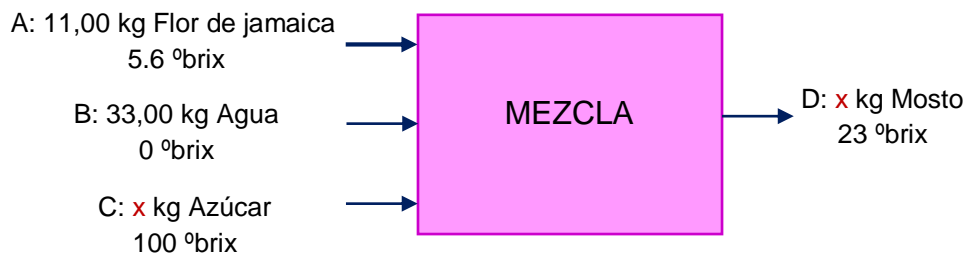
Pi= Masa de la materia prima receptada

$$\text{Porcentaje de rendimiento} = \frac{11.034 \text{ kg}}{18.978 \text{ kg}} \times 100 \quad [2]$$

$$\text{Porcentaje de rendimiento} = 58.141 \% \quad [3]$$

ANEXO IV

BALANCE DE MASA PARA LA ELABORACIÓN DEL VINO



Ecuación General

$$A + B + C = D \quad [4]$$

$$11,00 \text{ kg} + 33 \text{ kg} + C = D \quad [5]$$

$$44 \text{ kg} + C = D \quad [6]$$

Balance en función de azúcar

$$(0.056)(11.00)kg + (0)33 \overset{0}{kg} + C = (0.23)D \quad [7]$$

$$(0.616)kg + C = (0.23)(44 \text{ kg} + C) \quad [8]$$

$$(0.616)kg + C = 10.12 \text{ kg} + 0.23C \quad [9]$$

$$C = 12.34 \text{ kg azúcar} \quad [10]$$

Cantidad de Mosto Obtenido

$$D = 44 \text{ kg} + 12.34 \text{ kg} \quad [11]$$

$$D = 56.34 \text{ kg mosto} \quad [12]$$

ANEXO V

RENDIMIENTO DEL PROCESO DE VINIFICACIÓN

A-V Tabla 2. Datos para el cálculo del porcentaje de rendimiento del proceso de vinificación

Materia	Volumen (L)
Mosto inicial	56.34
Vino de flor de jamaica obtenido después del trasiego	30.00
Mermas: Muestras para análisis, propias del proceso	26.34

$$\text{Porcentaje de rendimiento} = \frac{P_f}{P_i} \times 100 \quad [13]$$

Dónde:

Pf= Volumen del vino obtenido

Pi= Volumen del mosto inicial

$$\text{Porcentaje de rendimiento} = \frac{30.00 L}{56.34 L} \times 100 \quad [14]$$

$$\text{Porcentaje de rendimiento} = 53.24 \% \quad [15]$$

ANEXO VI

DETERMINACIÓN DEL COLOR MEDIANTE EL MÉTODO DE GLORIES

Principio Básico

Los métodos de medición de color o colorimetría, realizan análisis de evaluación visual o instrumental. La medición mediante instrumentos, permite obtener datos numéricos que por medio de cálculos matemáticos, se pueden determinar los parámetros cromáticos. Los equipos usados son colorímetros, espectrofotómetros o espectro radiómetros (Mariño, 2013). El Método Glories permite la medición de ciertas propiedades del color como: La intensidad Colorante (IC); el Matiz o Tono (T); y mediante el cálculo de estos parámetros, se puede determinar el porcentaje de los colores amarillo, rojo y azul, a través de las absorbancias de las muestras.

La Intensidad Colorante (IC)

La intensidad se calcula por medio de la sumatoria de las absorbancias de 620 nm (componente azul); 520 nm (componente rojo) y 420 nm (componente amarillo), obtenidas de un espectrofotómetro (Mariño, 2013); como se demuestra en la ecuación 16.

$$IC = A_{420} + A_{520} + A_{620} \quad [16]$$

Matiz (T)

El cociente de las absorbancias a 420 y 520 nm, permite el cálculo del tono. El porcentaje de cada color, es obtenido de los cocientes de cada componente a su respectiva absorbancia sobre la intensidad (Mariño, 2013). En las ecuaciones 17, 18, 19 y 20 se pueden observar las fórmulas empleadas para la medición del matiz, porcentaje de amarillo, porcentaje de rojo y porcentaje de azul.

$$T = \frac{A_{420}}{A_{520}} \quad [17]$$

$$\% \text{ Amarillo} = \frac{A_{420}}{IC} \quad [18]$$

$$\% \text{ Rojo} = \frac{A_{520}}{IC} \quad [19]$$

$$\% \text{ Azul} = \frac{A_{620}}{IC} \quad [20]$$

ANEXO VII

DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES MEDIANTE EL PROTOCOLO DE FOLIN-CIOCALTEU'S

Principio Básico

Este método consiste en una reacción de óxido-reducción (REDOX) entre, los polifenoles (Ácido gálico) presentes en una muestra, y el reactivo FOLIN-CIOCALTEU'S (mezcla de fosfomolibdato y fosfotungstato). La linealidad de la curva de calibración debe ser aproximada a $R=0.0998$.

Equipos

- ✓ Espectrofotómetro
- ✓ Cronómetro
- ✓ Baño de agua con temperatura controlada
- ✓ Agitador vórtex
- ✓ Agitadores magnéticos

Reactivos

- ✓ Acetona (CH_3COCH_3): 70 % v/v (solución extractora).
- ✓ Carbonato de Sodio (Na_2CO_3): 75 g/L
- ✓ Ácido gálico ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$): 500 ppm (25 mg/50 mL).
- ✓ Folin-Ciocalteu's phenol (dilución 1/10 con agua destilada), se preparó en el momento del análisis y se protegió con papel aluminio.

Preparación del estándar (ácido gálico) y curva de calibración

1. Se preparó la solución madre de ácido gálico de 500 ppm, y a partir de ésta, se obtuvieron soluciones de 10, 20, 40, 60, 80 y 90 ppm.
2. Se programó al espectrofotómetro utilizando como blanco agua destilada, para que realizara las lecturas a una absorbancia de 760 nm.
3. De cada una de las soluciones de ácido gálico, se tomaron 500 μL , y se procedió de acuerdo al protocolo de Folin-Ciocalteu's descrito más adelante, para realizar la curva de calibración.

Preparación del extracto de flor de jamaica

1. Se pesó 1.5 g de la muestra en la balanza analítica y se añadió 10 mL de solución extractora (acetona 70 % v/v).
2. Se llevó a agitación durante 10 minutos con una pastilla magnética a 5000 rpm.
3. Luego se llevó la muestra a un baño ultrasónica durante 10 minutos.
4. Se filtró la solución utilizando papel filtro

Dilución del extracto cetónico

1. Se tomó una alícuota de 1 mL del extracto cetónico y se aforó a 10 mL con agua destilada.
2. De esta dilución obtenida, se tomó una alícuota de 500 μL en un tubo de ensayo y se procedió a seguir el protocolo de Folin-Ciocalteu's.

Dilución de las muestras de vino de flor de jamaica

1. Se tomó una alícuota de 0,3 μL de vino de flor de jamaica y se aforó a 10 mL con agua destilada.
2. Se procedió a realizar las lecturas conforme a protocolo Folin-Ciocalteu's.

Proceso REDOX: Protocolo de Folin-Ciocalteu's

A partir de este punto, se consideró el mismo tratamiento para el blanco, los estándares (diluciones de ácido gálico), los extractos cetónicos y las muestras de vino diluidas.

