

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA



Evaluación de la eficacia del carbón vegetal activado y la gelatina como agentes clarificantes, y sus efectos en la limpidez del vino de piña (*Ananas comosus*)

POR:

PEDRO ALBERTO HERNÁNDEZ CRUZ

SARA ANABEL MEJÍA ARTEAGA

SAÚL ALFREDO VÁSQUEZ REYES

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE:

INGENIERO(A) AGROINDUSTRIAL

CIUDAD UNIVERSITARIA, MAYO DE 2016

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR INTERINO:

LIC. JOSÉ LUIS ARGUETA ANTILLÓN

SECRETARIA GENERAL:

DRA. ANA LETICIA ZAVALETA DE AMAYA

FACULTAD DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

DECANO:

ING. AGR. MAG. SC. JUAN ROSA QUINTANILLA QUINTANILLA

SECRETARIO:

ING. AGR. MAG. SC. LUIS FERNANDO CASTANEDA ROMERO

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AGRICOLA

ING. AGR. OSCAR MAURICIO CARRILLO TURCIOS

DOCENTE DIRECTOR

LIC. MAG. SC. NORBIS SALVADOR SOLANO MELARA

COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN

ING. AGR. JUAN MILTON FLORES TENSOS

RESUMEN

El estudio “Evaluación de la eficacia del carbón vegetal activado y la gelatina como agentes clarificantes, y sus efectos en la limpidez del vino de piña (*Ananas comosus* L)” se desarrolló en la Estación Experimental y de Prácticas (EEP) de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, ubicada en el Municipio de San Luis Talpa del Departamento de La Paz, en donde se elaboraron 75 litros de mosto para la fermentación y obtención del vino como materia prima para realizar la investigación.

Se evaluó la eficacia de carbón vegetal activado y la gelatina como agentes clarificantes en la limpidez del vino de piña (*Ananas comosus* L), a fin de estudiar los aspectos que permitan la obtención de una bebida límpida a un nivel de confianza del 5% ($p \leq 0.05$). Se determinó la densidad, contenido de extracto seco, cenizas, y transmitancia previo y posterior a la clarificación; lo cual permitió estimar la eficacia de los agentes clarificantes en estudio a fin de determinar el mejor agente clarificante para vino de piña.

La investigación se realizó de agosto 2015 a febrero 2016, regida por el método hipotético deductivo; obteniendo como principales hallazgos que ambos agentes clarificantes produjeron similares efectos en la eficacia de la clarificación del vino, obteniendo un aumento de la transmitancia considerándose tres longitudes de onda (445 nm, 495 nm y 550 nm). No obstante, la dosis de gelatina 0.2 g/L y la dosis de carbón vegetal activado 0.1 g/L se comportaron diferentes entre sí y similar al resto. Independientemente del agente clarificante utilizado, se mejoró considerablemente la limpidez (transmitancia) del vino de piña y los demás parámetros físicos evaluados: densidad, extracto seco y cenizas.

Palabras clave: vino, piña, carbón vegetal activado, gelatina, clarificante, eficacia, limpidez.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
1. Introducción.....	1
2. Revisión bibliográfica.....	2
2.1 El cultivo de piña.....	2
2.1.1 Descripción botánica.....	2
2.1.2 Importancia.....	2
2.1.3 Composición Nutricional.....	2
2.1.4 Industrialización de la piña.....	3
2.1.5 Potencial de comercialización.....	3
2.2 El vino.....	4
2.3 Clasificación de los vinos.....	4
2.3.1 Vino tinto.....	4
2.3.2 Vino blanco.....	4
2.3.3 Vino de postre.....	5
2.3.4 Vinos espumosos.....	5
2.3.5 Vino de frutas.....	5
2.4 Proceso de elaboración del vino.....	5
2.4.1 Elaboración de mostos.....	6
2.4.2 Fermentación alcohólica.....	7
2.4.3 Visualización del proceso fermentativo.....	8
2.4.4 Clarificación de vinos.....	8
2.5 Clasificación de los agentes clarificantes.....	8
2.5.1 Clarificantes no proteicos.....	9
2.5.1.1 Polímeros sintéticos.....	10
2.5.1.2 Fitatos.....	10
2.5.1.3 Ferrocianuro potásico.....	10
2.5.1.4 Dióxido de silicio.....	11
2.5.1.5 Bentonita.....	11
2.5.1.6 Carbones.....	12
2.5.2 Clarificantes proteicos: encolado.....	13
2.5.2.1 Colas de pescado o ictiocolas.....	13
2.5.2.2 Albúmina y clara de huevo.....	13
2.5.2.3 Leche y caseína.....	14

2.5.2.4	Productos derivados de la sangre	14
2.5.2.5	Gelatina	14
2.6	Dinámica coloidal de los vinos	15
2.6.1	Clasificación de los sistemas dispersos	15
2.6.2	Estado coloidal	16
2.6.3	Diferentes tipos de coloides	17
2.6.3.1	Coloides micelares	17
2.6.3.2	Coloides macromoleculares	17
2.6.4	Propiedades de los coloides	18
2.6.5	Cargas eléctricas de las partículas coloidales	19
2.6.6	Reactividad de los coloides	19
2.6.7	Estabilidad y floculación de los coloides	20
2.6.8	Floculación mutua de los coloides	20
2.6.9	Fenómenos de adsorción	20
2.7	Limpidez de los vinos	21
2.7.1	Problemas relacionados con la limpidez	21
2.7.2	Observación de la limpidez	22
3.	Materiales y métodos	23
3.1	Descripción del estudio	23
3.1.1	Por el propósito	23
3.1.2	Por los niveles de profundidad	23
3.1.3	Por el lugar de ejecución	23
3.1.4	Por el tratamiento de las variables	24
3.2	Metodología de campo	24
3.2.1	Preparación y elaboración del mosto	24
3.2.2	Elaboración del vino	25
3.2.3	Aplicación de gelatina	26
3.2.4	Aplicación de carbón activado	27
3.2.5	Extracción de las muestras	27
3.3	Metodología de laboratorio	28
3.3.1	Determinación de extracto seco por evaporación	28
3.3.2	Determinación de cenizas	29
3.3.3	Determinación de densidad por el método de pesado	30

3.3.4	Transmitancia	30
3.4	Metodología estadística	31
4.	Resultados y discusión	34
4.1	Resultados relacionados al mosto de piña.....	34
4.2	Resultados relacionados al vino de piña.....	35
4.2.1	Densidad	35
4.2.2	Extracto seco	37
4.2.3	Cenizas.....	38
4.2.4	Transmitancia	39
4.2.4.1	Eficacia de transmitancia	44
4.2.5	Análisis de correlación	50
4.2.6	Análisis de regresión lineal	51
5.	Conclusiones	53
6.	Recomendaciones	55
7.	Bibliografía.....	56
8.	Anexos	59

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Clasificación de los sistemas dispersos	16
Cuadro 2. Distribución de tratamientos y repeticiones.....	26
Cuadro 3. Composición de los tratamientos (clarificante-dosis)	31
Cuadro 4. Estructura del Análisis de Varianza	32
Cuadro 5. Resumen de densidades de acuerdo al tipo de agente clarificante (g/mL)	35
Cuadro 6. Resumen de densidades de acuerdo a la dosis de clarificante (g/mL)	36
Cuadro 7. Resumen de extracto seco de acuerdo al tipo de agente clarificante (%)	37
Cuadro 8. Resumen de extracto seco de acuerdo a la dosis de clarificante (%)	37
Cuadro 9. Resumen de cantidad de cenizas de acuerdo al tipo de agente clarificante (%)	38
Cuadro 10. Resumen del contenido de cenizas de acuerdo a la dosis de clarificante (%)	39
Cuadro 11. Resumen de los porcentajes de transmitancia según la longitud de onda para vino sin clarificar.....	40
Cuadro 12. Resumen de los porcentajes de transmitancia a las tres longitudes de onda de acuerdo a los agentes clarificantes.....	40
Cuadro 13. Resumen de los porcentajes de transmitancia a las tres longitudes de onda de acuerdo a las dosis de agente clarificante (%).....	41
Cuadro 14. Resumen de la eficacia en el aumento de la transmitancia a las tres longitudes de onda de acuerdo al tipo de agente clarificante (%).....	44
Cuadro 15. Resumen de la eficacia en el aumento de la transmitancia a las tres longitudes de onda de acuerdo a las dosis de agente clarificante (%)	45
Cuadro 16. Prueba de T para muestras independientes – Eficacia en el aumento de la transmitancia a 445 nm, 495nm y 550 nm - Agentes clarificantes	47
Cuadro 17. Análisis de la varianza multivariante según Roy de acuerdo a los agentes clarificantes – Eficacia en el aumento de la transmitancia a 445, 495 y 550 nm	48

Cuadro 18. Análisis de la varianza multivariante según Roy de acuerdo a la dosis de agentes clarificantes – Eficacia en el aumento de la transmitancia a 445, 495 y 550 nm.....	49
Cuadro 19. Prueba a posteriori según Hotelling de acuerdo a la dosis de agentes clarificantes - Eficacia en el aumento de la transmitancia a 445, 495 y 550 nm	49
Cuadro 20. Análisis de correlación entre la densidad y la transmitancia para el carbón activado.....	50
Cuadro 21. Análisis de correlación entre la densidad y la transmitancia para la gelatina	50
Cuadro 22. Análisis de regresión lineal según agente clarificante: carbón activado – Densidad (X) y transmitancia (Y).....	51
Cuadro 23. Análisis de regresión lineal según agente clarificante gelatina – Densidad (X) y transmitancia (Y).....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Zonas de muestreo en el cilindro de vino y análisis de laboratorio correspondiente	27
Figura 2. Número de burbujas por minuto durante la fermentación	34
Figura 3. Resumen de las medias de los porcentajes de transmitancia según los clarificantes a tres longitudes de onda	43
Figura 4. Resumen de los valores de la eficacia en el aumento de la transmitancia según los clarificantes a tres longitudes de onda (%)	47
Figura 5. Resumen de los valores de la eficacia en el aumento de la transmitancia a 445, 495 y 550 nm de acuerdo a las dosis y tipo de agente clarificante	48

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Figura A- 1. Proceso de elaboración de vino de piña	60
Figura A- 2. Tacho de fermentación e inóculo de levaduras.....	60
Figura A- 3. Registro de temperatura en °C durante la fermentación alcohólica.....	61
Figura A- 4. Almacenamiento de muestras en Laboratorio de Química Agrícola.....	61
Figura A- 5. Aforo de balón volumétrico en análisis de densidad	62
Figura A- 6. Dosificación de muestra para análisis de extracto seco.....	62
Figura A- 7. Cápsulas de porcelana utilizadas para análisis de cenizas.....	63
Cuadro A- 8. Prueba de T para porcentaje de ceniza según el agente clarificante	63
Figura A- 9. Análisis de transmitancia	63
Figura A- 10. Destilación del vino de piña	64
Cuadro A- 11. Variables independientes.....	63
Cuadro A- 12. Variable dependiente	64
Cuadro A- 13. Eficacia de variable dependiente	68

1. Introducción

Los progresos tecnológicos y el desarrollo de nuevos estudios en la enología han permitido mejorar considerablemente la calidad visual de los vinos. La química del vino aborda los tratamientos de clarificación y plantea una clasificación general como agentes clarificantes proteicos y no proteicos dependiendo del tipo de taninos presentes en el mosto fermentado. Desde hace mucho tiempo, se ha utilizado el encolado como un tratamiento eficaz para clarificar vinos tintos. La gelatina, por ser una estructura proteica reacciona con la materia fenólica en suspensión y se desarrolla un movimiento de cargas eléctricas positivas y negativas que se atraen entre sí desarrollando agregados que sedimentan por su peso, mientras que el carbón activado es un material no proteico que mediante su porosidad desarrolla fenómenos de adsorción en presencia de la materia fenólica del vino la cual es llevada al fondo del recipiente por efecto de arrastre (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

El vino no clarificado es un sistema coloidal que está constituido por micelas y una fase continua, mantenidas dispersas por un conjunto de fuerzas fisicoquímicas. La clarificación genera la floculación de la materia que produce la turbidez en el vino, luego se realiza la decantación para finalmente obtener la limpidez de la bebida. La limpidez es una de las cualidades que el consumidor exige en un vino, tanto en la botella como en la copa. La limpidez se obtiene luego de aplicar un eficaz tratamiento de clarificación en el vino, el cual permite remover la materia coloidal suspendida en la solución o medio (Badui 2013).

Se evaluó la eficacia de carbón vegetal activado y la gelatina como agentes clarificantes en la limpidez del vino de piña (*Ananas comosus* L), a fin de estudiar los aspectos que permitan la obtención de una bebida límpida. Se determinó la densidad, contenido de extracto seco, cenizas, y transmitancia previo y posterior a la clarificación; lo cual permitió estimar la eficacia de los agentes clarificantes en estudio a fin de determinar el mejor agente clarificante para vino de piña.

La fase de campo se desarrolló en la Estación Experimental y de Prácticas de la Universidad de El Salvador, ubicada en el Municipio de San Luis Talpa, Departamento de La Paz entre agosto y septiembre de 2015. La fase de laboratorio se desarrolló en el Laboratorio de Química Agrícola de la facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador entre octubre y diciembre de 2015.

2. Revisión bibliográfica

2.1 El cultivo de piña

La piña es una fruta nativa de Sudamérica, la cual se ha extendido a varios países tropicales. Los principales países productores son Hawái, Las Filipinas, Taiwán, México, Puerto Rico entre otros (Murillo s.f.).

2.1.1 Descripción botánica

En términos agronómicos, la piña es una monocotiledónea herbácea, que madura su fruto a los 18 o 22 meses después de plantada. Cada planta produce una sola fruta compuesta sobre su vástago central. Cerca de un año después la planta producirá retoños axilares (Murillo s.f.).

2.1.2 Importancia

En El Salvador el área sembrada de piña es de aproximadamente 650 mz, distribuidas en las zonas piñeras por tradición: Santa María Ostuma, Ciudad Barrios, Chalchuapa, Cojutepeque y Jiquilisco. La producción en estas zonas no es suficiente para satisfacer la demanda nacional, volviendo necesario mejorar las técnicas de manejo e incrementar las áreas de siembra (CENTA 2011).

La piña como planta tropical exige condiciones climáticas propias de nuestra región, y es de los frutales de importancia económica para El Salvador. Actualmente, la variedad Golden (MD-2), se considera en el mercado nacional e internacional como la mejor cotizada, debido a que posee características de color, aroma y sabor que superan a las otras variedades (CENTA 2011).

2.1.3 Composición Nutricional

La piña es una fruta rica en azúcares, vitaminas del grupo A, B, C y E, sales minerales y ácidos orgánicos. Además, es rica en ácido málico, cítrico y ascórbico; sales minerales de calcio, fósforo y hierro; glúcidos como sacarosa, glucosa y levulosa (CENTA 2011).

2.1.4 Industrialización de la piña

La piña se comercializa tanto como fruta fresca como procesada. Previo al procesamiento las plantas industriales rechazarán frutas magulladas, con corazón mal formado, con doble o triple corona. La porosidad debe ser mínima y la relación de grados Brix y acidez debe ser cercana a 20. El porcentaje de acidez puede estar alrededor de 0.75% (Murillo s.f.).

Según Murillo (s.f.) los productos obtenidos de la industrialización de la piña pueden ser los siguientes:

- **Néctar:** el néctar es el producto que se obtiene de la mezcla del jugo de la fruta con cierta cantidad de sólidos provenientes de pulpa de la fruta con los mismos grados Brix de la fruta original.
- **Jalea y mermelada:** entran dentro del grupo de conservas de frutas las cuales se definen como un producto semisólido preparado a partir de la mezcla de 45 partes de fruta lista para procesar con 55 partes de azúcar.
- **Jugo:** el jugo se obtiene a partir de una trituración de trozos de fruta, seguida de una separación de las partes sólidas por algún método de filtración adecuado.
- **Piña envasada:** es el producto obtenido a partir del troceado de la sección de la piña que queda de eliminar la base, la corona y la cáscara.
- **Piña deshidratada:** este producto se obtiene de la eliminación controlada de la mayor parte del agua libre de la piña.

Además, según Palencia (2016) actualmente cooperativas productoras de piña en Santa María Ostuma están iniciando con la elaboración y posterior comercialización del vino de piña en ferias de exposición de productos¹.

2.1.5 Potencial de comercialización

Actualmente se conocen más de 1,400 variedades de piña. Las más comunes en El Salvador son Piña de Castilla, Piña Golden (MD2), Azucarón, pero en los mercados

¹ Palencia, E. 2016. Productores de vino de piña (correo electrónico). San Salvador, SV. IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura).

internacionales existen otras como Cayena Lisa (Smooth Cayenne), Española Roja, entre otras (CENTA 2013).

Según CENTA (2013) en el mercado mayorista, la piña se comercializa en cien unidades. La piña Golden (MD2) registra un mayor precio a la de azúcarón. En el 2010, el precio promedio ascendió a \$103.08 por 100 unidades; el cual disminuyó con respecto al promedio del 2009 en 4%, cuando se registró un precio al mayorista promedio de \$107.33 el ciento. Según los índices de estacionalidad, los precios más altos se registran a partir de septiembre hasta diciembre. Mientras que el precio disminuye por debajo del promedio a partir de mayo hasta julio.

2.2 El vino

El vino es una bebida alcohólica elaborada a partir de la fermentación del zumo de uva fresca (*Vitis vinifera*). Los vinos elaborados del zumo de otras especies vegetales deben ser declarados como tal en relación al nombre de la fruta de la cual se elaboran. Por ejemplo: Vino de piña (González 2013).

2.3 Clasificación de los vinos

A nivel mundial existen distintas clasificaciones del vino según diferentes criterios, incluso, las clasificaciones pueden variar de país a país. Según Ribéreau-Gayon *et al.* (2003), Vogt (1972) y Gonzales (2013) la clasificación de los vinos puede ser:

2.3.1 Vino tinto

El vino tinto es un vino de maceración, la fermentación alcohólica del jugo se ve acompañada por la disolución de los constituyentes de las partes sólidas del racimo que conforma el orujo (películas, semillas, eventualmente escobajos).

