

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA PARACENTRAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRONÓMICAS**



**Desarrollo de una bebida fermentada a base de mamey (*Mammea americana*
L.) con la adición de *Lactobacillus casei***

POR:

**JOSÉ ERICK AMAYA AMAYA
GRECIA ALEJANDRA SALAZAR CRUZ
LUIS ALFREDO PAZ QUINTANILLA**

**REQUISITO PARA OPTAR EL GRADO DE:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

San Vicente, 23 de Abril 2019

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

LIC. M. Sc. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO.

SECRETARIO GENERAL:

LIC. CRISTÓBAL HERNÁN RÍOS BENÍTEZ

FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA PARACENTRAL

DECANA:

LICDA. M. Sc. YOLANDA CLEOTILDE JOVEL PONCE.

SECRETARIA:

LICDA. M. Sc. ELIDA CONSUELO FIGUEROA DE FIGUEROA.

JEFE DE DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ING. AGR. M. S.c. RENÉ FRANCISCO VÁSQUEZ

DOCENTES ASESORES

ING. AGROINDUSTRIAL KATYA WEIL SOSA

ING. AGR.M.S.C. SAMUEL UMAÑA ESCOTO

LIC. JUAN AGUSTÍN CUADRA SOTO

COORDINADOR GENERAL DE PROCESOS DE GRADUACIÓN

ING. AGR. EDGARD FELIPE RODRÍGUEZ.

RESUMEN

En la presente investigación se realizó una bebida fermentada a base de Mamey (*Mammea americana* L.) por ser una fruta nativa de Mesoamérica. La elaboración de la bebida fue a escala de laboratorio; Como control de calidad en proceso se le realizaron análisis físico-químicos (Acidez titulable, pH, Brix y alcohol) bajo la norma mexicana, NMX-V-012-1986. Para asegurar que la matriz alimentaria de *Lactobacillus casei* tuviera las condiciones óptimas.

Fue contemplada la adición del probiótico *Lactobacillus casei* a la bebida fermentada dado que traería beneficios en la salud de las personas, específicamente para mejorar el sistema gastrointestinal debido a que las bacterias ácido lácticas del género *Lactobacillus* poseen muchos beneficios para la reconstitución de la microbiota intestinal.

Dicha bebida fue dividida en 3 tratamientos de 1 Litro cada uno, a cada uno de los tratamientos se les adicionó una concentración diferente del probiótico *Lactobacillus casei*. Para la definición de estas concentraciones se basó en la cantidad mínima requerida de probióticos benéfica para el cuerpo humano, siendo esta 10^6 Unidades formadoras de colonia.

Al realizar el conteo de bacterias ácido lácticas mediante placas Petri con agar Man Rogosa Sharpe fue posible su conteo únicamente a las 48 horas de su siembra, posteriormente se realizó un conteo a los 8 días y se comprobó que la cepa probiótica de *Lactobacillus casei*. No fue capaz de sobrevivir en la bebida fermentada (vino) de mamey a diferencia de la cepa (*Lactobacillus casei* CIAL 51) utilizada en la investigación de supervivencia probiótica en vinos por García Ruiz.

Por lo cual se recomienda en futuras investigaciones utilizar una cepa diferente al *Lactobacillus casei*. Que pueda resistir las condiciones inhóspitas que produce una bebida fermentada.

Palabras clave: *Lactobacillus casei*, *Mammea americana* L., alimentos funcionales, probióticos, bebida fermentada, vino, microbiota intestinal.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco grandemente a Dios todo poderoso y a la virgen María por haberme regalado la sabiduría para finalizar esta etapa tan importante de mi vida y no desampararme en cada momento ni en los momentos más difíciles de esta trayectoria.

A mis padres María Concepción Amaya y Basilio Amaya por brindarme su apoyo incondicional y por unir esfuerzos para yo poder culminar mi estudio académico, gracias por su confianza que pusieron en mí y su cariño y amistad en esta etapa de mi vida.