1. Se tomó una alícuota de 500 μL en un tubo de ensayo.
2. Se agregó 2.5 mL de solución Folin, se agitó en el vórtex y se dejó en reposo durante 2 minutos a temperatura ambiente.
3. Se basificó añadiendo 2 mL de solución de carbonato de sodio, se agitó en el vórtex y se colocó en un baño de agua a 50 $^{\circ}\text{C}$ por 15 minutos.
4. Se enfrió rápidamente al tubo de ensayo en un baño de hielo. Desde este punto, se tuvieron 30 minutos para realizar la lectura.
5. En el espectrofotómetro, se leyó la absorbancia de cada uno de los tubos a 760 nm, encerrando al equipo con el blanco agua destilada.

ANEXO VIII

DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Principio Básico

El $ABTS^{\bullet+}$ es un radical artificial que no mimetiza bien la situación in vivo, termodinámicamente puede ser reducido por compuestos que tengan un potencial redox menor que el del ABTS (0.68V), pudiendo reaccionar con el radical, muchos compuestos fenólicos con un potencial más bajo. El punto final de la reacción lo marca la sustancia antioxidante empleada, fijando tiempos cortos o muy elevados que pueden interferir en los resultados finales, lo cual, es un inconveniente (Agudo, 2010)

El radical $ABTS^{\bullet+}$ se obtiene tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente y en la oscuridad durante 16 h. El radical catiónico obtenido es un compuesto de color verde-azulado, estable y con un espectro de absorción en el UV-visible (Agudo, 2010).

Una vez formado el radical $ABTS^{\bullet+}$ se diluye con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 680 a 720 nm (longitud de onda de máxima absorción). Las muestras filtradas (antocianos y polifenoles) se diluyen con etanol hasta que se produce una inhibición del 20 al 80 %, en comparación con la absorbancia del blanco, tras añadir la muestra a la dilución del radical $ABTS^{\bullet+}$ así generado se le determina la absorbancia a la longitud de onda recomendada a 30 °C. La absorbancia se mide de forma continua transcurridos 6 minutos. El antioxidante sintético de referencia, Trolox, se ensaya a distintas concentraciones para la elaboración de la curva de calibración, previa al estudio (Kuskoski et al., 2005).

Preparación del reactivo ABTS

1. Se prepararon dos soluciones por separado: la primera es una solución 7 nM de ABTS (ácido 2,2'-azinol-bis(3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico) y la segunda una solución 2.45 nM de Peroxosulfato de potasio.
2. En un matraz de 25 mL, protegido con papel aluminio, se colocaron y mezclaron las dos soluciones preparadas, se obtuvo el reactivo ABTS y se guardó en oscuridad de 12 a 16 horas, manteniendo una estabilidad hasta por 48 horas.
3. Se midió 1 mL del reactivo ABTS y en un matraz de 100 mL y se aforó con etanol grado HPLC, se colocó en un baño de agua a 30 °C y se procedió a realizar las lecturas de las absorbancias, las cuales deben encontrarse en un rango entre 680 a 720 nm.

Curva de calibración: Trolox 2.5 mM

1. Se pesó el Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico) en la balanza analítica y se aforó a 25 mL con etanol, esta solución se denomina estándar o solución madre al 100 %.
2. En base a la solución madre, se prepararon soluciones de 75, 50, 25 y 12.5 %.
3. Se programó al espectrofotómetro utilizando como blanco etanol grado HPLC, para que realizara las lecturas a una absorbancia de 734 nm.
4. Para realizar las mediciones: se colocó 1 mL de reactivo ABTS y se leyó la absorbancia, se añadió 10 µL de la solución de Trolox preparada con anterioridad, y se fijan tiempos de 6 minutos que dura la reacción y es fijo para todas las mediciones. Se procede de la misma manera con todas las soluciones preparadas a partir de la madre, para realizar la curva de calibración.

Medición de las muestras diluidas de vino de flor de jamaica

1. Se tomó una alícuota de 0.5 mL de vino de flor de jamaica y se aforó con etanol a 5 mL.
2. Se procedió a realizar las mediciones, conforme al procedimiento utilizado para realizar la curva de calibración, sustituyendo las soluciones de Trolox, por las muestras de vino diluidas.

ANEXO IX

TEST DE EVALUACIÓN SENSORIAL DE ACEPTABILIDAD GLOBAL

Evaluación Sensorial Hedónica

Edad: _____

Fecha: _____

Producto: *Vino de Flor de Jamaica*

1. Pruebe la muestra de *Vino de Flor de Jamaica* que se le presenta e indique, según la escala, cuánto le agrada o desagrada la muestra, marque con una "X" en donde corresponda

Escala	Apariencia	Color	Olor	Sabor	Aceptabilidad global
Extremadamente agradable	_____	_____	_____	_____	_____
Muy agradable	_____	_____	_____	_____	_____
Agradable	_____	_____	_____	_____	_____
Ligeramente agradable	_____	_____	_____	_____	_____
Ni agradable ni desagradable	_____	_____	_____	_____	_____
Ligeramente desagradable	_____	_____	_____	_____	_____
Desagradable	_____	_____	_____	_____	_____
Muy desagradable	_____	_____	_____	_____	_____
Extremadamente desagradable	_____	_____	_____	_____	_____

Comentarios: _____

Muchas Gracias.

Evaluación Sensorial Hedónica

Edad: _____

Fecha: _____

Producto: *Vino de Flor de Jamaica*

1. Se le presentan 2 muestras de VINO DE FLOR DE JAMAICA, por favor pruebe cada una e indique, según la escala, cuánto le agrada o desagrada cada muestra, marque con una "X" en donde corresponda

MUESTRA 1304

Escala	Apariencia	Color	Olor	Sabor	Aceptabilidad global
Extremadamente agradable	_____	_____	_____	_____	_____
Muy agradable	_____	_____	_____	_____	_____
Agradable	_____	_____	_____	_____	_____
Ligeramente agradable	_____	_____	_____	_____	_____
Ni agradable ni desagradable	_____	_____	_____	_____	_____
Ligeramente desagradable	_____	_____	_____	_____	_____
Desagradable	_____	_____	_____	_____	_____
Muy desagradable	_____	_____	_____	_____	_____
Extremadamente desagradable	_____	_____	_____	_____	_____

MUESTRA 1659

Escala	Apariencia	Color	Olor	Sabor	Aceptabilidad global
Extremadamente agradable	_____	_____	_____	_____	_____
Muy agradable	_____	_____	_____	_____	_____
Agradable	_____	_____	_____	_____	_____
Ligeramente agradable	_____	_____	_____	_____	_____
Ni agradable ni desagradable	_____	_____	_____	_____	_____
Ligeramente desagradable	_____	_____	_____	_____	_____
Desagradable	_____	_____	_____	_____	_____
Muy desagradable	_____	_____	_____	_____	_____
Extremadamente desagradable	_____	_____	_____	_____	_____

Comentarios: _____

Muchas Gracias.

ANEXO X

ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICOS DEL VINO DE JAMAICA



SEIDLaboratory CÍA. LTDA.