2.3.2 Vino blanco

Los vinos blancos provienen de la fermentación únicamente del jugo de la uva. De esta forma en la elaboración de vinos blancos, la extracción de mostos y su clarificación más o

menos profunda precede siempre de la fermentación alcohólica. No se trata del color de las uvas, sino de la ausencia de maceración en la fase alcohólica de la vendimia, lo que distingue la vinificación en blanco de la vinificación en tinto.

2.3.3 Vino de postre

Los vinos de postre implican la adición de uvas pasas, jugos de uva y alcohol; todo vino de postre destaca por su alto grado alcohólico, por su graduación granulométrica, un sabor característico poco común y un olor generalmente exquisito.

2.3.4 Vinos espumosos

Son vinos cuya efervescencia resulta de una fermentación alcohólica conducida en vaso cerrado, la gasificación artificial se da por saturación de dióxido de carbono.

2.3.5 Vino de frutas

Según González (2013) la expresión vino de frutas ha sido desde hace muchos años centro de ataque por parte de consumidores y productores de los vinos tradicionales, toda vez que no reconocen el empleo del vocablo vino fuera del contexto de la uva. En la mayoría de las legislaciones el término vino está reservado para el producto obtenido por fermentación del jugo de uvas, mientras que vino de frutas está referido, obviamente, al elaborado a partir de cualquier fruta exceptuando la uva (*Vitis vinifera*). Además, se establece como obligación indicar el origen del jugo de frutas, por ejemplo, “vino de fresas”, “vino de moras”, “vino de manzana”, entre otros.

2.4 Proceso de elaboración del vino

El proceso de vinificación inicia con la recepción de la uva, o los frutos que darán origen al vino; continuando con las dos grandes etapas de transformación físico-químicas que darán origen al vino como producto terminado: la elaboración del mosto y la fermentación alcohólica (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

2.4.1 Elaboración de mostos

En la vinificación, el proceso de las operaciones pre-fermentarias, es decir, la elaboración del mosto es determinante en la calidad del producto final. Su rol es múltiple en un período de tiempo limitado y minimizando las pérdidas de líquidos, deben extraerse y clarificarse los jugos, pero también en ese momento, deben favorecer la difusión en los mostos de algunos constituyentes de las películas, en particular los aromas frutados. Simultáneamente hay que limitar la disolución de los compuestos con aromas herbáceos o sabores amargos, se debe evitar también la formación de sustancias que puedan afectar la estabilidad de los aromas frutales extraídos, en particular los compuestos fenólicos oxidados u oxidables, que posean la capacidad de captar ciertos aromas (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

Factores determinantes de la calidad y el valor del zumo de uva son: el peso específico del mosto y su densidad. A medida que aumenta el peso específico de un zumo de uva o de fruta, aumenta el contenido en azúcares y el grado alcohólico del vino que de este mosto se elabora. Los zumos de uva y de fruta siempre pesan más que el agua, cuya densidad (peso específico) presenta siempre el valor de 1,000 g/L a 4 °C. Un mosto de calidad mediana tiene una densidad de 1,080 g/L; un mosto excelente, 1,100 g/L. Por consiguiente, un litro de estos mostos pesa 1,080 g y 1,100 g respectivamente, es decir, 80 g y 100 g, más que el agua. La determinación práctica del peso específico se lleva a cabo mediante un densímetro que indica el peso expresado en grados Ochsle, correspondiendo 1 °Ochsle a la densidad de 1,001 g/L. En otras palabras, un mosto con el peso específico de 1,080 g/L, presenta 80 °Ochsle; un mosto de 100 °Ochsle, tendrá un peso específico de 1,100 g/L (Vogt 1972).

A menudo se dice que el oxígeno es el principal enemigo del vino, es por ello que los vinos, principalmente los vinos blancos, se mantienen al abrigo más o menos completo del oxígeno, o al menos limitando los fenómenos oxidativos durante su elaboración. Estas acciones tienen como fin proteger los aromas frutados del vino joven y evitar el amarronamiento de su color (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

Según Ribéreau-Gayon *et al.* (2003) algunas técnicas de protección de los mostos contra la oxidación son:

- Sulfitado con acción antioxidante de los mostos.

- Adición de ácido ascórbico por su efecto antioxidante.
- Enfriamiento de los mostos que actúa sobre la velocidad de las reacciones de oxidación.
- Calentamiento del mosto a 60 °C que permite la destrucción de las oxidasas.
- Decantado del mosto que elimina una parte de la actividad tirosinada asociada a las partes sólidas y limita la actividad oxidásica del mosto.

2.4.2 Fermentación alcohólica

La fermentación del azúcar es un proceso químico activado por un fermento enzimático o enzima (zimasa), cuyos productos finales son el alcohol etílico y el dióxido de carbono, pero durante la fermentación se producen numerosas sustancias intermedias, como la glicerina, ácido succínico, ácidos volátiles y acetaldehído (Vogt 1972).

Según Vogt (1972) en el transcurso de la fermentación alcohólica hay que distinguir las siguientes seis etapas:

- I. Esterificación del azúcar fermentable en éster del ácido hexosadifosfórico (fosforilización).
- II. Escisión de las hexosas en dos moléculas de éster del ácido triosafosfórico.
- III. Oxido-reducción por formación de éster del ácido glicerofosfórico y de éster del ácido fosfoglicérico.
- IV. El ácido fosfórico queda libre bajo la acción de la enzima enolasa y se forma el ácido pirúvico (desfosforilación).
- V. Descomposición del ácido pirúvico dejando en libertad dióxido de carbono y formándose acetaldehído (descarboxilación).
- VI. Reducción de acetaldehído a alcohol etílico.

Desde el inicio de la fermentación el azúcar proporcionado por la materia prima en cuestión, es la fuente de intermediarios biosintéticos, así como también de energía para las levaduras, teniendo presente que no todo el azúcar es convertido en etanol. Esto conduce, por lo tanto, a una disminución en la producción de etanol, en la que una producción realista teórica sería del 95%, y una producción buena práctica del 90%.

Los cambios ocurridos a los carbohidratos que son los sustratos de los microorganismos deben llevarse a cabo en condiciones de incubación que permitan a los microorganismos

llevar a cabo su labor, se puede mencionar que la fermentación es una fase trascendental en la elaboración de vinos, que depende de muchos aspectos que requieren de atención, tales como los tratamientos previos a los que es sometido el mosto, la preparación del inóculo de levaduras seleccionadas, la cantidad de SO_2 agregado y la temperatura (Scheihing 2005).

2.4.3 Visualización del proceso fermentativo

El progreso de la fermentación puede ser monitoreado visualmente observando la tasa de evolución del dióxido de carbono, pero más confiablemente por determinación del peso específico o contenido de alcohol de la mezcla (Scheihing 2005).

2.4.4 Clarificación de vinos

Clarificar significa añadir una sustancia reactiva o adsorbente para reducir o eliminar la concentración de uno o más compuestos indeseables causantes del enturbiamiento (Morris y Main 2007). Para comprender la turbidez o limpidez del vino es necesario analizarlo desde la perspectiva de los sistemas coloidales y su interacción con los agentes clarificantes.

2.5 Clasificación de los agentes clarificantes

Según Morris y Main (2007) los agentes clarificantes se pueden agrupar de acuerdo a su naturaleza química y modo de acción en:

- Carbones
- Dióxido de silicio
- Enzimas
- Polímeros sintéticos
- Polisacáridos
- Proteínas
- Quelantes
- Tierras

Según Peynaud (1972) los agentes clarificantes pueden clasificarse de la siguiente manera:

- No proteicos
- Proteicos

Por lo tanto, lo expuesto por Peynaud (1972), tiene relación con planteado por Morris y Main (2007), debido a que el grupo no proteico aglomera a todos los grupos de la primer clasificación excepto a las proteínas. La clarificación de los vinos puede realizarse con cualquiera de los agentes anteriormente descritos, siempre y cuando se tenga como base la dinámica coloidal del vino; no obstante, la utilización de uno de ellos estará determinada por ensayos e investigaciones a fin de obtener los resultados deseados.

Cada tratamiento aplicado, ejercerá su efecto clarificante en el vino por un período de seis días; según Vogt (1972) al aplicar carbón activado y agitar el vino, este debería precipitar los sólidos al cabo de seis a ocho días, sin embargo, cuando el carbón permanece más de ocho días en el vino, ocurre que las sustancias de sabor y olor anteriormente adsorbidas vuelven a disolverse y de esta manera no se lograría la finalidad del procedimiento; por lo que se ha determinado un período de 6 días como tiempo de acción del clarificante sobre el vino.

Mientras que según Ribéreau-Gayon *et al.* (2003) al aplicar gelatina como método de encolado proteico, el trasiego se realiza de 24 a 48 horas posteriores a la aplicación del tratamiento, no obstante, se recomienda agregar al vino una solución electronegativa que permita la reacción eficiente de la materia coloidal. Si esto no es así, el trasiego puede realizarse entre 21 y 35 días trascurrido la aplicación del encolado proteico.

Según Kuskoski *et al.* (2005) la cantidad de materia fenólica total presente en el fruto de uva es de 117.1 ± 0.6 mg/100 g, mientras que el fruto de piña contiene 21.7 ± 4.5 mg/100 g. Debido a la reacción aglutinante y precipitante de la gelatina con la materia fenólica presente en el vino, se toma como base la cantidad de materia fenólica presente en la uva, la cual precipita en 28 días promedio, extrapolando ese dato a la cantidad de materia fenólica presente en el fruto de piña, se obtiene un aproximado de seis días necesarios para la reacción completa de aglutinación y formación de precipitado en el vino de piña.

2.5.1 Clarificantes no proteicos

Los clarificantes no proteicos son todos los agentes cuya forma de acción se basa en la interacción de cargas eléctricas entre las partículas enturbadoras (micelas) y la sustancia clarificante; forman agregados y floculan por su peso. Algunos de ellos también tienen capacidades de adsorción, arrastrando mecánicamente algunos compuestos, también

enturbadores del vino (Badui *et al.* 2013). Los principales agentes clarificantes no proteicos son los siguientes:

2.5.1.1 Polímeros sintéticos

Son agentes clarificantes de alto peso molecular, como la polivinil-polipirrolidona (PVPP) los cuales están formado por monómeros entrecruzados de polivilipirrolidona. Forma complejos con compuestos fenólicos y polifenólicos en vino por adsorción y atrae a las catequinas de bajo peso molecular. Elimina compuestos amargos y precursores del oscurecimiento en vinos rojos y blancos. La PVPP actúa rápidamente sin que necesite preparación. Los vinos se deben filtrar para eliminar la PVPP y pueden parecer más astringentes cuando se eliminan los compuestos amargos. Se usa en niveles de 1 - 6 lb/1000 galones (Morris y Main 2007).

2.5.1.2 Fitatos

Los fitatos, se encuentran en distintas formas comerciales, pero todas tienen como base el ácido fitínico (ácido inositolofosfórico). Este compuesto es utilizado para eliminar el hierro contenido en el vino, causante del enturbiamiento de este por quiebra férrica; precipitándolo en forma de combinaciones complejas difícilmente solubles. Se fabrican preparados de ácido fitínico destinados a la clarificación de vinos, entre ellos: la aferrina, que produce excelentes resultados. Otro preparado de este tipo es el fitato de calcio, utilizado sobre todo en Suiza. Otros productos italianos, como el enofito y purfina, producen resultados igualmente eficaces (Vogt 1972).

No obstante, la sustancia más eficaz en la clarificación de los vinos es el inositolotetrafosfato cálcico. Este producto se elabora a partir de la cola de cereales y en combinación con el calcio fija el hierro trivalente y lo precipita (Vogt 1972).

2.5.1.3 Ferrocianuro potásico

El Dr. Willheim Möslinger famoso enólogo de Neustadt/Weintrasse estudió a mediados del siglo XIX el problema de la quiebra azul del vino, el cual es causado por combinaciones férricas, y, después de numerosos experimentos obtuvo excelentes resultados utilizando el

hexacianoferrato de potasio II (ferrocianuro potásico); con ello logró precipitar el hierro contenido en el vino, en forma de azul de Berlín. Los vinos sometidos a dicho tratamiento adquieren un matiz claro y brillante, además muestran una ausencia total de agentes causantes de la turbidez, aun cuando se han almacenado por largos períodos de tiempo (Vogt 1972).

Dicho compuesto fue aprobado para su uso el 8 de noviembre de 1923 tras numerosas investigaciones y experimentos (Vogt 1972). La clarificación azul (con ferrocianuro potásico) es uno de los métodos más eficaces en la clarificación de los vinos.

2.5.1.4 Dióxido de silicio

Kieselsool es el nombre genérico de una suspensión acuosa de dióxido de silicio. El kieselsool es un subproducto de la industria del vidrio. La mayoría de los kieselsoles se producen en Alemania y se venden como soluciones coloidales al 30%. El uso principal del kieselsool es para la clarificación y como sustituto de taninos durante la clarificación con gelatina de vinos blancos. Los kieselsoles tienen carga negativa y se enlazan electrostáticamente a proteínas con carga positiva que se adsorben e inician la floculación y sedimentación. Existen varias formulaciones de kieselsool disponibles en una variedad de niveles de pH. Los niveles de uso raramente exceden las 10 lb/1000 galones (Morris y Main 2007).

En general, el kieselsool se usa a un rango de 7 veces la cantidad de gelatina. La gelatina se debe añadir primero, y posteriormente se deben hacer pruebas de clarificación para asegurar una sedimentación adecuada (Morris y Main 2007).

2.5.1.5 Bentonita

Las bentonitas son silicatos de aluminio hidratados, compuestos principalmente por montmorillonita de fórmulas simplificadas Al_2O_3 , $4SiO_2$, NH_2O . Contienen además cationes intercambiables (Mg^{2+} , Ca^{2+} , Na^+) que juegan un rol importante en las propiedades físico-químicas y varían en función del origen geográfico. No todas las bentonitas son convenientes para tratar los vinos. Algunas poseen una estructura grosera y confieren al vino defectos organolépticos. Otras, no tienen una capacidad adsorbente y un poder clarificante suficiente (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

Las bentonitas que contienen sodio son las más utilizadas, ya que producen los mejores resultados para el tratamiento de los vinos. El empleo de las arcillas para clarificar y estabilizar los vinos es un procedimiento antiguo. Las dosis de bentonita utilizadas están en el intervalo: 20 g/hL – 50 g/hL (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

2.5.1.6 Carbones

El carbón activado es un agente adsorbente no específico, perteneciente a un grupo de materiales carbonosos hecho a partir de madera (carbón vegetal) o de huesos de animales (carbón animal). El carbón activado es un producto que posee una estructura cristalina reticular similar a la del grafito, la diferencia es que la estructura del carbón activado es menos perfecta. Es extremadamente poroso y puede llegar a desarrollar áreas superficiales del orden de: [500 m²/g - 1,500 m²/g]. El área de superficie del carbón activado varía dependiendo de la materia prima y del proceso de activación. Son las altas temperaturas, la atmósfera especial y la inyección de vapor del proceso de fabricación del carbón activado lo que “activa” y crea la porosidad, dejando mayormente una “esponja” de esqueleto de carbón (Morris y Main 2007).

El carbón vegetal (de madera) en forma pulverizada y sometido a cuidadosos procesos de limpieza, tiene un enorme poder de absorción de sustancias tánicas, materias colorantes, olores y sabores. Es evidente que la superficie tan extensa de dicha sustancia da lugar a la fijación de determinadas materias colorantes, sabores y olores arrastrados del vino junto con el carbón. El poder absorbente del propio carbón activado constituye uno de los factores más valiosos en lo que se refiere al tratamiento y a la corrección de vinos defectuosos. El carbón esponjoso se enlaza con moléculas débilmente polares, especialmente aquellas que contienen anillos de benceno. El carbón elimina efectivamente compuestos fenólicos, especialmente los pequeños. Los compuestos mayores que los dímeros son demasiado grandes para ser adsorbidos (Vogt 1972).

El carbón activado ataca al vino y por ello es conveniente limitar su empleo en dosis mínimas (10 g/hL – 15 g/hL) que deben ser determinadas mediante experimentos previos con cantidades pequeñas. El carbón también contiene una gran cantidad de aire y algunas veces después de añadir el carbón se produce oxidación si éste no se retira rápidamente. La

adición de carbón a jugos en lugar de al vino ayuda a disminuir la oxidación inducida por éste (Peynaud 1972).