Gracias a los asesores Ingeniera Katya Weil Sosa, Ingeniero Samuel Escoto Umaña y Lic. Juan Cuadra Soto quien estuvo en cada actividad realizada en esta investigación en donde nos compartió de sus conocimientos científicos y prácticos, nos aconsejó y guio durante todo este proceso académico.

A todas las personas especialmente a docentes de ciencias agronómicas de la facultad Multidisciplinaria paracentral que fueron parte de este proceso investigativo quienes cordialmente nos dieron su ayuda profesional.

José Erick Amaya Amaya

AGRADECIMIENTOS

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme permitido la vida y el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mi madre, por ser el pilar más importante y por demostrarme siempre su amor, dedicación, esmero y apoyo incondicional sin importar todo el camino que hemos cruzado al cual le llamamos vida. A mi padre, a pesar de nuestra distancia, ha estado en esta fase presente y me ha apoyado.

A mis tías, tíos y primos a quienes quiero, por compartir momentos significativos conmigo y por siempre estar dispuestos a escucharme y ayudarme en cualquier momento.

A mis formadores técnicos, los cuales han fortalecido mis capacidades humanas, dado que sin todas estas personas inmersas en mi vida no hubiese logrado esta meta.

Grecia Alejandra Salazar Cruz

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco a Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de toda la carrera, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad y por brindarme muchos momentos de felicidad.

Agradezco a mis padres Ricardo Ernesto Paz y Cristabel de Paz por los valores que me han inculcado y por haberme brindado la oportunidad de tener una buena educación; A mis hermanos Luis Ernesto Paz y Ricardo Ernesto Paz por darme siempre su apoyo moral.

Le agradezco a nuestros asesores por todos los conocimientos que compartieron con nosotros; Ingeniera Katya Weil Sosa, Ingeniero Samuel Escoto Umaña y en especial al Licenciado Juan Cuadra Soto por toda la disponibilidad de tiempo y espacio brindada para que pudiéramos desarrollar nuestro trabajo de graduación con éxito.

A todas las personas especialmente a docentes de ciencias agronómicas de la facultad Multidisciplinaria paracentral que fueron parte de este proceso investigativo quienes cordialmente nos dieron su ayuda profesional.

Luis Alfredo Paz Quintanilla

DEDICATORIA

A Dios todo poderoso por sus bendiciones, por cuidarme en cada segundo y no haberme abandonado durante todos estos años de estudio y por no desampararme durante este trabajo de investigación.

Quiero agradecer grandemente a mi virgencita de Guadalupe que me concedió este milagro de salir bien durante toda esta trayectoria académica, gracias por el entendimiento y sabiduría y por no desampararme en los momentos más difíciles.

A mis padres María Concepción y José Basilio Amaya gracias por su amor, amistad, paciencia y que siempre me apoyaron en todo, siempre me animaron a salir adelante a pesar de las adversidades de la vida.

A mis hermanos por su amistad, amor, apoyo y ánimo que me brindaron durante todo este proceso académico.

A mis amigos y compañeros que me brindaron su apoyo incondicional, gracias por su amistad y que fueron parte de todo este proceso académico.

José Erick Amaya Amaya

DEDICATORIA

Me van a faltar páginas para agradecer a las personas que se han involucrado en la realización de este trabajo, sin embargo merecen reconocimiento especial mi Madre y mi Padre que con su esfuerzo y dedicación me ayudaron a culminar mi carrera universitaria y me dieron el apoyo suficiente para no decaer cuando todo parecía complicado e imposible.

Asimismo, agradezco infinitamente a mis tías, tíos y primos más cercanos, que con sus palabras me hacían sentir orgullosa de lo que soy y de lo que les puedo enseñar.

Espero algún día retribuir con la misma fuerza todo el apoyo recibido y nunca perder de vista que el amor y la perseverancia son los que me han ayudado a forjar parte de mi vida.

Grecia Alejandra Salazar Cruz

DEDICATORIA

La presente tesis la dedico con todo mi amor y cariño a Dios ya que gracias a él he logrado concluir mi carrera.

A mis padres, Ricardo Ernesto Paz y Cristabel de Paz por estar siempre a mi lado siempre brindándome su apoyo y sus consejos para poder ser una mejor persona.