SERVICIO INTEGRAL DE LABORATORIO

Melchor Toaza N61-63
entre Av. del Maestro y Nazareth
Telfs.: 248 3145 / 280 8849 / 247 6314
Telefax: 280 8825 • www.seidlaboratory.com
Quito - Ecuador

INFORME DE ENSAYO NR. 124142

TIPO MUESTRA: declarada por el cliente como: **VINO DE FLOR DE JAMAICA**

CODIGO LABORATORIO: 124142- 1

TIPO DE PRODUCTO: VINO DE FLOR DE JAMAICA

CLIENTE: UTE

DIRECCION: AV. OCCIDENTAL Y MARIANA DE JESUS

CONDICION LLEGADA Y TIPO DE ENVASE: FRASCO DE VIDRIO CON TAPA

NUMERO DE LOTE: ND

FECHA RECEPCION: 16/12/12

FECHA INICIO ENSAYO: 16/12/12

CONTENIDO DECLARADO: 1 L

CONTENIDO ENCONTRADO: NS

FECHA DE ELABORACION: ND

FECHA DE CADUCIDAD: ND

CONDICIONES AMBIENTALES DE LLEGADA DE LA MUESTRA: Temperatura 22 ° C

FORMA DE CONSERVACIÓN: AMBIENTE

MUESTREO: ES RESPONSABILIDAD DEL CLIENTE

ENSAYOS FISICO QUIMICOS	METODO	UNIDAD	RESULTADO
Grado alcoholico	INEN 340	°GL	6
Metanol	INEN 347	mg/L	14,88
Anhidrido sulfuroso libre*	INEN 357	g/L	0,09
Anhidrido sulfuroso total*	INEN 356	g/L	0,13

NS: No solicita el cliente / ND: No declara

Datos tomados del cuaderno FQ 102 Pág. 74A


* Resultado proporcionado por Laboratorio SUBCONTRATADO, cuya competencia para la ejecución de este ensayo fue evaluada mediante el procedimiento SEOP4.5 del Laboratorio SEIDLA.

Los resultados expresados arriba tienen validez solo para la muestra analizada en condiciones específicas no siendo extensivo a cualquier lote.

El laboratorio no se responsabiliza por la representabilidad de la muestra respecto a su origen y sitio del cual fue tomado. Este informe no será reproducido, excepto en su totalidad con la aprobación del Director Técnico.

• **Tiempo de almacenamiento de informes:** Cinco años a partir de la fecha de ingreso de la muestra.

Atentamente,


Dra. Mayra Vinuesa
Director de Calidad
Director Técnico (E)

16/12/28
FECHA EMISION

ANEXO XI

**VARIABLES DURANTE LA FERMENTACIÓN DEL VINO DE
FLOR DE JAMAICA**

A-XI Tabla 3. Tabla de datos medidos a través del tiempo transcurrido durante el proceso de fermentación

Tiempo (días)	Sólidos solubles (°Brix)	pH	Acidez titulable (g/L) de ácido cítrico
0	23.68 ± 0.035	2.44 ± 0.007	3.71 ± 0.091
1	22.58 ± 0.035	2.35 ± 0.000	5.31 ± 0.008
2	22.60 ± 0.000	2.33 ± 0.007	5.70 ± 0.095
5	23.00 ± 0.000	2.32 ± 0.004	6.08 ± 0.008
6	22.95 ± 0.071	2.35 ± 0.000	5.86 ± 0.045
7	23.08 ± 0.035	2.27 ± 0.004	5.86 ± 0.045
8	23.15 ± 0.141	2.27 ± 0.007	6.16 ± 0.130
12	20.90 ± 0.000	2.30 ± 0.000	6.62 ± 0.136
13	20.28 ± 0.035	2.31 ± 0.011	7.49 ± 0.091
14	19.48 ± 0.035	2.32 ± 0.004	7.10 ± 0.091
15	18.95 ± 0.071	2.35 ± 0.004	7.81 ± 0.091
16	18.28 ± 0.035	2.36 ± 0.004	7.74 ± 0.091
19	17.13 ± 0.035	2.37 ± 0.007	7.78 ± 0.136
21	16.45 ± 0.071	2.40 ± 0.007	7.90 ± 0.045
22	16.28 ± 0.035	2.41 ± 0.004	7.36 ± 0.000
23	16.00 ± 0.000	2.39 ± 0.007	7.78 ± 0.045
26	15.43 ± 0.035	2.41 ± 0.004	7.71 ± 0.136
28	15.38 ± 0.035	2.34 ± 0.000	7.42 ± 0.181
29	15.15 ± 0.071	2.38 ± 0.006	7.78 ± 0.045

n=2 ± Desviación Estándar

ANEXO XII
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS PARÁMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA DURANTE LA FERMENTACIÓN

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES (°Brix)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
°BRIX	38	1,00	1,00	0,26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	362,51	19	19,08	7478,71	<0,0001
MUESTRA	362,50	18	20,14	7894,05	<0,0001
RÉPLICA	0,01	1	0,01	2,58	0,1257
Error	0,05	18	2,6E-03		
Total	362,56	37			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,20510

Error: 0,0026 gl: 18

MUESTRA Medias n E.E.

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
0	23,68	2	0,04	A
8	23,15	2	0,04	B
7	23,08	2	0,04	B
5	23,00	2	0,04	B
6	22,95	2	0,04	B
2	22,60	2	0,04	C
1	22,58	2	0,04	C
12	20,90	2	0,04	D
13	20,28	2	0,04	E
14	19,48	2	0,04	F
15	18,95	2	0,04	G
16	18,28	2	0,04	H
19	17,13	2	0,04	I
21	16,45	2	0,04	J
22	16,28	2	0,04	J
23	16,00	2	0,04	K
26	15,43	2	0,04	L
28	15,38	2	0,04	L
29	15,15	2	0,04	M

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03443

Error: 0,0026 gl: 18

RÉPLICA	Medias	n	E.E.
2	19,52	19	0,01 A
1	19,50	19	0,01 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL pH

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH	38	1,00	0,99	0,18

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,07	19	3,9E-03	227,89	<0,0001
MUESTRA	0,07	18	4,1E-03	240,24	<0,0001
RÉPLICA	9,5E-05	1	9,5E-05	5,59	0,0296
Error	3,1E-04	18	1,7E-05		
Total	0,07	37			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01672

Error: 0,0000 gl: 18

MUESTRA	Medias	n	E.E.
0	2,44	2	2,9E-03 A
22	2,41	2	2,9E-03 B
26	2,41	2	2,9E-03 B
21	2,40	2	2,9E-03 B C
23	2,39	2	2,9E-03 C D
29	2,38	2	2,9E-03 C D E
28	2,37	2	2,9E-03 D E F
19	2,37	2	2,9E-03 E F G
16	2,36	2	2,9E-03 F G
1	2,35	2	2,9E-03 G H
15	2,35	2	2,9E-03 G H
6	2,35	2	2,9E-03 G H
2	2,34	2	2,9E-03 H I
5	2,33	2	2,9E-03 I J
14	2,32	2	2,9E-03 I J
13	2,32	2	2,9E-03 J K
12	2,30	2	2,9E-03 K
8	2,28	2	2,9E-03 L
7	2,27	2	2,9E-03 L

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA ACIDEZ TITULABLE RESPECTO AL ÁCIDO CÍTRICO

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ACIDEZ	38	1,00	0,99	1,26

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	48,89	19	2,57	353,30	<0,0001
MUESTRA	48,89	18	2,72	372,92	<0,0001
RÉPLICA	1,6E-03	1	1,6E-03	0,23	0,6404
Error	0,13	18	0,01		
Total	49,02	37			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,34655

Error: 0,0073 gl: 18

MUESTRA	Medias	n	E.E.						
22,00	7,91	2	0,06	A					
16,00	7,81	2	0,06	A	B				
15,00	7,81	2	0,06	A	B				
21,00	7,78	2	0,06	A	B				
26,00	7,78	2	0,06	A	B				
29,00	7,78	2	0,06	A	B				
19,00	7,75	2	0,06	A	B	C			
13,00	7,49	2	0,06		B	C	D		
28,00	7,43	2	0,06			C	D	E	
23,00	7,36	2	0,06				D	E	
14,00	7,11	2	0,06					E	
12,00	6,63	2	0,06						F
5,00	6,08	2	0,06						G
6,00	5,86	2	0,06						G H
7,00	5,86	2	0,06						G H
8,00	5,86	2	0,06						G H
2,00	5,70	2	0,06						H
1,00	5,31	2	0,06						I
0,00	3,72	2	0,06						J