2.5.2 Clarificantes proteicos: encolado

El encolado comprende la introducción en el vino de una proteína (cola) cuya floculación arrastra partículas que enturbian el vino y otras que son susceptibles de enturbiarlo. Tiene por lo tanto un efecto clarificante y estabilizante. El encolado es un juego de cargas y descargas de partículas coloidales. El resultado del encolado depende de la descarga recíproca de las partículas presentes. Cuanto más completa sea la descarga, tanto más eficaz es la floculación y la clarificación (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

El término “encolado”, hace referencia a la agregación al vino de un producto proteico que reaccione con la materia coloidal, a fin de clarificar el vino tratado. Tradicionalmente, los productos utilizados para el encolado de vinos son de naturaleza proteica y de origen animal: albumina de huevo, albumina de sangre, caseína (leche), ictiocola (pescado) y gelatinas (colágeno) (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

2.5.2.1 Colas de pescado o ictiocolas

Es un producto bruto, no transformado, proveniente de la vejiga natatoria de ciertos peces, tales como el esturión. Está constituida esencialmente por fibras de colágeno. Su preparación es larga y fastidiosa: hay que dejar hinchar los fragmentos en agua acidulada y sulfitada durante unos diez días en frío, luego tamizarla para obtener una jalea homogénea. Se debe utilizar en seguida después de prepararla. Otorga resultados satisfactorios en lo que concierne a la limpidez y brillo del vino (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

2.5.2.2 Albúmina y clara de huevo

La albúmina de huevo está constituida por varias proteínas que representan el 12.5% del peso de una clara de huevo fresca. La albúmina de huevo es la cola proteica más antigua, desde siempre es presentada como la cola de los grandes vinos tintos; sin embargo, puede adelgazar el vino. Desde el punto de vista coloidal, la albúmina de huevo es una cola que flocula poco, pero que precipita con depósito compacto. Es aconsejada para suavizar los

vinos ricos en taninos, con eventualmente un exceso de astringencia (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

2.5.2.3 Leche y caseína

La caseína, heteroproteína que contiene fósforo, es obtenida por coagulación de la leche descremada. Es una excelente cola para los vinos blancos. Interviene en su color y su sabor “refrescando el producto”. Su floculación se produce exclusivamente bajo la acción de la acidez del medio. La presencia de taninos es necesaria para la precipitación y la clarificación del vino. Esta propiedad es positiva porque evita el sobre-encolado, pero a la vez es negativa pues la utilización de esta cola es bastante delicada (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

2.5.2.4 Productos derivados de la sangre

Es una buena cola para los vinos jóvenes, tintos y blancos. Es enérgica y disminuye el carácter vegetal. Es poco sensible a los coloides protectores y requiere pocos taninos para flocular; por lo tanto, los riesgos de sobre-encolado son reducidos. Los vinos tintos jóvenes, amargos y vegetales, que presentan una estructura tánica suficiente, se suavizan bien. Los vinos blancos vegetales que presentan un aroma pesado e intenso pueden ser afinados por ese encolado con dosis de 5 g/hL^{-1} a 10 g/hL^{-1} . La disolución se realiza en agua fría, con la adición de una pizca de bicarbonato de sodio (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

2.5.2.5 Gelatina

Las gelatinas provienen de la hidrólisis más o menos intensa del colágeno proveniente de las pieles de cerdo y de los huesos de los animales. Se distinguen tres categorías: las gelatinas solubles en caliente, que están compuestas por una mayoría de proteínas de masa molecular elevada; las gelatinas solubles en frío y las gelatinas líquidas que no comprenden proteínas de masa molecular elevada (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

En enología, una propiedad importante de las gelatinas es la presencia de cargas, según Ribéreau-Gayon *et al.* (2003) cuanto más cargada está la gelatina, más activa es con respecto a familias diferentes de taninos negativos. Cuando el vino es rico en compuestos

fenólicos, ese encolado lo suaviza y lo afina, en cambio, cuando el vino es más pobre, esta cola puede endurecerlo y adelgazarlo. En este último caso, una gelatina poco o medianamente cargada está mejor adaptada, pues interviene solamente sobre las moléculas de taninos que están más cargadas y que son más reactivas, sin perturbar demasiado el conjunto de la trama tánica.

Se producen efectos hidrófobos (atracciones de Van der Waals) entre los taninos y las regiones no polares de las proteínas (Martin *et al.* 1990, Haslam, 1993, citado por Ribéreau-Gayon *et al.* 2003). Las interacciones taninos-proteínas dependen de las características de los taninos; tamaño, estructura, carga, entre otros (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

Según Ribéreau-Gayon *et al.* (2003) en la práctica del encolado en vinos, es necesario la activación del agente clarificante previo a su aplicación. El éxito del encolado está ligado a la mezcla rápida de la cola con el vino, es por ello que la dispersión de la cola en toda la masa del vino se hará inmediatamente después de su activación, de lo contrario habría riesgo de que la coagulación termine antes de que la mezcla sea completa.

2.6 Dinámica coloidal de los vinos

Según Badui *et al.* (2013) un coloide consta de una o más fases dispersas o discontinuas, llamadas “micelas”, contenidas en una fase continua o dispersante. Los vinos como solución coloidal, poseen cargas eléctricas ya sea positivas o negativas. Producto de la presencia de cargas iguales contenidas en la fase continúa o medio, no llegan a formar una solución verdadera, en la que se tenga una sola fase homogénea, lo cual evita su agregación y facilita que el vino se mantenga turbio en una manera casi uniforme en su fase dispersante.

2.6.1 Clasificación de los sistemas dispersos

Según Ribéreau-Gayon *et al.* (2003) en función de la dimensión de las partículas, se distinguen las “soluciones ordinarias”, “soluciones coloidales”, y las “suspensiones clásicas” (Cuadro 1). En particular, la dimensión superior de las partículas coloidales está comprendida, según los criterios que se tomen, entre: [0.1 μm y 10 μm].

Las propiedades de las partículas tienen la capacidad de atravesar los filtros ultrafinos y convertirse en partículas no sedimentables, no obstante, las partículas de mayor tamaño no atraviesan los filtros y sedimentan fácilmente (Cuadro 1) (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

Cuadro 1. Clasificación de los sistemas dispersos

	Dimensiones de las partículas	Cantidad aproximada de átomos por partículas	Propiedades de las partículas
Soluciones ordinarias (Dispersiones moleculares)	<2	10^3	Atraviesan los filtros y los ultrafiltros; no son visibles con microscopio o ultramicroscopio; se dispersan en la solución y dializan; no sedimentan.
Soluciones coloidales (Dispersiones)	2 a 1.000	10^3 a 10^9	Atraviesan los filtros, pero no los ultrafiltros; no son visibles con el microscopio; son visibles con el ultramicroscopio; se dispersan difícilmente en la solución y dializan muy lentamente; sedimentan muy lentamente.
Suspensiones clásicas	>1.000	$>10^9$	No atraviesan filtros, son visibles con el microscopio; se dispersan muy difícilmente en la solución y no dializan; sedimentan muy rápido.

Fuente: Ribéreau-Gayon *et al.* 2003

2.6.2 Estado coloidal

Una solución coloidal está constituida por pequeñas partículas sólidas. El estado coloidal según Ribéreau-Gayon *et al.* (2003), se refiere a esas partículas mantenidas dispersas en un líquido por un conjunto de fuerzas que impiden su agregación y por lo tanto, su floculación. Comprende dos fases (líquida y sólida) cuyo límite común constituye una interfase. Es comprensible que ciertas propiedades particulares (adsorción) de un sistema de dos fases,

sean tanto más pronunciadas cuando su interfase es más grande (para un volumen de líquido y para una masa de sólido dados). Puede alcanzar varios metros cuadrados en un mililitro de líquido. La interfase total es uno de los factores de las propiedades físico-químicas de las soluciones coloidales.

2.6.3 Diferentes tipos de coloides

Estudios realizados por Ribéreau-Gayon *et al.* (2003) determinaron que usualmente, se distinguen dos grupos de coloides, emparentados por sus propiedades, pero que se diferencian netamente por su constitución, éstos son:

2.6.3.1 Coloides micelares

Están constituidos por micelas, es decir, por agregados de una gran cantidad de moléculas simples, unidas entre sí, no por uniones químicas covalentes, sino, por uniones físicas de poca energía que aseguran su cohesión. La estabilidad de las dispersiones coloidales puede estar asegurada por la presencia de cargas eléctricas sobre las partículas que mantienen una repulsión entre cada una de ellas. Esos coloides micelarios existen en el vino. Se pueden formar naturalmente durante la conservación (compuestos fenólicos condensados y materia colorante coloidal), o al término de ciertos tratamientos (ferrocianuro férrico, sulfato de cobre). La supresión de las fuerzas que aseguran la cohesión (presencia de electrolitos de cargas opuestas) produce su floculación y luego su precipitación. Ese fenómeno interviene en la mayoría de los enturbiamientos que pueden presentarse espontáneamente en los vinos. También se produce en los mecanismos de los diferentes tratamientos. El carácter hidrofóbico de esos coloides micelarios participa en su inestabilidad.

2.6.3.2 Coloides macromoleculares

Están constituidos por macromoléculas tales como los polisacáridos o las proteínas, en las cuales, intervienen únicamente uniones químicas covalentes. Poseen generalmente una carga eléctrica que puede deberse a la disociación de funciones ácidas o básicas. Se atribuye a esos coloides la característica de ser hidrófilos, pues generalmente, se disuelven

fácilmente en el agua. Esa propiedad conduce a una hidratación que les conferiría un segundo factor de estabilidad, agregándose el efecto repulsivo de las cargas eléctricas.

2.6.4 Propiedades de los coloides

Según Ribéreau-Gayon, *et al.* (2003) sea cual sea su naturaleza (micelaria o macromolecular), las soluciones coloidales poseen un conjunto de propiedades:

- I. Todas las moléculas en solución, están sometidas a fuerzas de agitación, conocidas con el nombre de movimiento Browniano, que tienden a hacerles ocupar el máximo espacio del cual pueden disponer. Un cuerpo sólido disuelto en un líquido se dispersa en el conjunto del volumen y se encuentra así uniformemente distribuido. En el caso de las partículas coloidales, el movimiento Browniano es más débil. Ubicadas en el fondo de un recipiente, su difusión en la masa del líquido es lenta.
- II. Teniendo en cuenta su dimensión, las partículas coloidales atraviesan difícilmente las membranas dializantes. Las partículas más grandes son detenidas por las membranas filtrantes más apretadas.
- III. Las sales, extraídas de su solución, originan residuos cristalizados. Los coloides, en cambio, dan generalmente residuos o precipitados amorfos, en los cuales no es posible reconocer una estructura definida.
- IV. Las temperaturas de congelación y ebullición de las soluciones coloidales, incluso concentradas, son cercanas a las del agua pura (0 °C y 100 °C).
- V. La composición de las partículas de un coloide micelario no está perfectamente definida como lo está la de una molécula común. La composición, variable de una solución a otra, depende del modo de preparación. En el agua al menos, existe un solo cloruro de sodio, mientras que puede existir toda una serie de fosfato férrico cuyas dimensiones pueden variar. Esta observación, referida a la variable de los constituyentes de los coloides, es menos cierta en los coloides macromoleculares.
- VI. La floculación de un coloide en solución, obedece a un mecanismo diferente al de la precipitación de una sal:

- a) Puede darse en una solución diluida.
 - b) No necesita la presencia de un agente específico.
 - c) No existe proporciones definidas entre el coloide y el reactivado precipitante que puede intervenir en muy bajas concentraciones.
- VII. Las soluciones coloidales difunden una luz, pero para que aparezcan turbias, las partículas deben alcanzar cierta dimensión para una cantidad total de coloides dados.
- VIII. Las reacciones puestas en juego en la aparición de los enturbiamientos coloidales, no se rigen únicamente por la ley de acción de masa. El valor del producto de solubilidad no es un límite más allá del cual la precipitación interviene sistemáticamente.

2.6.5 Cargas eléctricas de las partículas coloidales

Las partículas coloidales constituidas dentro de una solución, según Ribéreau-Gayon *et al.* (2003) se desplazan hacia los polos opuestos, es decir, las cargas negativas migran hacia el ánodo (+); mientras que las cargas positivas migran hacia el cátodo (-). En el caso de las partículas constituidas por partículas neutras, la carga resulta por una fijación o una adsorción en la superficie de la partícula, de iones provenientes de la solución, ya sea aniones o cationes que comunican a la partícula una carga negativa o positiva. Entre los coloides que intervienen en el vino, las proteínas y las fibras de celulosa están cargadas positivamente, en cambio, las células de las levaduras y de las bacterias, el colorante coloideo, el fosfato férrico, el sulfato de cobre, el ferrocianuro férrico, así como también la bentonita, están cargados negativamente.

2.6.6 Reactividad de los coloides

Según Badui *et al.* (2013) todos los coloides se caracterizan por presentar al menos, dos fases que interactúan según sus propiedades superficiales, por ejemplo, adsorción y efectos de doble capa eléctrica. En cuanto a la afinidad de las fases, los coloides se denominan liofílicos (reaccionan mediante la afinidad con el líquido dispersante) y liofóbicos (reaccionan repeliendo al líquido dispersante). Si la fase continua o líquido dispersante es agua, se utilizan los términos hidrofílico e hidrofóbico. La característica común de ambos es que las micelas se mantienen en suspensión por interacciones electrostáticas de la fase dispersante.

2.6.7 Estabilidad y floculación de los coloides

La aglomeración entre las partículas presentes en una solución coloidal, traduce una inestabilidad, responsable de la mayoría de enturbiamientos y de los depósitos del vino. En el caso de las dispersiones moleculares, las partículas coloidales están sometidas a la energía térmica (movimiento Browniano), que puede ser un factor de estabilidad, impide que las partículas se reúnan, favoreciendo su dispersión en todo el espacio disponible, evitando su sedimentación en el fondo del recipiente (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

Las primeras fuerzas que deben ser tomadas en cuenta, se conocen con el nombre de “interacciones de Van der Waals”; siempre están presentes cualquiera que sea la naturaleza de las partículas y del solvente; se originan por las interacciones dipolares entre los átomos. Se trata de fuerzas de atracción que participan en la constitución de los agregados que intervienen en los coloides micelarios. Las fuerzas de Van der Waals tienden a atraer entre ellas a las partículas coloidales, produciendo su aumento hasta la formación de agregados que precipitan (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

2.6.8 Floculación mutua de los coloides

La floculación mutua tiene una gran importancia en enología e interviene de manera preponderante en el encolado del vino. En el encolado asegura mediante éste mecanismo simultáneamente, la clarificación y la estabilización. Se explica así el rol del encolado, con ayuda de una proteína cargada positivamente en la floculación y la precipitación del fosfato ferroso, del ferrocianuro férrico y del sulfuro de cobre que son todos coloides negativos, así como la bentonita que constituye una suspensión cargada negativamente (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

2.6.9 Fenómenos de adsorción

Los fenómenos de adsorción intervienen en enología y conciernen a la química coloidal. Su importancia es tanto más grande cuanto más dividido está el cuerpo adsorbente, por lo tanto, presente una mayor interfase. Los mecanismos del fenómeno de adsorción son muy complejos. Un ejemplo, clásico en enología, está dado por la acción de los taninos sobre la gelatina, formando un compuesto de adsorción (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

Ante todo, los coloides pueden actuar como adsorbente, teniendo en cuenta su superficie relativamente grande. Los depósitos coloidales formados en el vino naturalmente o luego de los tratamientos, encierran en general, diversas sustancias provenientes del vino mismo, pero que no intervienen en los mecanismos de floculación coloidal que condujeron al depósito (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

2.7 Limpidez de los vinos

Numerosos trabajos han mostrado que los taninos se asocian con las proteínas mediante uniones hidrogenadas e interacciones hidrófobas, dependiendo a la vez de las características de los taninos, de las características de las proteínas y de las condiciones del medio (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

La limpidez se puede determinar mediante análisis de absorbancia y transmitancia. Dichos métodos determinarán las desviaciones de luz en el vino. Estas variables son determinadas por medio de un espectrofotómetro de ondas ultra violeta, en el cual se miden las absorbancias y transmitancias a una longitud de onda determinada. Esto permitirá determinar la cantidad de luz desviada por las micelas contenidos en el vino, así como la cantidad de luz absorbida por la solución (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

2.7.1 Problemas relacionados con la limpidez

La limpidez es un atributo de evaluación de calidad exigida por los consumidores de vino. Las partículas en suspensión, bajo forma de velo o en estado disperso, alteran la presentación, pero también con frecuencia alteran la degustación. El vino nuevo es muy rico en partículas constituidas por las borras de levaduras y otros residuos vegetales. Su sedimentación progresiva, seguida por su eliminación por decantación, permite acceder a la limpidez (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

Los mecanismos de los enturbiamientos que intervienen en los vinos blancos y tintos, así como los procedimientos que permiten evitarlos reposan sobre las propiedades esenciales de los coloides y su aumento de las partículas, produciendo su floculación y su

sedimentación. Las floculaciones provocadas con proteínas tienen un efecto estabilizante, eliminando partículas invisibles pero inestables y al mismo tiempo clarificando, reaccionando también con las partículas ya en suspensión que generan el enturbiamiento (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

2.7.2 Observación de la limpidez

Según Ribéreau-Gayon *et al.* (2003) el enturbiamiento del vino está ligado a la presencia de partículas en suspensión, que detienen la radiación luminosa y difunden una parte de la luz en direcciones diferentes de aquella de la radiación incidente, el vino aparece más o menos opaco. Cuando el enturbiamiento es importante, se puede observar directamente por transparencia. Si es menos intensa, su caracterización es más delicada; se le aprecia con luz difusa. En efecto, la luz difusa es proporcional a nV^2 (n =cantidad de partículas; V = volumen total del conjunto de partículas); nV permanece constante en el transcurso de la aglomeración (n disminuye; V aumenta). Por consiguiente, la luz difusa es proporcional a V . Cuando las partículas alcanzan un orden de $100\ \mu\text{m}$, la solución coloidal se convierte en una verdadera suspensión, apareciendo el enturbiamiento a simple vista.

El enturbiamiento consecutivo a la difusión de la luz (efecto Tyndall) involucra toda solución coloidal atravesada por un haz luminoso. Incluso en una solución de apariencia límpida, la observación sobre fondo negro en una dirección perpendicular a la radiación incidente, hace aparecer un velo opalescente, debido precisamente a la difusión de la luz por partículas muy finas, no visibles a simple vista (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

A partir de ese principio, se utilizaron durante mucho tiempo para apreciar la limpidez, aparatos relativamente simples, en los cuales, el observador no recibe la luz directa que atraviesa el vino, pues está enmascarada por una pantalla móvil y recibe la luz difundida únicamente por las partículas. Es necesario utilizar una lámpara de baja intensidad (15 a 25 W), pues, con una luz demasiado fuerte, todos los vinos presentan un ligero velo (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003).

3. Materiales y métodos

3.1 Descripción del estudio

La investigación se realizó de agosto de 2015 a febrero de 2016, regida por el método hipotético deductivo. Para hacer una descripción puntual de la investigación, se aborda desde aspectos básicos de clasificación:

3.1.1 Por el propósito

Aplicada: La investigación estuvo dirigida al desarrollo de conocimientos en el área de clarificación del vino de piña, utilizando un clarificante proteico (gelatina) y uno no proteico (carbón vegetal activado), generando una propuesta eficaz para la limpidez del producto final. La investigación también se apoyó de estudios básicos en las ciencias enológicas como los principios bioquímicos de los tratamientos de clarificación en los vinos y el estado de dispersión de la materia coloidal en la solución (vino).

3.1.2 Por los niveles de profundidad

Descriptiva: La investigación explicó la relación de las variables en estudio sobre la base de los aspectos teóricos y los resultados obtenidos en la fase experimental.

Explicativas: Se estudiaron las variables estableciendo las relaciones causales entre ellas. Se verificaron empíricamente las hipótesis planteadas mediante métodos estadísticos.

3.1.3 Por el lugar de ejecución

Bibliográfica: Se realizó recopilación y revisión documental de investigaciones similares tanto en la biblioteca de la Facultad de Ciencias Agronómicas, como en la biblioteca central de la Universidad de El Salvador a fin de estudiar los principios de clarificación de los vinos, sus fundamentos y las pruebas pertinentes para determinar su limpidez.