A mi tía Silvia Morena Quintanilla (Q.D.E.P) por haber sido como una madre para mí, por sus consejos y todo su amor que hicieron de mi un hombre con principios y valores.

A mi abuela María de la Paz Quintanilla (Q.D.E.P) por enseñarme el camino de Dios y que para llegar a cumplir los sueños hay que trabajar muy duro.

A mis hermanos Luis Ernesto Paz y Ricardo Ernesto Paz por haber estado conmigo moralmente desde el inicio hasta el final en esta carrera.

Luis Alfredo Paz Quintanilla

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Páginas
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	2
2.1. Bebidas fermentadas	2
2.1.1. Reseña histórica.....	2
2.1.2. Generalidades	2
2.1.3. Las bebidas fermentadas en el mundo son las siguientes:.....	3
2.2. Historia de la elaboración de bebidas alcohólicas fermentadas en El Salvador	4
2.2.1. Tipos de bebidas alcohólicas fermentadas en El Salvador:	4
2.3. Vinos.....	5
2.3.1. Antecedentes	5
2.3.2. Definición	5
2.3.3. Producción de vino a nivel mundial	5
2.3.4. Consumidores de vino a nivel mundial	6
2.3.5. Situación actual de los vinos en El Salvador	6
2.4. Tipos de vinos.....	8
2.4.1. Generalidades	8
2.4.2. Esquema de tipos de vinos (clasificación).	8
2.4.3. Clasificación de vinos por su color.....	9
2.5. Proceso de elaboración del vino	10
2.5.1. Flujo de proceso del vino.....	11
2.5.2. Descripción del flujo de Proceso	12
2.6. Fermentación en vinos.....	15
2.6.1. Tipos de fermentación	15
2.7. Tipos de controles de calidad	17
2.7.1. Físico - químicos	17
2.8. Control microbiológico	19
2.9. Alteraciones y defecto en vinos.....	19
2.10. Generalidades del cultivo de mamey en El Salvador	20
2.10.1. Generalidades del mamey.....	20
2.10.2. Características botánicas y morfológicas.....	20
2.10.3. Origen y distribución geográfica	21
2.10.4. Características morfológicas	21

2.10.5.	Composición nutricional del mamey	21
2.10.6.	Requerimientos edáficos y climáticos.....	24
2.10.7.	Reproducción y crecimiento	24
2.10.8.	Manejo agronómico del cultivo de mamey.....	25
2.10.9.	Control de principales plagas y enfermedades del cultivo de mamey	25
2.11.	Principales enfermedades del cultivo de mamey	25
2.11.1.	La antracnosis	26
2.11.2.	El alga roja	26
2.11.3.	Control de malezas	26
2.11.4.	Riegos.....	26
2.12.	Cosecha	26
2.12.1.	Índice de cosecha	26
2.12.2.	Sistemas de recolección.....	27
2.12.3.	Manejo postcosecha	27
2.12.4.	Propiedades físico químicas del fruto de mamey.....	27
2.12.5.	Usos del cultivo de mamey.....	28
2.13.	Diversificación de productos procesados del cultivo de mamey	28
2.13.1.	Pasta de mamey	28
2.13.2.	Maceración de mamey	29
2.13.3.	Conserva de mamey	29
2.13.4.	Ventajas competitivas del mamey	29
2.14.	El mamey y el comercio mundial.....	29
2.14.1.	Datos de producción y zonas potenciales de siembra de mamey en El.....	30
2.15.	Exportación de mamey en El Salvador	31
2.16.	Estacionalidad del cultivo de mamey en El Salvador	31
2.16.1.	Mercados potenciales para la comercialización de mamey	33
2.17.	Alimentos Funcionales.....	33
2.17.1.	Biotecnología	33
2.17.2.	Definición de alimento funcional	33
2.17.3.	Ejemplos de alimentos funcionales.....	34
2.17.4.	Clasificación de alimentos funcionales	34
2.17.5.	Probióticos	34
2.17.6.	Utilidad de los probióticos.....	36
2.17.7.	Prebióticos	36
2.17.8.	Simbióticos.....	37
2.17.9.	<i>Lactobacillus casei</i>	37