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05817

Error: 0,0073 gl: 18

RÉPLICA	Medias	n	E.E.	
1,00	6,79	19	0,02	A
2,00	6,78	19	0,02	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANEXO XIII
TURBIDEZ DURANTE LA DECANTACIÓN DEL VINO DE FLOR
DE JAMAICA

A-XII Tabla 4. Tabla de datos medidos a través del tiempo transcurrido durante el proceso de decantación

Tiempo (días)	Turbidez (NTU)
0	748.00 ± 0.70
1	440.75 ± 1.77
4	142.25 ± 1.06
5	62.53 ± 0.11
6	61.70 ± 0.07

n=2 ± Desviación Estándar

ANEXO XIV

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA TURBIDEZ DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA DURANTE LA DECANTACIÓN

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
TURBIDEZ	10	1,00	1,00	0,34

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	716360,62	5	143272,12	142914,84	<0,0001
MUESTRA	716359,86	4	179089,97	178643,36	<0,0001
RÉPLICA	0,76	1	0,76	0,75	0,4341
Error	4,01	4	1,00		
Total	716364,63	9			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=4,45115

Error: 1,0025 gl: 4

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
0	748,00	2	0,71	A
1	440,75	2	0,71	B
4	142,25	2	0,71	C
5	62,52	2	0,71	D
6	61,70	2	0,71	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=1,75818

Error: 1,0025 gl: 4

RÉPLICA	Medias	n	E.E.	
1	291,32	5	0,45	A
2	290,77	5	0,45	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANEXO XV

VARIABLES FÍSICO-QUÍMICAS DURANTE EL

ALMACENAMIENTO DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA

A-XV Tabla 5. Tabla de datos medidos a través del tiempo transcurrido durante el proceso de almacenamiento respecto a Sólidos solubles, pH y Turbidez

Condición de Almacenamiento	Tiempo (días)	Sólidos solubles (°Brix)	pH	Turbidez (NTU)
Ambiente	0	15.13 ± 0.035 a	2.42 ± 0.005 a	748.00 ± 0.70
Refrigeración	7	15.08 ± 0.014 a	2.42 ± 0.009 a	440.75 ± 1.77
Ambiente	7	15.11 ± 0.014 a	2.41 ± 0.016 a	142.25 ± 1.06
Refrigeración	14	15.03 ± 0.035 a	2.43 ± 0.012 a	62.53 ± 0.11
Ambiente	14	15.08 ± 0.009 a	2.42 ± 0.012 a	61.70 ± 0.07

n=2 ± Desviación Estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

A-XIV Tabla 6. Tabla de datos medidos a través del tiempo transcurrido durante el proceso de almacenamiento respecto a la acidez titulable

Condición de Almacenamiento	Tiempo (días)	Acidez titulable (g/L) de ácido cítrico
Ambiente	0	7.46 ± 0.226 a
Refrigeración	7	7.56 ± 0.092 a
Ambiente	7	7.49 ± 0.184 a
Refrigeración	14	7.62 ± 0.009 a
Ambiente	14	7.56 ± 0.092 a

n=2 ± Desviación Estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

ANEXO XVI

BARRIDO ESPECTROFOTOMÉTRICO DE LAS MUESTRAS DE VINO DURANTE EL ALMACENAMIENTO

A-XVI Tabla 7. Absorbancias medidas en el rango del espectro luminoso de las muestras de vino de flor de jamaica sometidas a dos condiciones de almacenamiento durante 14 días

Longitud de onda (nm)	Ambiente día 14 (Absorbancia)	Refrigeración día 14 (Absorbancia)	Ambiente día 7 (Absorbancia)
380	0.670 ± 0.004	0.723 ± 0.007	0.831 ± 0.008
400	0.705 ± 0.003	0.770 ± 0.001	0.874 ± 0.003
420	0.843 ± 0.008	0.928 ± 0.002	1.054 ± 0.002
440	0.970 ± 0.007	1.062 ± 0.006	1.208 ± 0.005
460	1.142 ± 0.014	1.266 ± 0.002	1.432 ± 0.008
480	1.518 ± 0.004	1.643 ± 0.005	1.824 ± 0.014
500	1.824 ± 0.007	1.907 ± 0.001	2.036 ± 0.000
520	1.888 ± 0.005	1.978 ± 0.013	2.032 ± 0.004
540	1.742 ± 0.001	1.854 ± 0.001	1.961 ± 0.005
560	1.167 ± 0.002	1.285 ± 0.002	1.440 ± 0.013
580	0.473 ± 0.007	0.533 ± 0.008	0.608 ± 0.001
600	0.201 ± 0.001	0.218 ± 0.003	0.253 ± 0.002
620	0.106 ± 0.004	0.108 ± 0.002	0.126 ± 0.002
640	0.057 ± 0.002	0.052 ± 0.004	0.065 ± 0.001
660	0.038 ± 0.001	0.034 ± 0.001	0.041 ± 0.001
680	0.029 ± 0.000	0.025 ± 0.000	0.032 ± 0.001
700	0.026 ± 0.003	0.020 ± 0.001	0.028 ± 0.001
720	0.033 ± 0.019	0.019 ± 0.003	0.019 ± 0.000
740	0.017 ± 0.003	0.014 ± 0.000	0.019 ± 0.000
760	0.017 ± 0.000	0.014 ± 0.000	0.018 ± 0.000
780	0.017 ± 0.001	0.015 ± 0.001	0.021 ± 0.001

n=2 ± Desviación Estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

A-XVI Tabla 8. Absorbancias medidas en el rango del espectro luminoso de las muestras de vino de flor de jamaica sometidas a dos condiciones de almacenamiento durante 14 días

Longitud de onda (nm)	Refrigeración día 7 (Absorbancia)	Día 0 (Absorbancia)
380	0.822 ± 0.003	0.753 ± 0.005
400	0.862 ± 0.010	0.790 ± 0.000
420	1.051 ± 0.002	0.951 ± 0.001
440	1.213 ± 0.002	1.091 ± 0.001
460	1.448 ± 0.007	1.290 ± 0.001
480	1.924 ± 0.007	1.708 ± 0.000
500	2.366 ± 0.003	2.014 ± 0.001
520	2.335 ± 0.002	2.061 ± 0.003
540	2.194 ± 0.004	1.905 ± 0.028
560	1.486 ± 0.004	1.333 ± 0.006
580	0.608 ± 0.004	0.547 ± 0.001
600	0.245 ± 0.002	0.232 ± 0.002
620	0.117 ± 0.001	0.120 ± 0.002
640	0.059 ± 0.000	0.065 ± 0.000
660	0.038 ± 0.003	0.048 ± 0.002
680	0.026 ± 0.000	0.036 ± 0.001
700	0.021 ± 0.002	0.032 ± 0.001
720	0.016 ± 0.002	0.027 ± 0.000
740	0.012 ± 0.001	0.026 ± 0.001
760	0.012 ± 0.000	0.024 ± 0.001
780	0.011 ± 0.000	0.026 ± 0.000

n=2 ± Desviación Estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

ANEXO XVII

VARIABLES DE COLORIMETRÍA DURANTE EL

ALMACENAMIENTO DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA

A-XVII Tabla 9. Características del Color de las muestras de vino de flor de jamaica sometidas a dos condiciones de almacenamiento

Muestra	IC	T
Día 0	3.13 ± 0.002 c	0.46 ± 0.004 c
Ambiente día 7	3.21 ± 0.005 b	0.52 ± 0.002 a
Refrigeración día 7	3.50 ± 0.005 a	0.45 ± 0.003 d
Ambiente día 14	2.84 ± 0.009 e	0.45 ± 0.002 d
Refrigeración día 14	3.01 ± 0.001 d	0.47 ± 0.001 b

n=2 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

A-XVII Tabla 10. Cantidad de pigmentos en las muestras de vino de flor de jamaica sometidas a dos condiciones de almacenamiento