De laboratorio: Se realizaron análisis de densidad, extracto seco, cenizas y transmitancia a los diferentes tratamientos. Los datos generados se procesaron estadísticamente en el

software InfoStat aplicando pruebas de regresión lineal, además, pruebas a posteriori como la comparación de a pares de Kruskal y Wallis (1972) y Análisis de la Varianza Multivariado según Roy. Los análisis de laboratorio se ejecutaron bajo condiciones controladas en el Laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas.

3.1.4 Por el tratamiento de las variables

Experimental: La investigación tiene un control total de las variables independientes ya que el vino utilizado en las repeticiones pertenecía a un mismo lote de producción y por tanto sus características eran totalmente homogéneas a fin observar y medir el efecto de los tratamientos. Se recurrió al diseño del experimento completamente al azar (Cuadro 4).

3.2 Metodología de campo

Para llevar a cabo la investigación se elaboraron 75 litros de mosto a partir del jugo de 24 piñas variedad Golden, de modo que una vez llevada a cabo la fermentación, se contó con materia prima suficiente para realizar los análisis necesarios para dar una respuesta a la hipótesis «La eficacia de clarificación con carbón vegetal activado o gelatina, produce distintos efectos en la limpidez del vino de piña (*Ananas comosus* L)». La preparación de los 75 litros de mosto se realizó en la planta de procesamiento de la Estación Experimental y de Prácticas (EEP) de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador, situada en el Municipio de San Luis Talpa del Departamento de La Paz, a 50 m.s.n.m. Latitud: 13° 28' N. Longitud: 89° 06' W. Temperatura: mínima: 22.3 °C máxima: 33.0 °C.

Se utilizó hipoclorito de sodio a 150 ppm para sanitizar todo el equipo y las instalaciones en donde se elaboró el mosto. Al momento de la recepción de la piña se desinfectó con solución de dicho producto a 200 ppm. Las piñas utilizadas debieron cumplir con ciertos requerimientos físicos y químicos: fruto sin daños mecánicos o por insectos, libre de hongos y con una pulpa con pH ≥ 3 y con un cociente total de sacarosa ≥ 12 (≥ 12 °Brix).

3.2.1 Preparación y elaboración del mosto

Para la preparación del mosto se utilizó el siguiente equipo:

Despulpadora: Equipo de acero inoxidable marca Comek con motor de 1 Hp. Se utilizó para la obtención de pulpa homogénea de la piña (*Ananas comosus* L).

Cocina industrial a base de gas propano y olla de acero inoxidable: Para pasteurizar el mosto (72.5 °C durante 20 segundos).

Brixómetro: Equipo digital con rango de 0 – 53 ° Brix para verificar el cociente total de sacarosa (° Brix).

pH-metro: Equipo para cuantificar los iones hidrógeno del mosto.

Recipientes graduados: Se utilizaron probetas, cilindros y beakers para medir el volumen de agua.

Balanza granataria y analítica: Equipo para obtener una medida exacta de la cantidad levadura (1 g/L).

La fruta se sanitizó con hipoclorito de sodio a 200 ppm, se peló y cortó en trozos pequeños los cuales se introdujeron en la despulpadora para facilitar la extracción del jugo (18.75% del peso total del mosto), el jugo obtenido se pasó por un colador y finalmente se utilizaron dos mantas para obtener el jugo haciendo presión con ambas manos retirando la mayor cantidad de fibra posible. El jugo se mezcló con agua destilada (43.75% del peso total del mosto) y con el jarabe (37.5% del peso total del mosto). Se pasteurizó a 72 °C por 20 segundos a fin de obtener un mosto libre de agentes patógenos. Cuando la mezcla alcanzó los 35 °C se inoculó con levadura comercial (*Saccharomyces cerevisiae*) utilizando un gramo por cada litro de mosto.

Para la elaboración del jarabe se utilizaron ocho litros de agua destilada, según Vogt (1972) a fin de evitar la quiebra férrica en caso de que el suministro de agua potable pudiera contener metales. Se utilizaron 30 libras de azúcar comercial y se mezclaron con 4.36 gramos de ácido cítrico, ésta mezcla se calentó a 93 °C por 45 minutos para realizar la inversión de los azúcares en la elaboración del jarabe. Finalmente, se agregaron 4.90 gramos de bicarbonato de calcio, según Rauch (1987) para estabilizar el pH del mismo (pH = 3.5) y evitar la unión de los azúcares reductores. Se adicionaron 20 kg de jarabe de azúcar invertido al mosto con el objetivo de alcanzar 23 grados Brix.

3.2.2 Elaboración del vino

Una vez elaborado el mosto, fermentó por 9 días a una temperatura promedio de 32.48 °C con una desviación estándar de más o menos 1.93 °C al cabo de los cuales se obtuvo el vino de piña que sirvió como la materia prima para realizar el experimento. Durante la fermentación se evitó el contacto con los rayos del sol, ya que las levaduras son fotosensibles. Finalizada la fermentación se homogenizó el vino trasegándolo por decantación a otro recipiente de igual capacidad utilizando una manguera de media pulgada de diámetro y dos metros de largo. Esta práctica se realizó dos veces a fin de alcanzar la correcta homogenización del vino. Posteriormente, se agregó bisulfito de sodio a razón de 0.15 g/L para evitar la incidencia de agentes patógenos o enfermedades en el vino.

Una vez homogenizado el vino no clarificado, se trasegó por gravedad a los recipientes en donde se aplicaron las dosis de clarificante establecidas para cada uno de los tratamientos en estudio (Cuadro 2). El vino se dosificó en dieciocho cilindros, 3.5 L en cada cilindro, en donde se les aplicaron las dosis de clarificantes de carbón vegetal activado o gelatina. Según cada tratamiento, se aplicaron tres dosis correspondientes a 0.100, 0.125 y 0.150 g/L de carbón activado; y, 0.100, 0.200 y 0.300 g/L de gelatina. Se realizaron tres repeticiones por tratamiento (Cuadro 2).

Cuadro 2. Distribución de tratamientos y repeticiones

Agente clarificante					
Carbón vegetal activado			Gelatina		
T1= 0.1 g/L	T2= 0.125 g/L	T3= 0.15 g/L	T4= 0.1 g/L	T5= 0.2 g/L	T6= 0.3 g/L
Dosis total en 3.5 litros de vino			Dosis total en 3.5 litros de vino		
0.35 g	0.4375 g	0.525 g	0.35 g	0.7 g	1.05 g
R1	R1	R1	R1	R1	R1
R2	R2	R2	R2	R2	R2
R3	R3	R3	R3	R3	R3

3.2.3 Aplicación de gelatina

Las dosis de gelatina en polvo se activaron diluyéndola en 8.75 mL de agua destilada a 40 °C; es decir, en 2.5 mL de agua por cada litro de vino a clarificar. Se mezcló manualmente con una cuchara plástica hasta que la solución se homogenizó completamente. La gelatina previamente activada, se aplicó según las siguientes dosis de gelatina: 0.100 g/L, 0.200 g/L y 0.300 g/L en los cilindros con 3.5 L de vino. La gelatina no se diluyó con el vino para evitar la coagulación y mejorar el efecto del clarificante.

3.2.4 Aplicación de carbón activado

Se trituró el carbón vegetal activado hasta obtener polvo y se dosificó según las siguientes dosis: 0.100 g/L, 0.125 g/L y 0.150 g/L. El clarificante se añadió directamente en los cilindros con 3.5 L de vino y se agitaron manualmente para evitar las formaciones de grumos de polvo en el vino.

Ambos agentes clarificantes reposaron por seis días previo a la decantación.

3.2.5 Extracción de las muestras

Se establecieron tres zonas de muestreo en el cilindro plástico de 3.5 L como se muestra en la Figura 1.

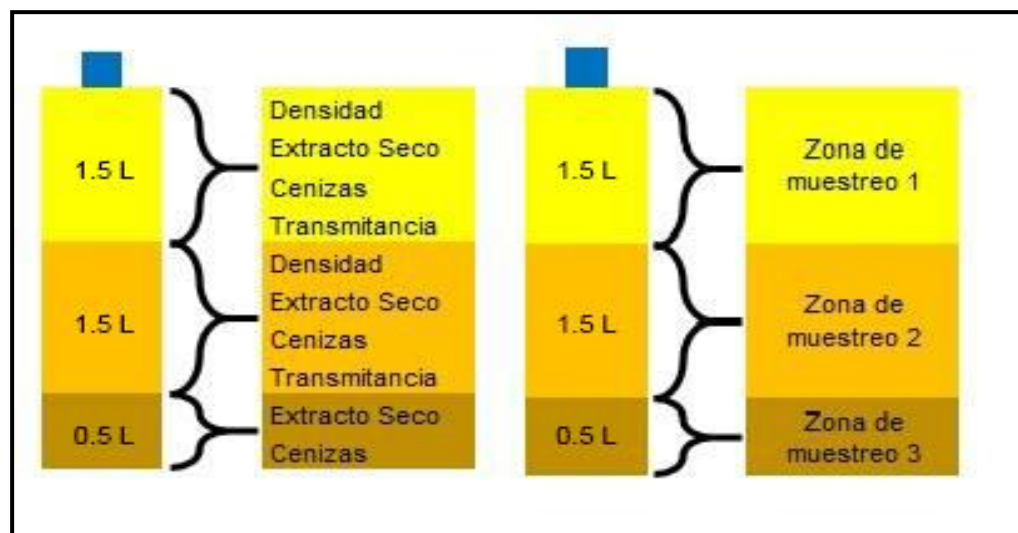


Figura 1. Zonas de muestreo en el cilindro de vino y análisis de laboratorio correspondiente

La zona 1 y zona 2 ocuparon un volumen de 1.5 L cada una y se caracterizaron por ser la zona útil, es decir, lo aprovechable en cualquier proceso de vinificación. La zona 3 ocupó un volumen de 0.5 L que se caracterizó por ser la parte que contuvo sedimentos e impurezas (partículas vegetales, cuerpos de levaduras, material clarificante, impurezas). En tal sentido, las pruebas físicas realizadas en la zona 1 y 2 son las mismas, y, en la zona 3; se realizaron pruebas físicas (extracto seco y cenizas) a fin de determinar la cantidad de sedimentos producidos por el efecto de los agentes clarificantes. No obstante, el análisis de transmitancia se desarrolló en las partes útiles (zona 1 y 2). La extracción de las muestras (por zonas) se realizó mediante succión, utilizando una pera de succión y una manguera delgada a fin de evitar la agitación del vino y la consecuente dispersión de la materia sedimentada.

Posterior a la extracción de las muestras, estas se identificaron por un código numérico consecutivo para facilitar la identificación y el manejo de las muestras al ejecutar las pruebas de laboratorio.

3.3 Metodología de laboratorio

Después de seis días en los que se efectuó la clarificación y la obtención de las muestras por parte de las diferentes dosis de los clarificantes, se realizó la determinación de los siguientes parámetros: densidad, extracto seco y ceniza y transmitancia las cuales se realizaron en el Laboratorio de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de El Salvador.

Las pruebas de laboratorio de determinación de densidad, extracto seco y cenizas se desarrollaron según Carranza (2014); se describen a continuación:

3.3.1 Determinación de extracto seco por evaporación

- Se identificaron y pesaron los beakers.
- Se homogenizó la muestra y se depositaron 25 mL de vino utilizando una pipeta volumétrica.
- Se registró el peso de cada beaker.
- Se pesó nuevamente cada beakers conteniendo los 25 mL del vino y se tomó nota de las lecturas del peso.

- Se calentaron los beakers en baño de maría hasta la evaporación parcial del líquido.
- Los residuos obtenidos se colocaron en una estufa de aire circulante a 105 °C y se secaron durante 12 horas.
- Las muestras secas se colocaron en un desecador hasta llegar a temperatura ambiente.
- Se pesó cada beaker.
- Se determinó la cantidad de extracto seco restando el peso final menos el peso inicial.
- Luego se determinó el porcentaje de extracto seco

$$\text{Extracto seco (g)} = P1 - P \qquad \text{Extracto seco (\%)} = \frac{P1}{P} \times 100$$

En donde:

P1 = Peso de la muestra después de la desecación.

P = Peso de la muestra antes de la desecación.

3.3.2 Determinación de cenizas

- Se identificaron y pesaron los crisoles vacíos en una balanza analítica.
- Se homogenizó la muestra y se depositaron 5 mL de vino utilizando una pipeta volumétrica.
- Cada crisol conteniendo los 5 mL de muestra se pesó en una balanza analítica y se registró una lectura del peso.
- Se evaporaron los 5 mL de vino hasta la total desecación utilizando un hot plate.
- Las muestras se introdujeron en un horno de mufla a 550 °C hasta lograr la calcinación total de la materia orgánica.
- Las muestras calcinadas se colocaron en un desecador para evitar que ganaran peso debido a la humedad ambiental.
- Se pesaron las muestras.
- Se determinó la cantidad de cenizas restando el peso final menos el peso inicial.
- Luego se determinó el porcentaje de cenizas.

$$\text{Cenizas (g)} = P1 - P \qquad \text{Ceniza (\%)} = \frac{P1}{P} \times 100$$

En donde:

P1 = Peso de la muestra después de la calcinación

P = Peso de la muestra antes de la calcinación

3.3.3 Determinación de densidad por el método de pesado

- Se limpiaron y secaron los frascos volumétricos de 100 mL vacíos.
- Se pesaron e identificaron frascos.
- Se llevó un frasco a volumen con agua destilada como blanco y se ajustó la temperatura a 25 °C utilizando una incubadora.
- Los demás frascos se llevaron a volumen con vino utilizando una pipeta volumétrica.
- Se mantuvo la temperatura por 30 minutos.
- Se llevó nuevamente el blanco a volumen con agua destilada y los demás frascos con vino si era necesario.
- Se secaron las paredes internas del cuello del frasco volumétrico teniendo cuidado de no tocar el líquido.
- Se dejó reposar por 30 minutos más.
- Los frascos se pesaron en balanza analítica dos veces cada frasco para obtener el promedio del peso final de cada uno.
- Se determinó la densidad restando el peso final menos el peso inicial, dividido entre el volumen del frasco volumétrico.

$$\text{Densidad} = \frac{P}{V}$$

En donde:

P = Peso de la muestra

V = Volumen de la muestra

3.3.4 Transmitancia

Las muestras de vino se midieron directamente en el espectrofotómetro modelo Spectronic Genesys 20, marca Thermo Instruments utilizando cubetas de cuarzo. Se obtuvieron las transmitancias para las longitudes de onda ultravioleta visible de 550, 495 y 445 nm, utilizando como referencia agua destilada.

Este proceso se realizó de la siguiente manera:

- Se encendió el espectrofotómetro y se programó el equipo para realizar las lecturas de transmitancia deseadas (a 445 nm, 495 nm y 550 nm).

- Se colocó agua destilada en la cubeta de cuarzo como blanco de referencia y se ajustó a cero el equipo.
- Se retiró el agua destilada y se midió cada muestra ambientando previamente la cubeta y descartando ese líquido.
- Se colocó la cubeta de cuarzo en el espectrofotómetro y se tomó la lectura.
- Se tomó nota de los datos de transmitancia a la misma longitud de onda definida.
- Después de cada medida se descartó el vino, se enjuagó la cubeta con agua destilada y se ambientó nuevamente con la siguiente muestra de vino.
- Se realizó el mismo procedimiento para todas las muestras restantes tomando transmitancia.
- El proceso se repitió de igual manera para todas las longitudes de onda.

3.4 Metodología estadística

Se evaluó la eficacia del carbón vegetal activado y gelatina en distintas dosis para cada indicador en cuestión (densidad, extracto seco, contenido de cenizas y transmitancia). Las combinaciones: clarificante-dosis, constituyeron los tratamientos; los cuales se conformaron de la siguiente manera:

Cuadro 3. Composición de los tratamientos (clarificante-dosis)

Clarificante	Dosis	Tratamiento
Clarificante 1: Carbón vegetal activado (C1)	D1 = 0.1 g/L	C₁D₁ = T1
	D2 = 0.125 g/L	C₁D₂ = T2
	D3 = 0.15 g/L	C₁D₃ = T3
Clarificante 2: Gelatina (C2)	D4 = 0.1 g/L	C₂D₄ = T4
	D5 = 0.2 g/L	C₂D₅ = T5
	D6 = 0.3 g/L	C₂D₆ = T6

El experimento tuvo tres repeticiones para cada tratamiento.

Inicialmente se determinó si el conjunto de datos cumplía con los supuestos del ANVA mediante la prueba de normalidad de Shapiro Wilks para los análisis de: densidad y transmitancia; la prueba de bondad de ajuste de Kormogorov se aplicó para los análisis de:

extracto seco y cenizas, ya que estos últimos sobrepasaban las 50 observaciones. A los análisis que cumplieron con el supuesto de normalidad se les aplicó un análisis de varianza paramétrico, no obstante, a los que no cumplieron con el supuesto, se les aplicó un análisis de varianza no paramétrico.

El análisis estadístico de las variables en estudio se rigió por el Diseño Estadístico Completamente al Azar (DCA), cuyo modelo matemático es el siguiente:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij}$$

Donde:

Y_{ij} : es la j-ésima observación del i-ésimo tratamiento

μ : es la media general de las observaciones

τ_i : es el efecto del i-ésimo tratamiento

ε_{ij} : es el error del i-ésimo tratamiento en la j-ésima observación

El modelo matemático explicó cómo los efectos de cada observación fueron afectados por la media, el efecto de los tratamientos y del error experimental. La estructura del Análisis de Varianza (ANVA) fue la siguiente:

Cuadro 4. Estructura del Análisis de Varianza

Fuentes de variación (FV)		Grados de libertad (GL)	Suma de cuadrados corregida (SC)	Cuadrado Medio (CM)	Coficiente de Fisher Calculado (Fc)	Coficiente de Fisher teórico (Fa)
Intergruppal	Tratamientos	k-1				
Intragruppal	Error experimental	= (N-1) - (k-1)				
TOTAL		N-1				

El ANVA determinó la existencia o ausencia de diferencias significativas entre los tratamientos. Para los análisis con diferencias significativas se evaluó mediante pruebas a posteriori y se determinaron los tratamientos con mejores resultados.