2.18.	Presencia de <i>Lactobacillus</i> en otros alimentos.....	38
2.18.1.	<i>Lactobacillus</i> en vinos	38
2.18.2.	Microorganismos alterantes en vinos	39
2.19.	Métodos de siembra	39
2.19.1.	Recuento en placa	39
2.19.2.	Estimación del número más probable (NMP)	40
2.19.3.	Método de siembra por estría en placa	40
2.19.4.	Método vertido en placa	40
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	41
3.1.	Aspectos generales de la investigación	41
3.2.	Localización de la investigación	41
3.2.1.	Macrolocalización	41
3.2.2.	Microlocalización	42
3.3.	Tipo de investigación	43
3.4.	Investigación de laboratorio	43
3.4.1.	Elaboración de la bebida fermentada a base de mamey	43
3.4.2.	Diagrama de flujo para elaboración de bebida fermentada a base de mamey (vino de mamey)	43
3.4.3.	Descripción del flujo de proceso	44
3.5.	Determinaciones fisicoquímicas para una bebida fermentada a base de mamey	45
3.5.1.	Determinación de pH según AOAC (1984).....	45
3.5.2.	Determinación de acidez total (Según la AOAC)	46
3.5.3.	Determinación de grados Brix	47
3.5.4.	Determinación de grado alcohólico, según AOAC 11.006	47
3.6.	Protocolo microbiológico para determinación de concentraciones de <i>Lactobacillus casei</i> <i>L.</i> por tratamiento a evaluar	48
3.6.1.	Proceso de comprobación de número de bacterias por gramo liofilizado	49
3.6.2.	Recuento de bacterias.....	50
3.6.3.	Proceso de inoculación de <i>L. casei</i> a la bebida fermentada de mamey y siembra.....	52
3.7.	Proceso de inoculación	54
3.7.1.	Primer recuento de bacterias.....	54
3.8.	Proceso de segunda siembra de vino inoculado a los 8 días	55
3.9.	Segundo recuento de bacterias	58
4.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	59
4.1.	Resultado de la estandarización para elaborar una bebida fermentada a base de mamey.....	59
4.2.	Resultados de análisis fisicoquímicos para bebida fermentada de mamey	59

4.2.1.	Determinación de Ph.....	59
4.2.2.	Determinación de acidez titulable.....	60
4.2.3.	Determinación de grados Brix.....	62
4.2.4.	Determinación de grado alcohólico.....	63
4.3.	Resultados de presencia de <i>Lactobacillus casei</i> . En bebida fermentada a base de mamey.....	65
4.4.	Análisis de causa del no crecimiento de <i>Lactobacillus casei</i> 431, tanto en muestras elaboradas a nivel de laboratorio y muestras comerciales.....	67
4.5.	Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de acidez titulable de Vino inoculado (3 días).....	68
4.5.1.	Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de grados Brix de Vino inoculado (3 días).....	69
4.5.2.	Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de pH en Vino inoculado (3 días).....	69
4.5.3.	Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de alcohol en Vino inoculado (3 días).....	71
4.5.4.	Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de acidez titulable de Vino inoculado (8 días).....	72
4.5.5.	Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de grados Brix de Vino inoculado (8 días).....	73
4.5.6.	Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de alcohol en Vino inoculado (8 días).....	75
5.	CONCLUSIONES.....	76
6.	RECOMENDACIONES.....	77
7.	BIBLIOGRAFÍA.....	78
8.	ANEXOS.....	87