Muestra	%Amarillo	%Rojo	%Azul
Día 0	30.37 ± 0.01 c	65.82 ± 0.06 b	3.82 ± 0.07 ab
Ambiente día 7	32.81 ± 0.03 a	63.27 ± 0.03 c	3.92 ± 0.06 a
Refrigeración día 7	30.00 ± 0.01 d	66.66 ± 0.03 a	3.35 ± 0.03 d
Ambiente día 14	29.71 ± 0.18 d	66.57 ± 0.04 a	3.72 ± 0.14 bc
Refrigeración día 14	30.79 ± 0.09 b	65.65 ± 0.04 b	3.57 ± 0.05 c

n=2 ± Desviación estándar

Letras diferentes entre las medias, indican diferencias significativas de acuerdo con la prueba de Tukey a una (P<0.05)

ANEXO XVIII

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS PARÁMETROS FÍSICO- QUÍMICOS DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA DURANTE EL ALMACENAMIENTO

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL CONTENIDO DE SÓLIDOS SOLUBLES (°Brix)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
°Brix	10	0,80	0,55	0,18

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	5	2,4E-03	3,23	0,1395
Muestra	0,01	4	3,0E-03	4,03	0,1027
Réplica	1,0E-05	1	1,0E-05	0,01	0,9128
Tiempo	0,00	0	0,00	sd	sd
Temperatura	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	2,9E-03	4	7,4E-04		
Total	0,01	9			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,12052

Error: 0,0007 gl: 4

Muestra	Medias	n	E.E.
almacen 0	15,13	2	0,04 A
almacen 7 amb	15,11	2	0,04 A
almacen 7 ref	15,08	2	0,04 A
almacen 14 amb	15,08	2	0,04 A
almacen 14 ref	15,03	2	0,04 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,04761

Error: 0,0007 gl: 4

Réplica	Medias	n	E.E.	
2,00	15,08	5	0,02	A
1,00	15,08	5	0,02	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,07889

Error: 0,0007 gl: 4

Tiempo	Medias	n	E.E.	
0,00	15,13	2	0,04	A
7,00	15,10	4	0,03	A
14,00	15,05	4	0,03	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,04859

Error: 0,0007 gl: 4

Temperatura	Medias	n	E.E.	
amb	15,10	6	0,02	A
refri	15,05	4	0,03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL pH

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
pH	10	0,43	0,00	0,53

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	5,0E-04	5	1,0E-04	0,61	0,7045
MUESTRA	4,6E-04	4	1,2E-04	0,70	0,6325
REPLICA	4,0E-05	1	4,0E-05	0,24	0,6483
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	6,6E-04	4	1,6E-04		
Total	1,2E-03	9			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,05710

Error: 0,0002 gl: 4

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
almacen 14 ref	2,43	2	0,02	A
almacen 14 amb	2,42	2	0,02	A
almacen 7 ref	2,42	2	0,02	A
almacen 0	2,42	2	0,02	A
almacen 7 amb	2,41	2	0,02	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,02256

Error: 0,0002 gl: 4

REPLICA	Medias	n	E.E.
1,00	2,42	5	0,01 A
2,00	2,42	5	0,01 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03738

Error: 0,0002 gl: 4

TIEMPO	Medias	n	E.E.
14,00	2,43	4	0,01 A
0,00	2,42	2	0,02 A
7,00	2,41	4	0,01 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,02302

Error: 0,0002 gl: 4

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.
refri	2,42	4	0,01 A
amb	2,42	6	0,01 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA ACIDEZ TITULABLE RESPECTO AL ÁCIDO CÍTRICO

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
ac. cítrico	10	0,76	0,47	1,17

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,10	5	0,02	2,60	0,1877
Muestra	0,03	4	0,01	1,00	0,5000
Réplica	0,07	1	0,07	9,01	0,0399
Tiempo	0,00	0	0,00	sd	sd
Temperatura	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	0,03	4	0,01		
Total	0,13	9			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,39350

Error: 0,0078 gl: 4

Muestra	Medias	n	E.E.
almacen 14 ref	7,62	2	0,13 A
almacen 7 ref	7,56	2	0,13 A
almacen 14 amb	7,56	2	0,13 A
almacen 7 amb	7,49	2	0,13 A
almacen 0	7,46	2	0,13 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15543

Error: 0,0078 gl: 4

Réplica Medias n E.E.

1,00	7,62	5	0,08	A
2,00	7,45	5	0,08	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,25758

Error: 0,0078 gl: 4

Tiempo Medias n E.E.

14,00	7,59	4	0,09	A
7,00	7,52	4	0,09	A
0,00	7,46	2	0,13	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15864

Error: 0,0078 gl: 4

Temperatura Medias n E.E.

refri	7,59	4	0,09	A
amb	7,50	6	0,07	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA TURBIDEZ (NTU)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
turbidez	10	1,00	1,00	0,94

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	944,04	5	188,81	1083,46	<0,0001
Muestra	943,53	4	235,88	1353,58	<0,0001
Réplica	0,52	1	0,52	2,96	0,1606
Tiempo	0,00	0	0,00	sd	sd
Temperatura	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	0,70	4	0,17		
Total	944,74	9			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,85582

Error: 0,1743 gl: 4

Muestra Medias n E.E.

almacen 0	61,45	2	0,59	A
almacen 7 ref	47,62	2	0,59	B
almacen 7 amb	41,67	2	0,59	C
almacen 14 ref	36,94	2	0,59	D
almacen 14 amb	34,03	2	0,59	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,73304

Error: 0,1743 gl: 4

Réplica	Medias	n	E.E.	
2,00	44,57	5	0,37	A
1,00	44,11	5	0,37	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,21477

Error: 0,1743 gl: 4

Tiempo	Medias	n	E.E.	
0,00	61,45	2	0,59	A
7,00	44,64	4	0,42	B
14,00	35,48	4	0,42	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,74815

Error: 0,1743 gl: 4

Temperatura	Medias	n	E.E.	
amb	45,72	6	0,34	A
refri	42,28	4	0,42	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA INTENSIDAD COLORANTE (IC)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
IC	10	1,00	1,00	0,33

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,49	5	0,10	893,88	<0,0001
MUESTRA	0,49	4	0,12	1117,32	<0,0001
RÉPLICA	1,0E-05	1	1,0E-05	0,09	0,7776
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	4,4E-04	4	1,1E-04		
Total	0,49	9			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,04652

Error: 0,0001 gl: 4

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
almacen 7 ref	3,50	2	0,01	A
almacen 7 amb	3,21	2	0,01	B
almacen 0	3,13	2	0,01	C
almacen 14 ref	3,01	2	0,01	D
almacen 14 amb	2,84	2	0,01	E

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01838

Error: 0,0001 gl: 4

RÉPLICA	Medias	n	E.E.	
2,00	3,14	5	0,01	A
1,00	3,14	5	0,01	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,03045

Error: 0,0001 gl: 4

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
7,00	3,36	4	0,01	A
0,00	3,13	2	0,01	B
14,00	2,93	4	0,01	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,01875

Error: 0,0001 gl: 4

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.	
refri	3,26	4	0,01	A
amb	3,06	6	0,01	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL TONO (T)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Tono	10	1,00	1,00	0,29

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,01	5	1,4E-03	734,77	<0,0001
MUESTRA	0,01	4	1,7E-03	917,97	<0,0001
RÉPLICA	3,6E-06	1	3,6E-06	1,95	0,2355
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	7,4E-06	4	1,8E-06		
Total	0,01	9			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00605

Error: 0,0000 gl: 4

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
almacen 7 amb	0,52	2	1,9E-03	A
almacen 14 ref	0,47	2	1,9E-03	B
almacen 0	0,46	2	1,9E-03	C
almacen 7 ref	0,45	2	1,9E-03	D
almacen 14 amb	0,45	2	1,9E-03	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00239