Se realizó un análisis de varianza multivariante, donde se analizaron los agentes clarificantes y sus dosis de acuerdo a la transmitancia en las tres longitudes de onda. El modelo utilizado fue según Roy y luego se realizó una prueba a posteriori según Hotelling para determinar entre cuales elementos de las fuentes de variación existieron diferencias significativas.

Posteriormente, se realizaron múltiples análisis de regresión lineal y se cuantificó la correlación entre la densidad y los análisis de transmitancia. En todas las pruebas inferenciales se utilizó un nivel de probabilidad del 5% ($\alpha = 0.05$). Se presentaron los resultados mediante estadística descriptiva. Se procesaron los datos en el Software Estadístico InfoStat, de la Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

4. Resultados y discusión

4.1 Resultados relacionados al mosto de piña

La fermentación duró nueve días. En las paredes del tacho fermentador se registró una temperatura mínima de 29.75 °C, una temperatura máxima de 34.97 °C y un promedio de 32.48 °C. Las temperaturas durante los nueve días se exponen en la Figura A-3.

El progreso de la fermentación puede ser monitoreado visualmente observando la tasa de evolución del dióxido de carbono (Scheihing 2005), de manera que en la investigación se utilizó el método de conteo de número de burbujas por minuto como indicador visual del desarrollo del proceso fermentativo.

El número de burbujas por minuto fueron contabilizadas en la manguera que sirvió como válvula de alivio del tacho fermentador (expulsión del CO₂), la cual contuvo 10 mL de agua destilada (Figura A-2). Las burbujas fueron contabilizadas para crear una aproximación de la actividad fermentativa del mosto.

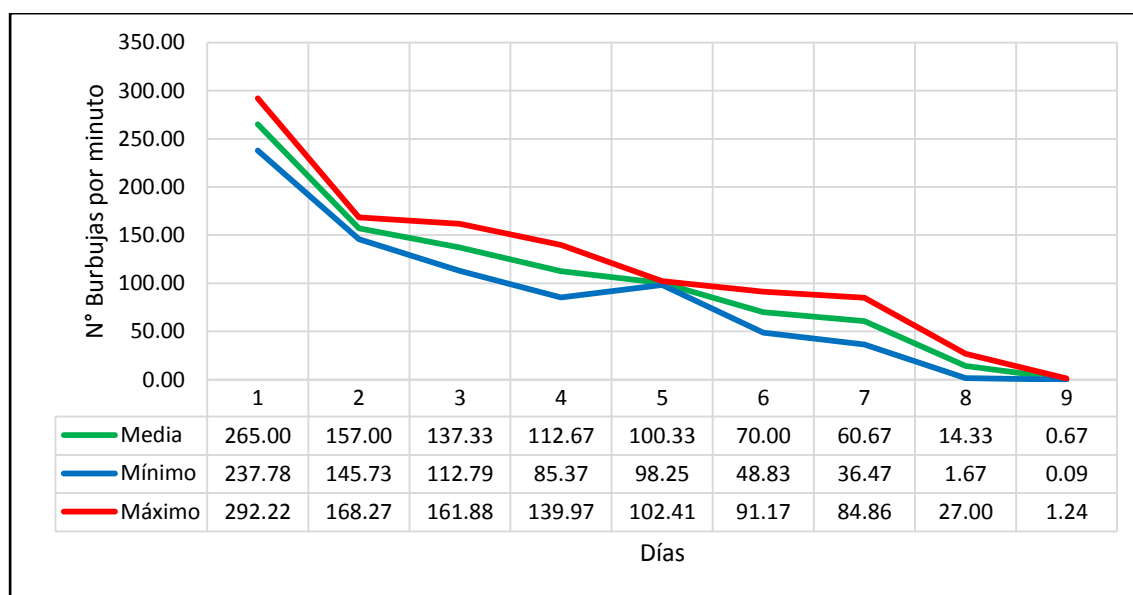


Figura 2. Número de burbujas por minuto durante la fermentación

Según Ribéreau-Gayon *et al.* (2003) el ciclo de crecimiento de las levaduras muestra tres fases principales. Una de crecimiento de dos a cinco días en que aumenta la población,

luego una fase cuasi estacionaria que dura ocho días. Por último, la fase de declinación donde se reduce progresivamente la población viable de levaduras; esta fase puede durar muchas semanas. La utilización de azúcar invertido en forma de jarabe fue fácilmente metabolizable por las levaduras, de manera que puede ser una de las causas por las que el tiempo de fermentación fue de nueve días. Por lo tanto, utilizar azúcar invertido puede reducir los tiempos de fermentación en los vinos de fruta.

Entre el día uno y dos la fase de crecimiento se registró un promedio de 211 burbujas por minuto. En la fase cuasi estacionaria se obtuvo un promedio de 96.2 burbujas por minuto, registrados desde el día tres al día siete. Finalmente, en la fase de declinación se observó un promedio de 7.5 burbujas por minuto, registradas entre el día ocho y nueve.

Además, Grainger y Tattersal (2005), citado por Coronel (s.f.) sostienen que la temperatura óptima de fermentación oscila entre 24 y 32 °C. La alta temperatura se considera como un factor acelerador del proceso de fermentación. La temperatura promedio durante la investigación fue: 32.48 °C, la cual también influyó sobre el tiempo de fermentación.

4.2 Resultados relacionados al vino de piña

Los análisis estadísticos que a continuación se presentan fueron ejecutados a partir de los datos obtenidos, presentes en los Cuadros A-11, A-12 y A-13.

4.2.1 Densidad

A continuación se presenta el resumen de las densidades de acuerdo al tipo de agente clarificante:

Cuadro 5. Resumen de densidades de acuerdo al tipo de agente clarificante (g/mL)

Agente clarificante	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Intervalo	
						Límite inferior	Límite superior
Carbón vegetal activado	18	0.9838	0.9918	0.9864	0.0024	0.9840	0.9888
Gelatina	18	0.9830	0.9948	0.9872	0.0039	0.9833	0.9911

El menor valor de la densidad lo produjo la gelatina, con 0.9830 g/mL, y el mayor valor también fue producido por el mismo agente clarificante, con 0.9948 g/mL. El carbón vegetal activado tuvo un promedio de densidades menor que la gelatina, cuya diferencia de medias fue de 0.0008 g/mL; no obstante, las desviaciones fueron mayores en la gelatina en 0.0015 g/mL respecto al carbón vegetal activado, es decir, hubo menos variación en este último agente clarificante.

Las dosis utilizadas en ambos agentes clarificantes, produjeron los siguientes resultados:

Cuadro 6. Resumen de densidades de acuerdo a la dosis de clarificante (g/mL)

Dosis	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Intervalo	
						Límite inferior	Límite superior
C 0.1 g/L	6	0.9838	0.9916	0.9866	0.0030	0.9836	0.9896
C 0.125 g/L	6	0.9848	0.9889	0.9864	0.0018	0.9846	0.9882
C 0.15 g/L	6	0.9848	0.9918	0.9862	0.0028	0.9834	0.9890
G 0.1 g/L	6	0.9830	0.9885	0.9858	0.0019	0.9839	0.9877
G 0.2 g/L	6	0.9830	0.9946	0.9878	0.0046	0.9832	0.9924
G 0.3 g/L	6	0.9831	0.9948	0.9881	0.0048	0.9833	0.9929

Entre ambos agentes clarificantes, la menor de densidad fue producida por la gelatina en la dosis de 0.1 g/L y 0.2 g/L (0.9830 g/mL), el mismo agente clarificante produjo la densidad más alta, en la dosis de 0.3 g/L (0.9948 g/mL). En el grupo de dosis correspondientes al carbón activado, el menor valor producido en la densidad fue de: 0.9838 g/mL y el mayor valor fue de: 0.9918 g/mL; generados por las dosis de 0.1 g/L y 0.15 g/L respectivamente. Para el caso de la gelatina el menor valor producido en la densidad fue de: 0.9830 g/mL y el mayor valor fue de: 0.9948 g/mL; generados por las dosis de 0.1 g/L- 0.2 g/L y 0.3 g/L respectivamente.

Cuanto más alcohol tenga un vino más baja será su densidad (De Lucas 1994). El vino de piña presentó 13.5 °Alc. v/v. Las dosis de carbón activado (0.1 g/L, 0.125g/L y 0.15 g/L) y la dosis de gelatina (0.1g/L) se mantuvieron en el rango aceptable para la densidad, al compararlos los valores establecidos según García (s.f.) (0.9880 g/mL - 0.9930 g/mL) ya que

no existen valores para vino de piña. La dosis 0.3 g/L de gelatina aumenta la densidad. Es posible que este aumento se deba a un sobre-encolado, ya que el resultado del encolado depende de la descarga recíproca de las partículas presentes y cuanto más completa sea la descarga, tanto más eficaz es la floculación y la clarificación (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003). Por lo que el exceso de gelatina (0.3 g/L) produjo una descarga incompleta, dejando partículas de gelatina floculando en el vino, lo que se denomina: “sobre-encolado”.

4.2.2 Extracto seco

Los porcentajes de extracto seco obtenidos de acuerdo al tipo de agente clarificante fueron:

Cuadro 7. Resumen de extracto seco de acuerdo al tipo de agente clarificante (%)

Agente clarificante	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Intervalo	
						Límite inferior	Límite superior
Carbón vegetal activado	26	2.29	2.50	2.40	0.06	2.34	2.46
Gelatina	27	2.17	2.49	2.37	0.08	2.29	2.45

El menor porcentaje de extracto seco lo produjo la gelatina, con 2.17%, y el mayor porcentaje fue producido por el carbón vegetal activado, con 2.50%. El carbón vegetal activado tiene un promedio de extracto seco mayor que la gelatina, cuya diferencia es de 0.03%. Las desviaciones fueron mayores en la gelatina en 0.02% respecto al carbón vegetal activado. En los vinos blancos secos producidos comercialmente se debería obtener un porcentaje de extracto seco menor o igual a 2.51% (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003). Este parámetro puede ser tomado como referencia para controlar la calidad, dado que no existen valores para vino de piña. Ambos agentes clarificantes aportan cantidades mínimas de materia orgánica al vino tratado ya que se encuentran dentro del rango aceptable para vino blanco seco. Las dosis utilizadas en ambos agentes clarificantes produjeron los siguientes resultados:

Cuadro 8. Resumen de extracto seco de acuerdo a la dosis de clarificante (%)

Dosis	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar	Intervalo	
						Límite inferior	Límite superior

C 0.1 g/L	9	2.33	2.49	2.38	0.05	2.33	2.43
C 0.125 g/L	9	2.29	2.47	2.40	0.07	2.33	2.47
C 0.15 g/L	9	2.30	2.50	2.42	0.08	2.34	2.50
G 0.1 g/L	9	2.25	2.49	2.37	0.10	2.27	2.47
G 0.2 g/L	9	2.35	2.49	2.39	0.04	2.35	2.43
G 0.3 g/L	9	2.17	2.45	2.36	0.09	2.27	2.45

Entre ambos agentes clarificantes, el menor porcentaje de extracto seco fue producido por la gelatina en la dosis de 0.3 g/L (2.17%). El agente clarificante que produjo el porcentaje más alto fue el carbón activado en la dosis 0.15 g/L (2.50%). En el grupo de dosis correspondientes al carbón activado, el menor valor producido en el porcentaje de extracto seco fue de: 2.29% generado por la dosis de 0.125 g/L y el mayor valor fue de: 2.50%; generado por la dosis de 0.1 g/L. Para el caso de la gelatina el menor porcentaje producido en el extracto seco fue de 2.17% y el mayor valor fue de: 2.49%; generados por las dosis de 0.3 g/L y 0.1 g/L - 0.2 g/L respectivamente. El extracto seco producido por las diferentes dosis de gelatina y carbón activado es aceptable según Ribéreau-Gayon *et al.* (2003), ya que en todos los casos es menor a 2.51% (valor aceptable para vino blanco seco), tomado como referencia al no existir valores para vino de piña.

4.2.3 Cenizas

El contenido de cenizas obtenidas de acuerdo al tipo de agente clarificante fue:

Cuadro 9. Resumen de cantidad de cenizas de acuerdo al tipo de agente clarificante (%)

Agente clarificante	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Intervalo	
						Límite inferior	Límite superior
Carbón vegetal activado	27	0.10	0.39	0.20	0.08	0.12	0.28
Gelatina	27	0.10	0.37	0.19	0.07	0.12	0.26

El menor valor fue producido, de igual manera, por ambos agentes clarificantes, fue de: 0.10%, no obstante, el mayor valor fue producido por el carbón vegetal activado con 0.39%. La gelatina tuvo un promedio menor de cenizas, con una menor desviación estándar. No existe diferencias significativas a un nivel de significancia del 5% entre el porcentaje de ceniza de los tratamientos con gelatina y los tratamientos con carbón vegetal activado (Cuadro A-8); debido a que la gelatina es un producto orgánico que no contiene minerales que puedan observarse en la ceniza, al contrario del carbón vegetal activado, cuyos residuos

sí serían observables en la ceniza en caso de que los hubiera. Se presume que las dosis de carbón adicionadas al vino como clarificantes sedimentaron completamente y fueron descartadas al extraer la parte útil del vino.

El rango aceptable de contenido de cenizas para vino blanco seco es de 0.15% a 0.30% (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003). Las medias del contenido de cenizas de ambos agentes clarificantes se encuentran dentro del rango establecido.

Las dosis utilizadas en ambos agentes clarificantes produjeron los siguientes resultados:

Cuadro 10. Resumen del contenido de cenizas de acuerdo a la dosis de clarificante (%)

Dosis	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Intervalo	
						Límite inferior	Límite superior
C 0.1 g/L	9	0.12	0.29	0.20	0.06	0.14	0.26
C 0.125 g/L	9	0.10	0.39	0.19	0.10	0.09	0.29
C 0.15 g/L	9	0.12	0.33	0.21	0.08	0.13	0.29
G 0.1 g/L	9	0.10	0.33	0.19	0.08	0.11	0.27
G 0.2 g/L	9	0.12	0.29	0.19	0.06	0.13	0.25
G 0.3 g/L	9	0.12	0.37	0.19	0.08	0.11	0.27

El menor valor fue producido por el carbón en la dosis de 0.125 g/L y la gelatina en la dosis de 0.1 g/L (0.10%). El valor máximo corresponde al carbón en la dosis de 0.125 g/L (0.39%) y gelatina en dosis de 0.20 g/L (0.37). El rango aceptable de contenido de cenizas para vino blanco seco es de 0.15% a 0.30% (Ribéreau-Gayon *et al.* 2003). Las medias del contenido de cenizas de las dosis de clarificantes se encuentran dentro del rango establecido.

Los resultados obtenidos para ambos agentes clarificantes y sus dosis se encuentran dentro de los rangos aceptables en el contenido de cenizas para vino blanco seco, una característica deseable si se toma en cuenta que no existen parámetros para vino de piña.

4.2.4 Transmitancia

Se realizaron mediciones de transmitancia en el vino sin clarificar en las siguientes longitudes de onda: 445 nm, 495 nm y 550 nm. A continuación se resumen los resultados obtenidos:

Cuadro 11. Resumen de los porcentajes de transmitancia según la longitud de onda para vino sin clarificar

Parámetros		Transmitancia (%)		
		445 nm	495 nm	550 nm
Media		10.75	15.72	19.52
Desviación		2.78	2.56	4.46
Intervalo	Límite mínimo	13.16	15.06	15.06
	Límite máximo	18.28	23.98	23.98

Los porcentajes de transmitancia del vino sin clarificar, fueron comparados con los porcentajes de transmitancia del vino clarificado; obteniendo así, un valor de limpidez del vino dado en porcentaje de eficacia de la transmitancia.

Luego de la clarificación, los porcentajes de transmitancia a las tres longitudes de onda fueron:

Cuadro 12. Resumen de los porcentajes de transmitancia a las tres longitudes de onda de acuerdo a los agentes clarificantes

Longitud de onda	Agente clarificante	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Intervalo	
							Límite inferior	Límite superior
445 nm	Carbón vegetal activado	18	18.20	28.60	24.11	2.95	27.06	21.16
	Gelatina	18	20.80	49.90	28.39	7.93	36.32	20.46
495 nm	Carbón vegetal activado	18	24.80	38.40	33.69	3.71	29.98	37.40
	Gelatina	18	30.20	61.00	38.71	8.41	30.30	47.12
550 nm	Carbón vegetal activado	18	34.80	47.60	41.49	3.90	37.59	45.39
	Gelatina	18	37.60	67.50	46.22	8.34	37.88	54.56

El menor valor del porcentaje de transmitancia a 445 nm lo produjo el carbón activado, con 18.20%, y el mayor valor fue producido por la gelatina, con 49.90%. El carbón vegetal activado tuvo un promedio de transmitancia de 24.11%, menor que el de la gelatina, cuya diferencia fue de 4.28%; aunque, las desviaciones fueron mayores en la gelatina en 4.98% respecto al carbón vegetal activado. El menor valor del porcentaje de transmitancia a 495 nm lo produjo el carbón activado, con 24.80%, y el mayor valor fue producido por la gelatina, con 61.00%. El carbón vegetal activado tuvo un promedio de transmitancia de 33.69%, menor que el de la gelatina, cuya diferencia es de 5.02%; no obstante, las desviaciones fueron mayores en la gelatina en 4.70% respecto al carbón vegetal activado. El menor valor del porcentaje de transmitancia a 550 nm lo produjo el carbón activado, con 34.80%, y el mayor valor fue producido por la gelatina, con 67.50%. El carbón vegetal activado tuvo un promedio de transmitancia de 41.49%, menor que el de la gelatina, cuya diferencia es de 4.73%; no obstante, las desviaciones fueron mayores en la gelatina en 4.44% respecto al carbón vegetal activado.