Error: 0,0000 gl: 4

RÉPLICA	Medias	n	E.E.	
1,00	0,47	5	1,2E-03	A
2,00	0,47	5	1,2E-03	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00396

Error: 0,0000 gl: 4

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
7,00	0,48	4	1,4E-03	A
0,00	0,46	2	1,9E-03	B
14,00	0,46	4	1,4E-03	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,00244

Error: 0,0000 gl: 4

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.	
amb	0,48	6	1,1E-03	A
refri	0,46	4	1,4E-03	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL PORCENTAJE DE AMARILLO

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%Amarillo	10	1,00	1,00	0,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	12,14	5	2,43	408,46	<0,0001
MUESTRA	12,12	4	3,03	509,82	<0,0001
RÉPLICA	0,02	1	0,02	3,02	0,1570
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	0,02	4	0,01		
Total	12,16	9			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,34273

Error: 0,0059 gl: 4

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
almacen 7 amb	32,81	2	0,11	A
almacen 14 ref	30,79	2	0,11	B
almacen 0	30,37	2	0,11	C
almacen 7 ref	30,00	2	0,11	D
almacen 14 amb	29,71	2	0,11	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13537

Error: 0,0059 gl: 4

RÉPLICA	Medias	n	E.E.	
1,00	30,78	5	0,07	A
2,00	30,69	5	0,07	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,22434

Error: 0,0059 gl: 4

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
7,00	31,41	4	0,08	A
0,00	30,37	2	0,11	B
14,00	30,25	4	0,08	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13817

Error: 0,0059 gl: 4

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.	
amb	30,96	6	0,06	A
refri	30,39	4	0,08	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL PORCENTAJE DE ROJO

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%Rojo	10	1,00	1,00	0,08

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	15,06	5	3,01	1193,00	<0,0001
MUESTRA	15,06	4	3,77	1491,22	<0,0001
RÉPLICA	2,5E-04	1	2,5E-04	0,10	0,7688
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	0,01	4	2,5E-03		
Total	15,07	9			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,22339

Error: 0,0025 gl: 4

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
almacen 7 ref	66,66	2	0,07	A
almacen 14 amb	66,57	2	0,07	A
almacen 0	65,82	2	0,07	B
almacen 14 ref	65,65	2	0,07	B
almacen 7 amb	63,27	2	0,07	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,08824

Error: 0,0025 gl: 4

RÉPLICA	Medias	n	E.E.	
1,00	65,60	5	0,04	A
2,00	65,59	5	0,04	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,14622

Error: 0,0025 gl: 4

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
14,00	66,11	4	0,05	A
0,00	65,82	2	0,07	B
7,00	64,96	4	0,05	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,09006

Error: 0,0025 gl: 4

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.	
refri	66,15	4	0,05	A
amb	65,22	6	0,04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL PORCENTAJE DE AZUL

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%Azul	10	0,98	0,96	1,16

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	0,42	5	0,08	46,22	0,0012
MUESTRA	0,40	4	0,10	54,35	0,0010
RÉPLICA	0,03	1	0,03	13,70	0,0208
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	0,01	4	1,8E-03		
Total	0,43	9			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,18992

Error: 0,0018 gl: 4

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
almacen 7 amb	3,92	2	0,06	A
almacen 0	3,82	2	0,06	A B
almacen 14 amb	3,72	2	0,06	B C
almacen 14 ref	3,57	2	0,06	C
almacen 7 ref	3,35	2	0,06	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,07502

Error: 0,0018 gl: 4

RÉPLICA	Medias	n	E.E.	
2,00	3,72	5	0,04	A
1,00	3,62	5	0,04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,12431

Error: 0,0018 gl: 4

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
0,00	3,82	2	0,06	A
14,00	3,64	4	0,04	B
7,00	3,63	4	0,04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,07656

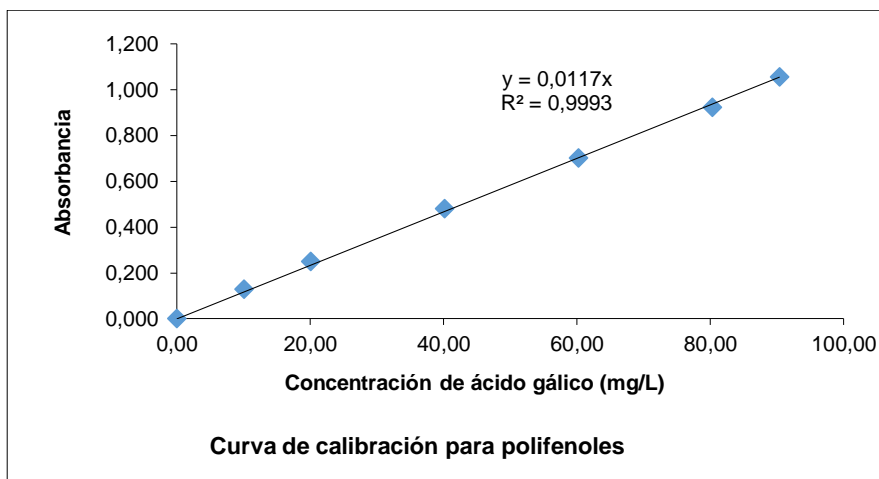
Error: 0,0018 gl: 4

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.	
amb	3,82	6	0,03	A
refri	3,46	4	0,04	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANEXO XIX

CURVA DE CALIBRACIÓN DEL ÁCIDO GÁLICO PARA LA DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES MEDIANTE EL PROTOCOLO DE FOLIN-CIOCALTEU'S



A-XIX Figura 1. Curva de calibración de ácido gálico utilizada para la determinación de polifenoles

A-XIX Tabla 11. Diluciones patrón de ácido gálico

Concentración de ácido gálico Cn (mg/L)	Absorbancia
0	0.000
10.04	0.128
20.08	0.251
40.16	0.480
60.24	0.703
80.32	0.924
90.36	1.056

ANEXO XX

MEDICIONES DE LA DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES

A-XIX Tabla 12. Mediciones realizadas durante la determinación del contenido total de polifenoles mediante el protocolo de Folin-Ciocalteu's de las muestras de vino de flor de jamaica en el almacenamiento

Muestras	Absorbancia	Cn (mg Equivalente ácido gálico/100 mL muestra)	Error (%)
Cálices frescos de jamaica	0,657 ± 0.003	204.018 ± 0.484	0.24
Mosto inicial	0.326 ± 0.011	79.131 ± 3.928	4.96
Vino previo al decantado	0.527 ± 0.001	144.138 ± 1.510	1.05
Vino clarificado	0.538 ± 0.005	139.316 ± 1.612	1.16
Almacenamiento día 0	0.538 ± 0.005	139.316 ± 1.612	1.16
Ambiente día 7	0.550 ± 0.004	142.735 ± 1.209	0.85
Refrigeración día 7	0.548 ± 0.014	142.379 ± 4.936	3.47
Ambiente día 14	0.543 ± 0.001	140.954 ± 0.101	0.07
Refrigeración día 14	0.523 ± 0.002	135.256 ± 0.101	0.07

n=2 ± Desviación estándar

ANEXO XXI

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES EN LOS VINOS DE FLOR DE JAMAICA

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES DURANTE EL PROCESO DE VINIFICACIÓN

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Polifenoles	8	1,00	1,00	1,85

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	15619,95	4	3904,99	570,93	0,0001
MUESTRA	15619,93	3	5206,64	761,24	0,0001
RÉPLICA	0,03	1	0,03	3,8E-03	0,9546
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	20,52	3	6,84		
Total	15640,47	7			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=12,62049

Error: 6,8397 gl: 3

MUESTRA	Medias	n	E.E.
Flor	204,02	2	3,20 A
vino previo decant	144,14	2	3,20 B
almacen 0	139,32	2	3,20 B
mosto inicial	79,13	2	3,20 C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,88525

Error: 6,8397 gl: 3

RÉPLICA	Medias	n	E.E.
1,00	141,71	4	2,26 A
2,00	141,59	4	2,26 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,88525

Error: 6,8397 gl: 3

RÉPLICA Medias n E.E.