Las dosis utilizadas en ambos agentes clarificantes, produjeron los siguientes resultados:

Cuadro 13. Resumen de los porcentajes de transmitancia a las tres longitudes de onda de acuerdo a las dosis de agente clarificante (%)

Longitud de onda	Dosis	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación estándar	Intervalo	
							Límite inferior	Límite superior
445 nm	C 0.1 g/L	6	18.20	28.60	22.60	4.15	18.45	26.75
	C 0.125 g/L	6	22.30	28.30	25.55	2.37	23.18	27.92
	C 0.15 g/L	6	21.90	25.30	24.18	1.25	22.93	25.43
	G 0.1 g/L	6	20.80	29.10	24.88	3.38	21.50	28.26
	G 0.2 g/L	6	23.20	49.90	32.43	9.53	22.90	41.96
	G 0.3 g/L	6	21.60	45.40	27.85	8.76	19.09	36.61
495 nm	C 0.1 g/L	6	24.80	38.20	31.30	5.19	26.11	36.49
	C 0.125 g/L	6	31.80	38.40	35.23	2.66	32.57	37.89
	C 0.15 g/L	6	32.70	36.30	34.55	1.49	33.06	36.04
	G 0.1 g/L	6	30.20	39.50	34.65	3.77	30.88	38.42
	G 0.2 g/L	6	33.20	61.00	43.47	9.96	33.51	53.43
	G 0.3 g/L	6	32.80	56.00	38.02	8.90	29.12	46.92
550 nm	C 0.1 g/L	6	34.80	47.60	39.38	5.42	33.96	44.80

C 0.125 g/L	6	38.40	47.20	43.15	3.40	39.75	46.55
C 0.15 g/L	6	39.60	43.20	41.93	1.38	40.55	43.31
G 0.1 g/L	6	37.60	47.40	42.60	4.06	38.54	46.66
G 0.2 g/L	6	41.10	67.50	50.63	9.80	40.83	60.43
G 0.3 g/L	6	38.50	63.70	45.43	9.17	36.26	54.60

El menor porcentaje de transmitancia a 445 nm fue producido por el carbón activado en la dosis de 0.1 g/L (18.20%). La gelatina produjo el porcentaje de transmitancia más alto, en la dosis de 0.2 g/L (49.90%). En el grupo de dosis de la gelatina, el menor porcentaje de transmitancia a 445 nm fue de: 20.80%, generado por la dosis de 0.1 g/L. Para el caso del carbón activado el mayor porcentaje producido fue de: 28.60%; por la dosis 0.1 g/L. El menor porcentaje de transmitancia a 495 nm fue producido por el carbón activado en la dosis de 0.1 g/L (24.80%). La gelatina produjo el porcentaje de transmitancia más alto, en la dosis de 0.2 g/L (61.00%). En el grupo de dosis de la gelatina, el menor porcentaje de transmitancia a 445 nm fue de: 30.20%, generado por la dosis de 0.1 g/L. Para el caso del carbón activado el mayor porcentaje producido fue de: 38.40%; por la dosis 0.125 g/L. El menor porcentaje de transmitancia a 550 nm fue producido por el carbón activado en la dosis de 0.1 g/L (34.80%). La gelatina produjo el porcentaje de transmitancia más alto, en la dosis de 0.2 g/L (67.50%). En el grupo de dosis de la gelatina, el menor porcentaje de transmitancia a 550 nm fue de: 37.6000, generado por la dosis de 0.1 g/L. Para el caso del carbón activado el mayor porcentaje producido fue de: 47.20%; por la dosis 0.125 g/L.

Las medias de los porcentajes de transmitancia de ambos agentes clarificantes y a las tres longitudes de onda, se describen en la siguiente figura:

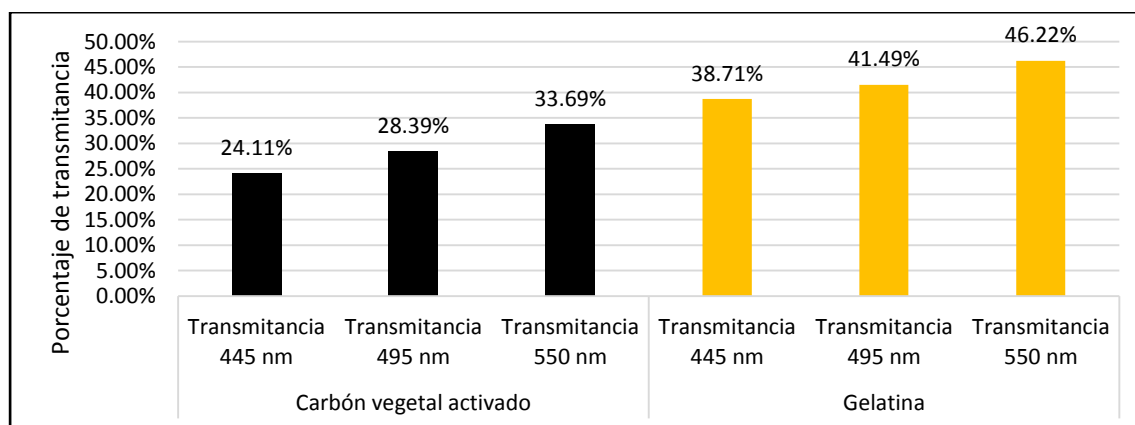


Figura 3. Resumen de las medias de los porcentajes de transmitancia según los clarificantes a tres longitudes de onda

La gelatina produjo promedios de porcentaje de transmitancia más elevados que el carbón activado en las tres longitudes de onda. Este fenómeno puede explicarse abordando el modo de acción de los agentes clarificantes, de acuerdo a su naturaleza físico-química, el carbón activado se enlaza con moléculas débilmente polares, especialmente con aquellas que contienen anillos de benceno. Según Vogt (1972) el carbón elimina efectivamente compuestos fenólicos, especialmente los pequeños, mientras los compuestos mayores que los dímeros son demasiado grandes para ser adsorbidos; lo cual es una limitante de este agente clarificante. Ribéreau-Gayon *et al.* (2003) explica que el encolado o clarificación con un agente proteico es un juego de cargas de partículas que depende de su afinidad recíproca en el estado de dispersión; cuanto más completa sea la descarga, tanto más eficaz es la floculación y la clarificación. Las medias de los porcentajes de transmitancia de las dosis de ambos agentes clarificantes y a las tres longitudes de onda, se describen en la siguiente figura:

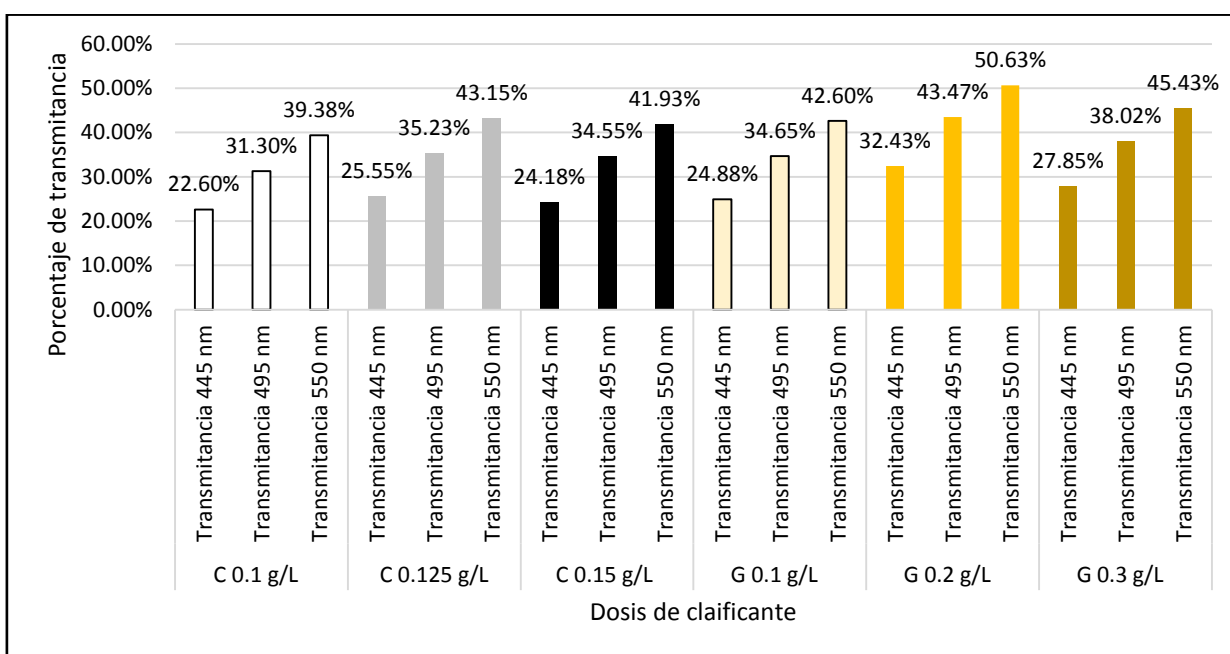


Figura 4. Resumen de las medias de los porcentajes de transmitancia según las dosis de clarificantes a tres longitudes de onda

Las dosis de gelatina produjeron promedios de porcentaje de transmitancia más elevados que las dosis de carbón activado en las tres longitudes de onda, dentro de las dosis de gelatina, la dosis 0.2 g/L, presenta la el porcentaje promedio más alto (50.63%) para la longitud de onda 550 nm, tal comportamiento según Ribéreau-Gayon *et al.* (2003) se explica debido a que el encolado o clarificación con un agente proteico es un juego de cargas de partículas que depende de su afinidad recíproca en el estado de dispersión; cuanto más completa sea la descarga, tanto más eficaz es la floculación y la clarificación. Por tanto, se dice que la dosis de gelatina de 0.2 g/L produce una descarga más completa de las cargas presentes en el vino.

4.2.4.1 Eficacia de transmitancia

Los valores generados previo a la clarificación fueron tomados como referencia para la determinación de la eficacia, para el caso de la transmitancia, se utilizó el valor de la media más su desviación estándar (Cuadro 14) es decir: 13.53% a 445 nm, 18.28% a 495 nm y 23.98% a 550 nm; y posteriormente, a este valor se le restaron los porcentajes de transmitancia obtenidos en cada una de las observaciones de los tratamientos. La diferencia entre ambos supone la eficacia de clarificación. La eficacia en los aumentos de los porcentajes de la transmitancia se describe a continuación.

Cuadro 14. Resumen de la eficacia en el aumento de la transmitancia a las tres longitudes de onda de acuerdo al tipo de agente clarificante (%)

Longitud de onda	Agente clarificante	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar	Intervalo	
							Mínimo	Máximo
445 nm	Carbón vegetal activado	18	4.67	15.07	10.58	2.95	7.63	13.53
	Gelatina	18	7.27	36.37	14.86	7.93	6.93	22.79
495 nm	Carbón vegetal activado	18	6.51	20.11	15.41	3.71	11.70	19.12
	Gelatina	18	11.91	42.71	20.43	8.41	12.02	28.84
550 nm	Carbón vegetal activado	18	10.81	23.61	17.50	3.90	13.60	21.40
	Gelatina	18	13.61	43.51	22.23	8.34	13.89	30.57

El menor valor de la eficacia en el aumento de la transmitancia a 445 nm lo produjo el carbón activado, con 4.67%, y el mayor valor fue producido por la gelatina, con 36.37%. El carbón vegetal activado tuvo un promedio de eficacia de transmitancia de 10.58%, menor que el de la gelatina, cuya diferencia fue de 4.28%; no obstante, las desviaciones fueron mayores en la gelatina en 4.98% respecto al carbón vegetal activado, es decir, hubo menos variación en este último agente clarificante. El menor valor de la eficacia en el aumento de la transmitancia a 495 nm lo produjo el carbón activado, con 6.51%, y el mayor valor fue producido por la gelatina, con 42.71%. El carbón vegetal activado tuvo un promedio de eficacia de transmitancia de 15.41%, menor que el de la gelatina, cuya diferencia fue de 5.02%; no obstante, las desviaciones fueron mayores en la gelatina en 4.70% respecto al carbón vegetal activado, es decir, hubo menos variación en este último agente clarificante. El menor valor de la eficacia en el aumento de la transmitancia a 550 nm lo produjo el carbón activado, con 10.18%, y el mayor valor fue producido por la gelatina, con 43.51%. El carbón vegetal activado tuvo un promedio de eficacia de transmitancia de 17.50%, menor que el de la gelatina, cuya diferencia fue de 4.73%; no obstante, las desviaciones fueron mayores en la gelatina en 4.44% respecto al carbón vegetal activado, es decir, hubo menos variación en este último agente clarificante. Las dosis utilizadas en ambos agentes clarificantes, produjeron los siguientes resultados:

Cuadro 15. Resumen de la eficacia en el aumento de la transmitancia a las tres longitudes de onda de acuerdo a las dosis de agente clarificante (%)

Longitud de onda	Dosis	n	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar	Intervalo	
							Mínimo	Máximo
445 nm	C 0.1 g/L	6	4.67	15.07	9.07	4.15	4.92	13.22
	C 0.125 g/L	6	8.77	14.77	12.02	2.37	9.65	14.39
	C 0.15 g/L	6	8.37	11.77	10.65	1.25	9.40	11.90
	G 0.1 g/L	6	7.27	15.57	11.35	3.38	7.97	14.73
	G 0.2 g/L	6	9.67	36.37	18.90	9.53	9.37	28.43
	G 0.3 g/L	6	8.07	31.87	14.32	8.76	5.56	23.08
495 nm	C 0.1 g/L	6	4.67	6.51	19.91	5.19	14.72	25.10
	C 0.125 g/L	6	8.77	13.51	20.11	2.66	17.45	22.77
	C 0.15 g/L	6	8.37	14.41	18.01	1.49	16.52	19.50
	G 0.1 g/L	6	7.27	11.91	21.21	3.77	17.44	24.98
	G 0.2 g/L	6	9.67	14.91	42.71	9.96	32.75	52.67
	G 0.3 g/L	6	8.07	14.51	37.71	8.90	28.81	46.61

550 nm	C 0.1 g/L	6	10.81	23.61	15.40	5.42	9.98	20.82
	C 0.125 g/L	6	14.41	23.21	19.16	3.40	15.76	22.56
	C 0.15 g/L	6	15.61	19.21	17.95	1.38	16.57	19.33
	G 0.1 g/L	6	13.61	23.41	18.61	4.06	14.55	22.67
	G 0.2 g/L	6	17.11	43.51	26.65	9.80	16.85	36.45
	G 0.3 g/L	6	14.51	39.71	21.45	9.17	12.28	30.62

El menor valor de la eficacia en el aumento de la transmitancia a 445 nm fue producido por el carbón activado en la dosis de 0.1 g/L (4.67%). La gelatina produjo el mayor valor de la eficacia, en la dosis de 0.2 g/L (36.37%). En el grupo de dosis de la gelatina, el menor valor de eficacia fue de: 7.27%, generado por la dosis de 0.1 g/L. Para el caso del carbón activado el mayor valor de eficacia producido fue de: 14.77% por la dosis 0.125g/L. El menor valor de la eficacia en el aumento de la transmitancia a 495 nm fue producido por el carbón activado en la dosis de 0.1 g/L (4.67%). La gelatina produjo el mayor valor de la eficacia, en la dosis de 0.2 g/L (14.91%). En el grupo de dosis de la gelatina, el menor valor de eficacia fue de: 7.27%, generado por la dosis de 0.1 g/L. Para el caso del carbón activado el mayor valor de eficacia producido fue de: 14.41% por la dosis 0.15g/L. El menor valor de la eficacia en el aumento de la transmitancia a 550 nm fue producido por el carbón activado en la dosis de 0.1 g/L (10.81%). La gelatina produjo el mayor valor de la eficacia, en la dosis de 0.2 g/L (43.51%). En el grupo de dosis de la gelatina, el menor valor de eficacia fue de: 13.61%, generado por la dosis de 0.1 g/L. Para el caso del carbón activado el mayor valor de eficacia producido fue de: 23.61% por la dosis 0.1g/L.

Las medias de los valores de la eficacia en el aumento de la transmitancia de ambos agentes clarificantes y a las tres longitudes de onda, se describen en la siguiente figura:

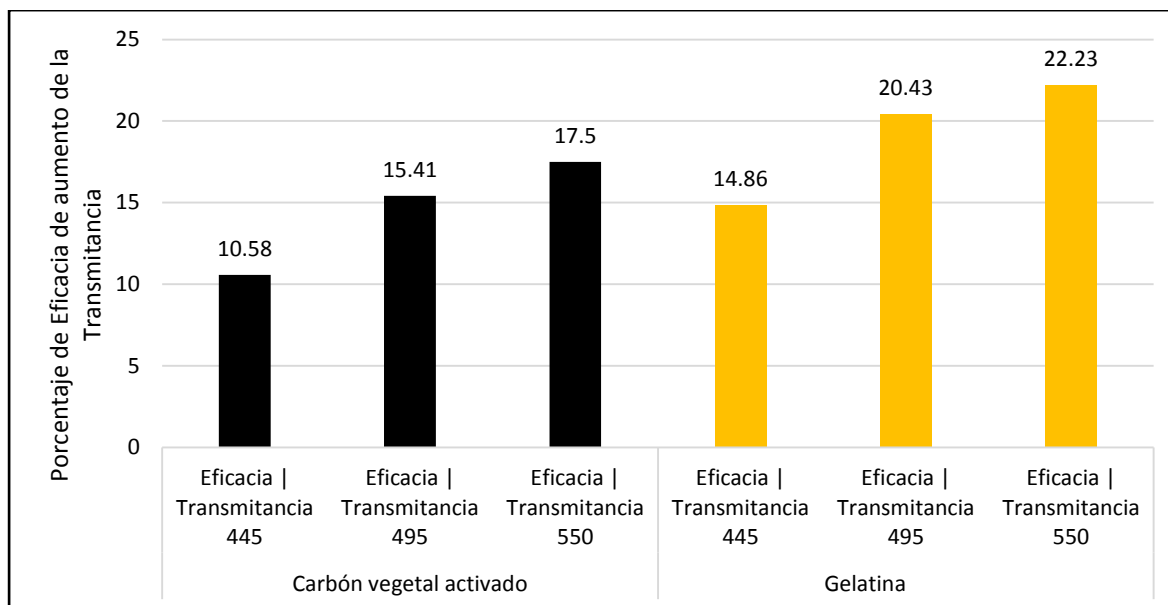


Figura 4. Resumen de los valores de la eficacia en el aumento de la transmitancia según los clarificantes a tres longitudes de onda (%)

La gelatina produjo promedios de valores de la eficacia en el aumento de la transmitancia más elevados que el carbón activado en las tres longitudes de onda, de modo que para determinar si las medias de los porcentajes de transmitancia entre agentes clarificantes fueron significativamente distintas entre sí, se aplicó la prueba de T para muestras independientes.