1,00 141,71 4 2,26 A

2,00 141,59 4 2,26 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,88525

Error: 6,8397 gl: 3

TIEMPO Medias n E.E.

0,00 141,65 8 1,60 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=5,88525

Error: 6,8397 gl: 3

TEMPERATURA Medias n E.E.

amb 141,65 8 1,60 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES DURANTE EL ALMACENAMIENTO

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Polifenoles	10	0,76	0,46	1,76

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	77,98	5	15,60	2,56	0,1913
MUESTRA	73,87	4	18,47	3,04	0,1537
RÉPLICA	4,11	1	4,11	0,68	0,4572
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	24,33	4	6,08		
Total	102,31	9			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=10,96395

Error: 6,0824 gl: 4

MUESTRA Medias n E.E.

almacen 7 amb 142,74 2 3,49 A

almacen 7 ref 142,38 2 3,49 A

almacen 14 amb 140,95 2 3,49 A

almacen 0 139,32 2 3,49 A

almacen 14 ref 135,26 2 3,49 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,33070

Error: 6,0824 gl: 4

RÉPLICA Medias n E.E.

1,00 140,77 5 2,21 A

2,00 139,49 5 2,21 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=7,17675

Error: 6,0824 gl: 4

TIEMPO Medias n E.E.

7,00 142,56 4 2,47 A

0,00 139,32 2 3,49 A

14,00 138,11 4 2,47 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,42000

Error: 6,0824 gl: 4

TEMPERATURA Medias n E.E.

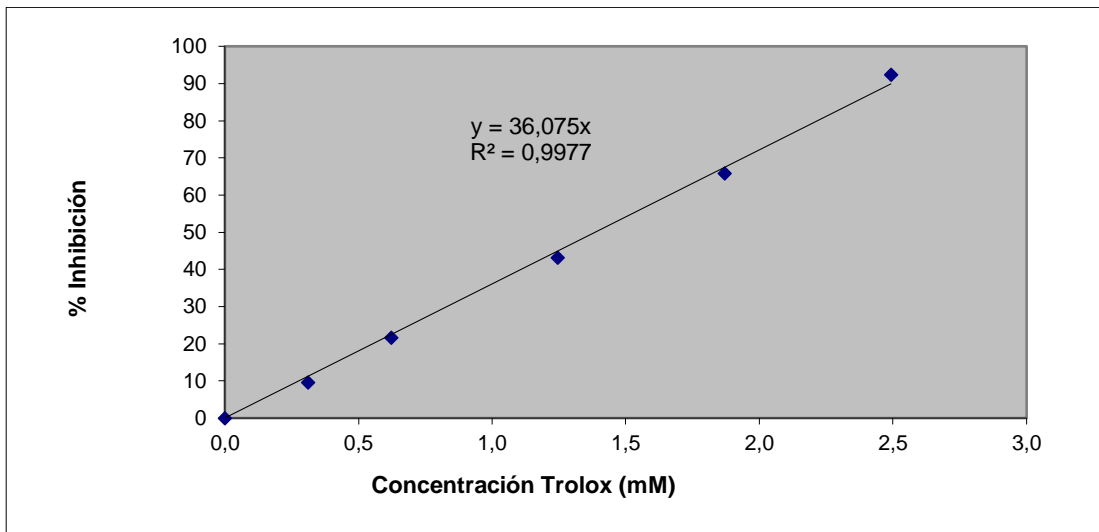
amb 141,00 6 2,01 A

refri 138,82 4 2,47 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO XXII

CURVA DE CALIBRACIÓN DE TROLOX PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE



A-XXII Figura 2. Curva de calibración de Trolox utilizada para la determinación de la capacidad antioxidante mediante el método TEAC

A-XXII Tabla 13. Diluciones patrón del patrón Trolox

Concentración de Trolox (mM)	Promedio % Inhibición
0	0.0
0.31	9.58
0.62	21.68
1.25	43.26
1.87	65.89
2.49	92.36

ANEXO XXIII

MEDICIONES DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

A-XXIII Tabla 14. Mediciones realizadas durante la determinación de la capacidad antioxidante mediante el método TEAC de las muestras de vino de flor de jamaica en el almacenamiento

Muestras	Absorbancia inicial (reactivo ABTS)	Absorbancia (6 minutos)	Equivalente mM Trolox/100 mL muestra)	Error (%)	Inhibición (%)
Cálices frescos de jamaica	0,700 ± 0.012	0,433 ± 0.011	4.708 ± 0.471	10.00	38.18
Mosto inicial	0.696 ± 0.002	0.582 ± 0.004	4.560 ± 0.174	3.81	16.451
Vino previo al decantado	0.686 ± 0.007	0.440 ± 0.002	8.085 ± 0.013	0.16	35.879
Vino clarificado	0.686 ± 0.003	0.483 ± 0.006	8.213 ± 0.240	2.92	29.630
Almacenamiento día 0	0.696 ± 0.003	0.483 ± 0.006	8.213 ± 0.240	2.92	29.630
Ambiente día 7	0.696 ± 0.008	0.517 ± 0.006	7.143 ± 0.453	6.34	27.496
Refrigeración día 7	0.692 ± 0.004	0.502 ± 0.009	7.622 ± 0.522	6.85	25.768
Ambiente día 14	0.685 ± 0.002	0.495 ± 0.002	7.694 ± 0.008	0.11	27.757
Refrigeración día 14	0.693 ± 0.003	0.525 ± 0.010	6.733 ± 0.236	3.51	24.289

n=2 ± Desviación estándar

ANEXO XXIV
ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE
DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA DURANTE EL
ALMACENAMIENTO

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE
DURANTE LOS PROCESOS DE VINIFICACIÓN Y DECANTACIÓN

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Capacidad Antioxidante	8	1,00	1,00	2,10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	86,53	4	21,63	596,81	0,0001
MUESTRA	86,48	3	28,83	795,29	0,0001
RÉPLICA	0,05	1	0,05	1,40	0,3220
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	0,11	3	0,04		
Total	86,64	7			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,91874

Error: 0,0362 gl: 3

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
Flor	13,74	2	0,23	A
vino previo decant	9,67	2	0,23	B
vino clarificado	8,21	2	0,23	C
mosto inicial	4,56	2	0,23	D

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,42843

Error: 0,0362 gl: 3

RÉPLICA	Medias	n	E.E.	
2,00	9,13	4	0,16	A
1,00	8,97	4	0,16	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,42843

Error: 0,0362 gl: 3

RÉPLICA	Medias	n	E.E.
2,00	9,13	4	0,16 A
1,00	8,97	4	0,16 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,42843

Error: 0,0362 gl: 3

TIEMPO	Medias	n	E.E.
0,00	9,05	8	0,12 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,42843

Error: 0,0362 gl: 3

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.
amb	9,05	8	0,12 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DURANTE EL ALMACENAMIENTO

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Capacidad Antioxidante	10	0,81	0,58	5,13

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	2,55	5	0,51	3,47	0,1260
MUESTRA	2,55	4	0,64	4,33	0,0924
RÉPLICA	1,3E-03	1	1,3E-03	0,01	0,9297
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	0,59	4	0,15		
Total	3,14	9			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,70609