Cuadro 16. Prueba de T para muestras independientes – Eficacia en el aumento de la transmitancia a 445 nm, 495nm y 550 nm - Agentes clarificantes

Longitud de onda	Grupo 1	Grupo 2	p(HomVar)	p-valor
445 nm	{Carbón vegetal activado}	{Gelatina}	0.0002	0.0432
495 nm	{Carbón vegetal activado}	{Gelatina}	0.0458	0.0258
550 nm	{Carbón vegetal activado}	{Gelatina}	0.0293	0.0367

Las varianzas de las muestras no fueron homogéneas ($p_{\text{HomVar}} < 0.05$), no obstante, se aplicó la corrección de Satterwait a un nivel de significancia del 5%. Los agentes clarificantes produjeron distintos efectos en los valores de la eficacia en el aumento de la transmitancia a 445, 495 y 550 nm ($p < 0.05$); a un nivel de confianza de 5%. Los promedios más altos de

transmitancia fueron producidos por la gelatina, sin embargo, los efectos fueron estadísticamente similares al carbón vegetal activado. De manera que, independientemente el agente clarificante que se utilice y la longitud de onda a la que mida, se obtendrán vinos con similar limpidez. Ambos agentes clarificantes son similarmente eficaces.

Las diferencias entre ambos agentes clarificantes se resume en la siguiente figura:

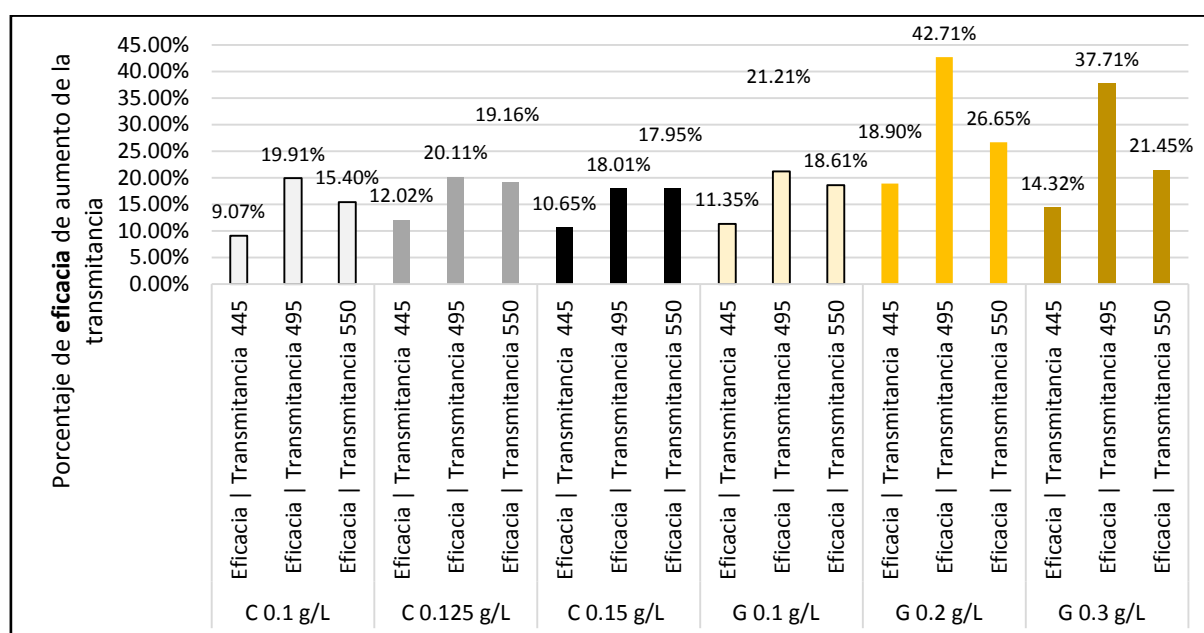


Figura 5. Resumen de los valores de la eficacia en el aumento de la transmitancia a 445, 495 y 550 nm de acuerdo a las dosis y tipo de agente clarificante

El mayor valor de la eficacia en el aumento de la transmitancia a 445 nm fue producido por la gelatina a 0.2 g/L (42.71%); mientras que el menor valor lo produjo el carbón activado a 0.15 g/L (18.01%); la diferencia entre ambos resultados supone una diferencia de 24.7 puntos porcentuales.

Para determinar si existieron diferencias significativas entre ambos agentes clarificantes tomando en cuenta la eficacia en el aumento de la transmitancia a tres longitudes de onda, se aplicó un análisis de varianza multivariante (según Roy).

Cuadro 17. Análisis de la varianza multivariante según Roy de acuerdo a los agentes clarificantes – Eficacia en el aumento de la transmitancia a 445, 495 y 550 nm

F.V.	Estadístico	F	gl(num)	gl(den)	p
Agente clarificante	0.17	1.87	3	32	0.1553

Los agentes clarificantes produjeron similares efectos en la eficacia en el aumento de la transmitancia del vino considerando las tres longitudes de onda ($p > 0.05$). Independientemente del tipo de agente clarificante los resultados de transmitancia fueron similares; a un nivel de confianza del 5%. Independientemente del tipo de agente clarificante utilizado y de las longitudes de onda a la que se realizaron las mediciones, se obtuvieron eficacias de transmitancia estadísticamente similares. Es decir, resulta indiferente utilizar gelatina o carbón vegetal activado para clarificar de manera eficaz el vino de piña y consecuentemente obtener una bebida límpida.

Para determinar si existieron diferencias significativas entre las dosis de los agentes clarificantes tomando en cuenta la transmitancia a tres longitudes de onda, se aplicó un análisis de varianza multivariante (según Roy).

Cuadro 18. Análisis de la varianza multivariante según Roy de acuerdo a la dosis de agentes clarificantes – Eficacia en el aumento de la transmitancia a 445, 495 y 550 nm

Fuente de variación	Estadístico	F	gl(num)	gl(den)	p
Dosis	0.62	3.7	5	30	0.01

Las dosis de los agentes clarificantes produjeron distintos efectos en la eficacia en el aumento de la transmitancia del vino considerando las tres longitudes de onda ($p < 0.05$); a un nivel de confianza del 5%. Para determinar las dosis que fueron significativamente distintas entre sí, se aplicó la prueba a posteriori según Hotelling.

Cuadro 19. Prueba a posteriori según Hotelling de acuerdo a la dosis de agentes clarificantes - Eficacia en el aumento de la transmitancia a 445, 495 y 550 nm

Dosis	Eficacia Transmitancia 445	Eficacia Transmitancia 495	Eficacia Transmitancia 550	n	Letras	
G 0.3 g/L	14.32	19.73	21.45	6	A	B
G 0.1 g/L	11.35	16.36	18.61	6	A	B
C 0.15 g/L	10.65	16.26	17.95	6	A	B

C 0.125 g/L	12.02	16.95	19.16	6	A	B
C 0.1 g/L	9.07	13.01	15.40	6	A	
G 0.2 g/L	18.90	25.18	26.65	6		B

Las medias con una letra común no son significativamente diferentes ($p > 0.05$), de modo que la dosis de gelatina 0.2 g/L produjo resultados superiores que la dosis de carbón a 0.1 g/L, no obstante, la dosis de gelatina antes mencionada produjo resultados similares al resto de dosis; a un nivel de significancia del 5%. El efecto de la gelatina (superior al carbón) se debió a que en la floculación con cola proteica permite la eliminación de las partículas en suspensión y de las partículas coloidales; lo cual está dado por la acción de los taninos sobre la gelatina, formando compuestos de adsorción de alto peso molecular, mientras que el carbón activado limita su acción a compuestos de bajo peso molecular.

4.2.5 Análisis de correlación

Se presenta el análisis de correlación únicamente para el análisis de densidad puesto que no existieron diferencias significativas entre tratamientos para los análisis de extracto seco y cenizas.

Cuadro 20. Análisis de correlación entre la densidad y la transmitancia para el carbón activado

Variable dependiente	Coefficiente de correlación	p-valor
Transmitancia 445 nm	-0.03	0.9102
Transmitancia 495 nm	-0.21	0.3919
Transmitancia 550 nm	-0.13	0.6055

La correlación entre densidad, y transmitancia (445,495 y 550 nm) para el carbón activado no son significativas ($p\text{-valor} > 0.05$). Por lo tanto, las ecuaciones de regresión lineal no son significativas para dicho agente clarificante.

Cuadro 21. Análisis de correlación entre la densidad y la transmitancia para la gelatina

Variable dependiente	Coefficiente de correlación	p-valor
Transmitancia 445 nm	0.6700	0.0024
Transmitancia 495 nm	0.6400	0.0044
Transmitancia 550 nm	0.6400	0.0040

La correlación entre densidad y transmitancia (445,495 y 550 nm) para la gelatina son significativas (p-valor <0.05). Por lo tanto, las ecuaciones de regresión lineal son significativas para dicho agente clarificante.

4.2.6 Análisis de regresión lineal

El análisis de regresión lineal permite estudiar la relación funcional entre una variable respuesta Y (variable dependiente) y una o más variables regresoras X (variables independientes o predictoras) determinadas por la ecuación $Y = a + b(x)$.

Los siguientes cuadros muestran el análisis de regresión lineal entre la variable regresora: densidad de vino (variable independiente X) y la transmitancia (variable dependiente Y). Incluyen además las ecuaciones de regresión.

Cuadro 22. Análisis de regresión lineal según agente clarificante: carbón activado – Densidad (X) y transmitancia (Y)

Variable	Origen (a)	Pendiente (b)	Ecuación de regresión	p-valor
Transmitancia 445 nm	59.66	-36.04	$Y = 59.66 + (-36.04)(x)$	0.9084
Transmitancia 495 nm	364.57	-335.44	$Y = 364.57 + (-335.44)(x)$	0.3885
Transmitancia 550 nm	253.81	-215.25	$Y = 253.81 + (-215.25)(x)$	0.6014

El modelo de regresión lineal aplicado a la variable dependiente: transmitancia, y, la variable regresora: densidad, no fue significativo (p>0.05) a un nivel de significancia del 5%. Por lo tanto, las ecuaciones de regresión no se ajustan para el agente clarificante: carbón activado, en ninguna de las longitudes de onda de transmitancia. Las ecuaciones planteadas (Cuadro

22) no pueden predecir significativamente la transmitancia del vino de piña a partir de una medición de densidad. No se recomienda su utilización.

Cuadro 23. Análisis de regresión lineal según agente clarificante gelatina – Densidad (X) y transmitancia (Y)

Variable dependiente	Origen (a)	Pendiente (b)	Ecuación de regresión	p-valor
Transmitancia 445 nm	-1,307.51	1,353.20	$Y = -1,307.51 + 1,353.20 (x)$	0.0025
Transmitancia 495 nm	-1,311.60	1,367.80	$Y = -1,311.60 + 1,367.80 (x)$	0.0045
Transmitancia 550 nm	-1,304.68	1,368.41	$Y = -1,304.68 + 1,368.41 (x)$	0.0041

El modelo de regresión lineal aplicado a la variable dependiente: transmitancia, y, la variable regresora: densidad, fue significativo ($p < 0.05$) a un nivel de significancia del 5%. Por lo tanto, las ecuaciones de regresión se ajustan para el agente clarificante: gelatina, en todas las longitudes de onda de transmitancia. Las ecuaciones planteadas (Cuadro 23) sí pueden predecir significativamente la transmitancia del vino de piña a partir de una medición de densidad.

5. Conclusiones

- Utilizar jarabe de azúcar invertido en la elaboración de vinos como fuente de hidrato de carbono reduce los tiempos de fermentación, ya que mediante este proceso se desdobra la sacarosa en sus azúcares reductores y, por lo tanto, las levaduras realizan sus procesos metabólicos de manera más eficiente.
- Ambos agentes produjeron resultados favorables en la limpidez del vino de piña pues la densidad obtenida fue inferior a la densidad del agua a 25 °C.
- La dosis de gelatina 0.1 g/L y 0.2 g/L produjeron las menores densidades en el vino, lo cual descarta el exceso de cola (sobre encolado), generando un vino límpido al utilizar ambas dosis en el vino de piña. Aplicar la dosis de 0.3 g/L produjo sobre encolado, y consecuentemente la mayor densidad, lo cual es desfavorable en el proceso de clarificación del vino.
- Las dosis de carbón activado (0.1 g/L, 0.125 g/L y 0.15 g/L) no generaron un aumento en la densidad en el vino de piña debido a que la cantidad de agente clarificante utilizado sedimentó adecuadamente adsorbiendo y arrastrando las partículas enturbadoras del vino.
- Ambos agentes clarificantes aportaron cantidades mínimas de extracto seco las cuales están dentro del límite aceptable para vinos blancos (<2.51%).
- Las medias del contenido de cenizas en ambos agentes clarificantes se encuentran dentro del rango aceptable para vinos blancos (0.15% a 0.30%).
- Ambos agentes clarificantes produjeron similares efectos en la eficacia del aumento de la transmitancia. Es decir, independientemente del tipo de agente clarificante utilizado, los resultados de transmitancia fueron similares, exceptuando la dosis de gelatina 0.2 g/L y la dosis de carbón vegetal activado 0.1 g/L que se comportaron diferente entre sí. De modo que es posible obtener resultados similarmente satisfactorios en la limpidez del vino de piña con ambos agentes clarificantes, independientemente de las dosis en estudio.

- La longitud de onda de 550 nm se considera la más adecuada para la determinación de transmitancia del vino de piña, ya que produjeron las menores variaciones en los resultados, independientemente del tipo de agente clarificante y la dosis utilizada.
- Las ecuaciones de regresión lineal generadas para la gelatina, a las tres longitudes de onda, son estadísticamente válidas para la estimación de la transmitancia a partir de un método de determinación gravimétrico (densidad a 25 °C). De manera que es una alternativa viable para predecir la eficacia de clarificación y la limpidez del vino de piña en ausencia de un espectrofotómetro.

6. Recomendaciones

- Normalizar el proceso de elaboración de vino de piña mediante la determinación de parámetros físico-químicos cuyas funciones estén orientadas a controlar y gestionar la calidad de la producción. Los puntos de proceso fundamentales son: mosto, vino sin clarificar y vino clarificado.
- Generar normativas que contribuyan a controlar la calidad e inocuidad del vino de piña con el fin de contribuir a la promoción del consumo de la bebida como alternativa al resto de bebidas alcohólicas en El Salvador y el resto del mundo.
- Investigar los diferentes procesos para la obtención de jugo de frutas que permitan una separación eficaz de la fibra con el fin de evitar su incorporación en el mosto y consecuentemente afectar la limpidez y la eficiencia en el proceso de clarificación del vino.
- Realizar investigaciones relacionadas a la eficacia de reducción de tiempos de fermentación utilizando jarabe de azúcar invertido en la producción de vino de piña.
- Realizar investigaciones que contribuyan a aislar cepas de levaduras propias de la piña para ser reproducidas e inoculadas en la elaboración del vino como sustituto de la levadura comercial o de uvas. Es preciso evaluar los cambios en el proceso de fermentación y en las propiedades organolépticas de la bebida.
- Evaluar los efectos clarificantes de gelatina 0.2 g/L y posterior aplicación de carbón vegetal activado 0.1 g/L como agentes complementarios.
- Desarrollar análisis sensoriales en el vino de piña para determinar la aceptación organoléptica del producto.

7. Bibliografía

Alvarenga, Y. 2004. Funcionalidad de tres agentes clarificantes en los vinos de flor de rosa de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) y naranja (*Citrus sinensis*). Tesis Lic. Ing. Honduras, Zamorano. 62 p.

Avilés, O; Moran, E. 2009. Evaluación de la capacidad clarificante de la arcilla de Suchitoto/Cinquera, en comparación con bentonita USP en la producción de vino de *Hibiscus sabdariffa* (rosa de jamaica). Tesis Lic. San Salvador, SV, UES. 218 p.

Badui, S; Gálvez, A; Flores, I; González, A; Quirasco, M; Munguía, A; Guerrero, I; López, E; Armenta, R; García, R; Ponce, E; Escalona, H; Montejano, J; Valle, P; Barrios, A; Avilés, A; Fernández, M. 2013. Química de los alimentos. Ed. RP Islas. 5 ed. Distrito Federal, MX. PEARSON. 723 p.

Cabrera, L; Perlera, A. 2009. Evaluación de la capacidad de clarificación de la arcilla de la zona de Texistepeque, en vino obtenido a partir de *Hibiscus sabdariffa* (flor de jamaica). Tesis Lic. San Salvador, SV, UES. 183 p.

Carranza, F. 2014. Manual de laboratorio de química agrícola. San Salvador, SV. 73p.

CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal Enrique Álvarez Córdova), 2011. Guía Técnica del Cultivo de Piña (en línea), consultado 17 feb. 2016. Disponible en: <http://www.centa.gob.sv/docs/guias/frutales/GUIA%20TECNICA%20PIN%CC%83A%202011.pdf>

CENTA (Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal Enrique Álvarez Córdova), 2013. Piña: ficha de mercado (en línea). Consultado 17 feb. 2016. Disponible en: <http://simag.mag.gob.sv/uploads/pdf/Perfiles201412393352.pdf>

Coronel, M. S.f. Los vinos de fruta (en línea). Consultado ene. 2016. Disponible en: <http://www.ute.edu.ec/fci/coronel.pdf>

De Lucas, J. 1994. Transformaciones químicas, Bioquímicas y Análisis del Vino. (En línea). Consultado ene. 2016. Disponible en: <http://platea.pntic.mec.es/jdelucas/fermentacion.htm>

García, J; Xirau, V. S.f. Técnicas en análisis de enología (en línea). Consultado ene. 2016. Disponible en: <http://www.usc.es/caa/MetAnalisisStgo1/enologia.pdf>

González, M. 2013. Haciendo Vino de Frutas en la Cocina (en línea). Consultado may. 2015. Disponible en: <http://www.vinodefruta.com/descargas/Haciendo%20Vino%20de%20Frutas%20-%20Muestra.pdf>

Kuskoski, E; Asuero, A; Troncoso, A; Mancini-Filho, J; Fett, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en pulpa de frutos (en línea). Consultado may. 2015. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>

MAG (Ministerio de Agricultura y Ganadería). 2009. IV Censo Agropecuario (en línea). Consultado may. 2015. Disponible en: http://www.mag.gob.sv/index.php?option=com_phocadownload&view=category&id=35:iv-censos-agropecuarios&Itemid=229

MINEC (Ministerio de Economía). 2011. Ficha de Producto de El Salvador hacia el Mercado de la Unión Europea. Piña (en línea). Consultado may. 2015. Disponible en: www.minec.gob.sv/cajadeherramientasue/index.php/.../19-pina.html

Martínez, A. 2012. Desarrollo de carbones activados a partir de residuos lignocelulósicos para la adsorción y recuperación de tolueno y n-hexano (en línea). Consultado mar. 2015. Disponible en: http://digital.csic.es/bitstream/10261/74991/1/Tesis%20Martinez%20de%20Yuso_A_repositorio%20CSIC.pdf

Martínez, D; Venturini, B; Rodríguez, A; Strazza, E. s.f. Utilización del carbón activado de escobajo de uva para el abatimiento de Ocratoxina A (OTA) en vinos (en línea). Consultado mar. 2015. Disponible en: <http://aiquruguay.org/congreso/download/TL60.pdf>

Méndez, M. 2006. Evaluación de la estabilidad del vino de naranja (*Citrus sinensis*) usando un agente y una enzima clarificante. Tesis Lic. Ing. Honduras, Zamorano. 44 p.

Morris, J; Main, G. 2007. Agentes clarificantes para vino (en línea). Trad. V Morales. Consultado 9 mar. 2015. Disponible en: http://www.alimentariaonline.com/media/MA018_CLARIVINO_F.pdf

Murillo, O. s.f. Ficha técnica de industrialización de piña (en línea). Consultado 17 feb. 2016. Disponible en: http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/806/Pina_FTP.pdf

Peynaud, E. 1972. Enología práctica: conocimiento y elaboración del vino. Trad. A González. Madrid, ES. Mundi-Prensa. 414 p.

Rauch, G. 1987. Fabricación de mermeladas. Zaragoza, ES. Acribia. 199 p.

Ribéreau-Gayon, P; Glories, Y; Maujean, A; Dubourdieu, D. 2003. Tratado de enología: Microbiología del vino Vinificaciones. Trad. MT Miccio. Buenos Aires, AR. Hemisferio Sur. v.2, tomo 1, 655 p.

Ribéreau-Gayon, P; Glories, Y; Maujean, A; Dubourdieu, D. 2003. Tratado de enología: Química del vino estabilización y tratamientos. Trad. MT Miccio. Buenos Aires, AR. Hemisferio Sur. v.2, tomo 2, 537 p.

Scheihing 2005. Elaboración de Vino de Arándano (*Vaccinium corymbosum*) como Materia Prima para la Producción de Vinagre. Tesis Lic. Valdivia, CL, UACH. 67 p.

UNIRIOJA (Universidad de La Rioja), s.f. Método oficial de determinación del color del vino (en línea). La Rioja, ES. Consultado 26 mar. 2015. Disponible en: http://www.unirioja.es/cu/fede/color_de_vino/capitulo06.pdf

Vogt, E. 1972. Fabricación de vinos. Trad. S Herberg. Zaragoza, ES. Acribia. 292 p.

8. Anexos

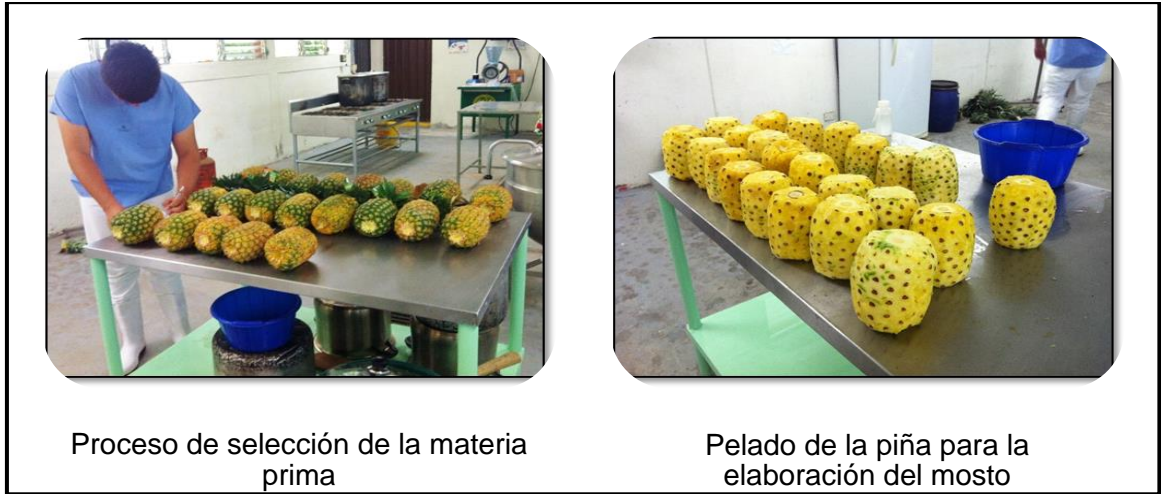


Figura A- 1. Proceso de elaboración de vino de piña



Figura A- 2. Tacho de fermentación e inculo de levaduras

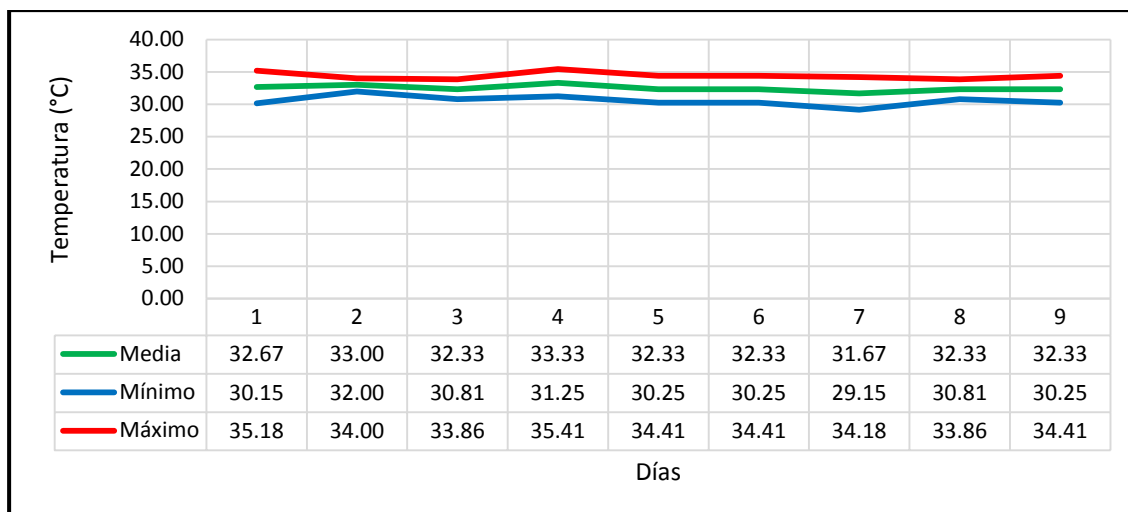


Figura A- 3. Registro de temperatura en °C durante la fermentación alcohólica



Figura A- 4. Almacenamiento de muestras en Laboratorio de Química Agrícola



Figura A- 5. Aforo de balón volumétrico en análisis de densidad



Figura A- 6. Dosificación de muestra para análisis de extracto seco



Figura A- 7. Cápsulas de porcelana utilizadas para análisis de cenizas

Cuadro A-8. Prueba de T para porcentaje de ceniza según el agente clarificante

Variable	Variable	pHomVar	p-valor	prueba
Agente clarificante	Cenizas (%)	0.5192	0.744	Bilateral



Análisis de muestras de vino en el espectrofotómetro

Anotación de valores de transmitancia

Figura A-9. Análisis de transmitancia



Figura A-10. Destilación del vino de piña

Cuadro A-11. Variables independientes

Agente clarificante	Dosis	Repetición	Zona de muestreo	Densidad (g/mL)	Extracto seco (%)	Cenizas (%)
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	1	1	0,9875	2,37	0,26
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	1	2	0,9849	2,34	0,14
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	1	3	-	2,38	0,24
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	1	1	0,9857	2,35	0,1
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	1	2	0,9849	2,46	0,39
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	1	3	-	2,38	0,14
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	1	1	0,9918	2,5	0,29
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	1	2	0,9848	2,3	0,16
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	1	3	-	2,47	0,33

Agente clarificante	Dosis	Repetición	Zona de muestreo	Densidad (g/mL)	Extracto seco (%)	Cenizas (%)
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	2	1	0,9875	2,34	0,14
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	2	2	0,9838	2,49	0,29
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	2	3	-	2,33	0,12
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	2	1	0,9883	2,47	0,33
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	2	2	0,9889	2,45	0,14
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	2	3	-	2,43	0,14
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	2	1	0,9856	2,38	0,16
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	2	2	0,985	2,49	0,31
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	2	3	-	2,38	0,12
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	3	1	0,9916	2,42	0,23
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	3	2	0,9841	2,39	0,16
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	3	3	-	2,37	0,19
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	3	1	0,9848	2,34	0,12
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	3	2	0,9856	2,46	0,18
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	3	3	-	2,29	0,14
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	3	1	0,9849	2,49	0,15

Agente clarificante	Dosis	Repetición	Zona de muestreo	Densidad (g/mL)	Extracto seco (%)	Cenizas (%)
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	3	2	0,9853	2,35	0,12
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	3	3	-	1,36	0,21
Gelatina	G 0.1 g/L	1	1	0,9885	2,46	0,14
Gelatina	G 0.1 g/L	1	2	0,9853	2,3	0,33
Gelatina	G 0.1 g/L	1	3	-	2,3	0,12
Gelatina	G 0.2 g/L	1	1	0,9872	2,44	0,15
Gelatina	G 0.2 g/L	1	2	0,9921	2,36	0,12
Gelatina	G 0.2 g/L	1	3	-	2,49	0,27
Gelatina	G 0.3 g/L	1	1	0,9948	2,17	0,16
Gelatina	G 0.3 g/L	1	2	0,9831	2,45	0,23
Gelatina	G 0.3 g/L	1	3	-	2,34	0,16
Gelatina	G 0.1 g/L	2	1	0,9863	2,47	0,1
Gelatina	G 0.1 g/L	2	2	0,9847	2,25	0,16
Gelatina	G 0.1 g/L	2	3	-	2,49	0,29
Gelatina	G 0.2 g/L	2	1	0,9946	2,35	0,17
Gelatina	G 0.2 g/L	2	2	0,9849	2,37	0,29
Gelatina	G 0.2 g/L	2	3	-	2,38	0,14
Gelatina	G 0.3 g/L	2	1	0,9882	2,38	0,14
Gelatina	G 0.3 g/L	2	2	0,9851	2,36	0,12
Gelatina	G 0.3 g/L	2	3	-	2,38	0,21
Gelatina	G 0.1 g/L	3	1	0,9866	2,27	0,12
Gelatina	G 0.1 g/L	3	2	0,983	2,47	0,23
Gelatina	G 0.1 g/L	3	3	-	2,33	0,2
Gelatina	G 0.2 g/L	3	1	0,983	2,4	0,22
Gelatina	G 0.2 g/L	3	2	0,9849	2,36	0,14
Gelatina	G 0.2 g/L	3	3	-	2,36	0,25
Gelatina	G 0.3 g/L	3	1	0,9931	2,45	0,16
Gelatina	G 0.3 g/L	3	2	0,9844	2,4	0,37
Gelatina	G 0.3 g/L	3	3	-	2,3	0,14

Cuadro A-12. Variable dependiente

Agente clarificante	Dosis	R	Transmitancia 445 nm	Transmitancia 495 nm	Transmitancia 550 nm
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	1	21.3	29.6	37.4
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	1	19.6	30.7	36.9
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	1	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	1	25.7	34.9	43.5
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	1	22.3	31.8	40.6
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	1	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	1	21.9	32.7	39.6
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	1	24.5	33.8	42.7
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	1	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	2	26.8	36.7	44.7
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	2	28.6	38.2	47.6
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	2	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	2	28.1	38.2	46.6
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	2	28.3	38.4	47.2
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	2	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	2	25.3	35.2	42
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	2	24.4	36	43

Agente clarificante	Dosis	R	Transmitancia 445 nm	Transmitancia 495 nm	Transmitancia 550 nm
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	2	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	3	21.1	24.8	34.8
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	3	18.2	27.8	34.9
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	3	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	3	25.2	35	42.6
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	3	23.7	33.1	38.4
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	3	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	3	23.8	33.3	41.1
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	3	25.2	36.3	43.2
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	3	-	-	-
Gelatina	G 0.1 g/L	1	27.8	38	46.3
Gelatina	G 0.1 g/L	1	25.9	35.4	43.8
Gelatina	G 0.1 g/L	1	-	-	-
Gelatina	G 0.2 g/L	1	33	46	54.1
Gelatina	G 0.2 g/L	1	49.9	61	67.5
Gelatina	G 0.2 g/L	1	-	-	-
Gelatina	G 0.3 g/L	1	45.4	56	63.7
Gelatina	G 0.3 g/L	1	24.5	34.4	42.5
Gelatina	G 0.3 g/L	1	-	-	-
Gelatina	G 0.1 g/L	2	29.1	39.5	47.4
Gelatina	G 0.1 g/L	2	21.3	30.2	37.6
Gelatina	G 0.1 g/L	2	-	-	-
Gelatina	G 0.2 g/L	2	31.5	41.3	48.8

Agente clarificante	Dosis	R	Transmitancia 445 nm	Transmitancia 495 nm	Transmitancia 550 nm
Gelatina	G 0.2 g/L	2	32.5	44.3	51.1
Gelatina	G 0.2 g/L	2	-	-	-
Gelatina	G 0.3 g/L	2	26.9	36.7	44.7
Gelatina	G 0.3 g/L	2	21.6	32.8	38.5
Gelatina	G 0.3 g/L	2	-	-	-
Gelatina	G 0.1 g/L	3	24.4	34.1	42.3
Gelatina	G 0.1 g/L	3	20.8	30.7	38.2
Gelatina	G 0.1 g/L	3	-	-	-
Gelatina	G 0.2 g/L	3	23.2	33.2	41.1
Gelatina	G 0.2 g/L	3	24.5	35	41.2
Gelatina	G 0.2 g/L	3	-	-	-
Gelatina	G 0.3 g/L	3	24.5	34.2	41.7
Gelatina	G 0.3 g/L	3	24.2	34	41.5
Gelatina	G 0.3 g/L	3	-	-	-

Cuadro A-13. Eficacia de variable dependiente

Agente clarificante	Dosis	R	Eficacia Transmitancia 445 nm	Eficacia Transmitancia 495 nm	Eficacia Transmitancia 550 nm
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	1	7.77	11.31	13.41
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	1	6.07	12.41	12.91
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	1	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	1	12.17	16.61	19.51
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	1	8.77	13.51	16.61
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	1	-	-	-
Agente	Dosis	R	Eficacia	Eficacia	Eficacia

clarificante			Transmitancia 445 nm	Transmitancia 495 nm	Transmitancia 550 nm
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	1	8.37	14.41	15.61
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	1	10.97	15.51	18.71
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	1	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	2	13.27	18.41	20.71
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	2	15.07	19.91	23.61
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	2	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	2	14.57	19.91	22.61
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	2	14.77	20.11	23.21
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	2	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	2	11.77	16.91	18.01
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	2	10.87	17.71	19.01
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	2	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	3	7.57	6.51	10.81
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	3	4.67	9.51	10.91
Carbón vegetal activado	C 0.1 g/L	3	-	-	-
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	3	11.67	16.71	18.61
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	3	10.17	14.81	14.41
Carbón vegetal activado	C 0.125 g/L	3	-	-	-
Agente	Dosis	R	Eficacia	Eficacia	Eficacia

clarificante			Transmitancia 445 nm	Transmitancia 495 nm	Transmitancia 550 nm
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	3	10.27	15.01	17.11
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	3	11.67	18.01	19.21
Carbón vegetal activado	C 0.15 g/L	3	-	-	-
Gelatina	G 0.1 g/L	1	14.27	19.71	22.31
Gelatina	G 0.1 g/L	1	12.37	17.11	19.81
Gelatina	G 0.1 g/L	1	-	-	-
Gelatina	G 0.2 g/L	1	19.47	27.71	30.11
Gelatina	G 0.2 g/L	1	36.37	42.71	43.51
Gelatina	G 0.2 g/L	1	-	-	-
Gelatina	G 0.3 g/L	1	31.87	37.71	39.71
Gelatina	G 0.3 g/L	1	10.97	16.11	18.51
Gelatina	G 0.3 g/L	1	-	-	-
Gelatina	G 0.1 g/L	2	15.57	21.21	23.41
Gelatina	G 0.1 g/L	2	7.77	11.91	13.61
Gelatina	G 0.1 g/L	2	-	-	-
Gelatina	G 0.2 g/L	2	17.97	23.01	24.81
Gelatina	G 0.2 g/L	2	18.97	26.01	27.11
Gelatina	G 0.2 g/L	2	-	-	-
Gelatina	G 0.3 g/L	2	13.37	18.41	20.71
Gelatina	G 0.3 g/L	2	8.07	14.51	14.51
Gelatina	G 0.3 g/L	2	-	-	-
Gelatina	G 0.1 g/L	3	10.87	15.81	18.31
Gelatina	G 0.1 g/L	3	7.27	12.41	14.21
Gelatina	G 0.1 g/L	3	-	-	-
Gelatina	G 0.2 g/L	3	9.67	14.91	17.11
Gelatina	G 0.2 g/L	3	10.97	16.71	17.21
Gelatina	G 0.2 g/L	3	-	-	-
Agente	Dosis	R	Eficacia	Eficacia	Eficacia

clarificante			Transmitancia 445 nm	Transmitancia 495 nm	Transmitancia 550 nm
Gelatina	G 0.3 g/L	3	10.97	15.91	17.71
Gelatina	G 0.3 g/L	3	10.67	15.71	17.51
Gelatina	G 0.3 g/L	3	-	-	-