Error: 0,1473 gl: 4

MUESTRA	Medias	n	E.E.
Almacén día 0	8,21	2	0,54 A
almacen 14 amb	7,69	2	0,54 A
almacen 7 amb	7,62	2	0,54 A
almacen 7 ref	7,14	2	0,54 A
almacen 14 ref	6,73	2	0,54 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,67390

Error: 0,1473 gl: 4

RÉPLICA	Medias	n	E.E.
2,00	7,49	5	0,34 A
1,00	7,47	5	0,34 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=1,11677

Error: 0,1473 gl: 4

TIEMPO	Medias	n	E.E.
0,00	8,21	2	0,54 A
7,00	7,38	4	0,38 A
14,00	7,21	4	0,38 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,68779

Error: 0,1473 gl: 4

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.
amb	7,84	6	0,31 A
refri	6,94	4	0,38 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DEL RADICAL ABTS DURANTE EL ALMACENAMIENTO

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
%Inhibición	10	0,81	0,58	5,13

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	33,21	5	6,64	3,46	0,1262
MUESTRA	33,20	4	8,30	4,33	0,0925
RÉPLICA	0,02	1	0,02	0,01	0,9288
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	7,67	4	1,92		
Total	40,89	9			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=6,15652

Error: 1,9178 gl: 4

MUESTRA	Medias	n	E.E.
Almacén día 0	29,63	2	1,96 A
almacen 14 amb	27,76	2	1,96 A
almacen 7 amb	27,50	2	1,96 A
almacen 7 ref	25,77	2	1,96 A
almacen 14 ref	24,29	2	1,96 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,43179

Error: 1,9178 gl: 4

RÉPLICA	Medias	n	E.E.	
2,00	27,03	5	1,24	A
1,00	26,95	5	1,24	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=4,02991

Error: 1,9178 gl: 4

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
0,00	29,63	2	1,96	A
7,00	26,63	4	1,38	A
14,00	26,02	4	1,38	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=2,48193

Error: 1,9178 gl: 4

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.	
amb	28,29	6	1,13	A
refri	25,03	4	1,38	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANEXO XXV

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DEL ESTUDIO SENSORIAL DE ACEPTABILIDAD GLOBAL DEL VINO DE FLOR DE JAMAICA DURANTE EL ALMACENAMIENTO

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA APARIENCIA

Análisis de la varianza

Variable	N	R ^s	R ^s Aj	CV
Apariencia	600	0,19	0,02	11,84

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	99,11	102	0,97	1,11	0,2421
MUESTRA	3,84	2	1,92	2,19	0,1132
REPLICA	0,11	1	0,11	0,12	0,7276
PANELISTA	95,16	99	0,96	1,09	0,2672
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	436,38	497	0,88		
Total	535,49	599			

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,21994

Error: 0,8780 gl: 497

MUESTRA	Medias	n	E.E.
Alm 14 AMB	8,01	200	0,07 A
almacen 0	7,93	200	0,07 A
Alm 14 REF	7,81	200	0,07 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test: Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15014

Error: 0,8780 gl: 497

REPLICA	Medias	n	E.E.
2	7,93	300	0,05 A
1	7,90	300	0,05 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15924

Error: 0,8780 gl: 497

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
0	7,93	200	0,07	A
14	7,91	400	0,05	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15924

Error: 0,8780 gl: 497

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.	
Amb	7,97	400	0,05	A
Refrig	7,81	200	0,07	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL COLOR

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
color	600	0,18	0,01	12,43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	105,87	102	1,04	1,07	0,3104
MUESTRA	0,37	2	0,19	0,19	0,8260
LOTE	1,7E-03	1	1,7E-03	1,7E-03	0,9669
PANELISTA	105,50	99	1,07	1,10	0,2540
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	480,80	497	0,97		
Total	586,67	599			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,23086

Error: 0,9674 gl: 497

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
Alm 14 AMB	7,94	200	0,07	A
Alm 14 REF	7,93	200	0,07	A
almacen 0	7,88	200	0,07	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,15759

Error: 0,9674 gl: 497

LOTE	Medias	n	E.E.	
1,00	7,92	300	0,06	A
2,00	7,91	300	0,06	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,16715

Error: 0,9674 gl: 497

TIEMPO	Medias	n	E.E.
14,00	7,93	400	0,05 A
0,00	7,88	200	0,07 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,16715

Error: 0,9674 gl: 497

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.
Refrig	7,93	200	0,07 A
Amb	7,91	400	0,05 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL OLOR

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Olor	600	0,24	0,08	16,10

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	223,38	102	2,19	1,50	0,0028
MUESTRA	29,77	2	14,89	10,18	<0,0001
REPLICA	0,67	1	0,67	0,46	0,4998
PANELISTA	192,94	99	1,95	1,33	0,0263
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	726,56	497	1,46		
Total	949,94	599			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,28380

Error: 1,4619 gl: 497

MUESTRA	Medias	n	E.E.
Alm 14 AMB	7,79	200	0,09 A
almacen 0	7,50	200	0,09 B
Alm 14 REF	7,25	200	0,09 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,19373

Error: 1,4619 gl: 497

REPLICA	Medias	n	E.E.
1	7,54	300	0,07 A
2	7,48	300	0,07 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes (p > 0,05)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,20548

Error: 1,4619 gl: 497

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
14	7,52	400	0,06	A
0	7,50	200	0,09	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,20548

Error: 1,4619 gl: 497

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.	
Amb	7,64	400	0,06	A
Refrig	7,25	200	0,09	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DEL SABOR

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Sabor	600	0,27	0,12	13,25

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	202,91	102	1,99	1,79	<0,0001
MUESTRA	72,75	2	36,38	32,78	<0,0001
REPLICA	0,33	1	0,33	0,29	0,5877
PANELISTA	129,83	99	1,31	1,18	0,1301
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	551,59	497	1,11		
Total	754,50	599			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,24728

Error: 1,1098 gl: 497

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
Alm 14 AMB	8,30	200	0,07	A
almacen 0	8,08	200	0,07	A
Alm 14 REF	7,48	200	0,07	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,16879

Error: 1,1098 gl: 497

REPLICA	Medias	n	E.E.	
1	7,97	300	0,06	A
2	7,93	300	0,06	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,17903

Error: 1,1098 gl: 497

TIEMPO	Medias	n	E.E.	
0	8,08	200	0,07	A
14	7,89	400	0,05	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,17903

Error: 1,1098 gl: 497

TEMPERATURA	Medias	n	E.E.	
Amb	8,19	400	0,05	A
Refrig	7,48	200	0,07	B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) DE LA ACEPTABILIDAD GLOBAL

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
accept global	600	0,26	0,11	10,57

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo I)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo.	122,15	102	1,20	1,69	0,0001
MUESTRA	36,85	2	18,43	26,02	<0,0001
LOTE	0,01	1	0,01	0,02	0,8843
PANELISTA	85,29	99	0,86	1,22	0,0935
TIEMPO	0,00	0	0,00	sd	sd
TEMPERATURA	0,00	0	0,00	sd	sd
Error	351,97	497	0,71		
Total	474,12	599			

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,19752

Error: 0,7082 gl: 497

MUESTRA	Medias	n	E.E.	
Alm 14 AMB	8,24	200	0,06	A
almacen 0	8,02	200	0,06	B
Alm 14 REF	7,64	200	0,06	C

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,13483

Error: 0,7082 gl: 497

LOTE	Medias	n	E.E.	
1,00	7,97	300	0,05	A
2,00	7,96	300	0,05	A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,14301

Error: 0,7082 gl: 497

TIEMPO Medias n E.E.

0,00 8,02 200 0,06 A

14,00 7,94 400 0,04 A

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)

Test:Tukey Alfa=0,05 DMS=0,14301

Error: 0,7082 gl: 497

TEMPERATURA Medias n E.E.

Amb 8,13 400 0,04 A

Refrig 7,64 200 0,06 B

Medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0,05$)