ÍNDICE DE TABLAS

Contenido	Páginas
Tabla 1 Clasificación botánica del mamey.	20
Tabla 2 Composición nutricional en 100 gramos de porción comestible	21
Tabla 3 Generalidades de mercado de frutas nativas en El Salvador.	31
Tabla 4 Estacionalidad de cultivo de mamey en El Salvador.....	32
Tabla 6. Materiales y equipo a utilizar en la determinación de concentraciones.....	49
Tabla 7. Materiales y equipo a utilizar en la inoculación	52
Tabla 8. Materiales y equipo a utilizar en la segunda siembra	56
Tabla 9. Tratamientos y repeticiones	58
Tabla 10. Resultados de pH.....	59
Tabla 11. Resultados de acidez titulable	61
Tabla 12. Reactivos utilizados para el análisis de acidez titulable	62
Tabla 13. Resultados obtenidos de grados Brix	62
Tabla 14. Resultados de grado alcohólico.....	64
Tabla 15. Resultados de recuento de probiótico.	65
Tabla 16 .Resultados ANOVA de acidez titulable.....	68
Tabla 17 Resultados ANOVA de Grados Brix	69
Tabla 18 Resultados ANOVA de pH	70
Tabla 19. Resultados TUKEY de Ph	70
Tabla 20. Resultados ANOVA de Grados Alcohólicos.....	71
Tabla 21. Resultados TUKEY de Grados Alcohólicos	71
Tabla 22.Resultados ANOVA de acidez titulable.....	72
Tabla 23. Resultados ANOVA de grados Brix	73
Tabla 24. Resultados TUKEY de Grados Brix.....	73
Tabla 25. Resultados ANOVA de pH	74
Tabla 26. Resultados TUKEY de pH	74
Tabla 27. Resultados ANOVA de grado alcohólico	75
Tabla 28. Resultados TUKEY de grado alcohólico.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

Contenido	Páginas
Figura 1. Producción de vino a nivel mundial	6
Figura 2. Países con más consumo de vino per cápita en el mundo (litros / año).	7
Figura 3. Clasificación de vinos.....	9
Figura 4. Flujo de proceso del vino.	11
Figura 5. Distribución del mamey en Centroamérica según FAO.	30
Figura 6. Exportaciones mensuales de mamey (Kilogramos).....	32
Figura 7. Macrolocalización de la investigación.....	41
Figura 8. Microlocalización de la investigación.....	42
Figura 9. Flujo de proceso de bebida fermentada de mamey	43
Figura 10. Placa Petri dividida en 8 partes.....	51
Figura 11 .Placa Petri dividida en 16 partes,.....	55
Figura 12. Valor de pH (promedio) vino inoculado	60
Figura 13.Valor de acidez titulable (promedio) vino inoculado.....	61
Figura 14. Valor de Brix (promedio) vino inoculado	63
Figura 15. Valor de grado alcohólico (promedio) vino inoculado	64
Figura 16. Resultados de recuento de probiótico	66
Figura 17. Diagrama de Ishikawa.....	68

ÍNDICE DE ANEXOS

Contenido	Páginas
Tabla A - 1. Resumen de resultados de análisis fisicoquímicos y estadísticos.....	88
Figura A - 1. Elaboración de bebida fermentada a base de mamey.	89
Figura A - 2. Determinación de pH según AOAC.	89
Figura A - 3. Determinación de acidez total.....	89
Figura A - 4. Determinación de grados Brix.....	89
Figura A - 5. Determinación de grado alcohólico, según AOAC 11.006	90
Figura A - 6. Determinación de concentraciones de L. Casei	90
Figura A - 7. Primer recuento de bacterias (48 hrs).....	90
Figura A - 8. Inoculación de la bebida fermentada	91
Figura A - 9. Primer recuento de bacterias (48 hrs).....	91
Figura A - 10. Inoculación de Lactobacillus casei a concentración de 10^6 UFC/mL por litro de bebida fermentada.....	92
Figura A - 11. Inoculación de Lactobacillus casei a concentración de 10^9 UFC/mL por litro de vino.....	93
Figura A - 12. Esquema de Medición de pH.....	94
Figura A - 13. Esquema de trabajo de acidez titulable	95
Figura A - 14. Esquema de trabajo de acidez titulable	96
Figura A - 15. Esquema de trabajo de grado alcohólico	97
Figura A - 16. Esquema para el recuento de bacterias ácido lácticas por gramo	98
Figura A - 17. Esquema para la preparación de Agar Man Rugosa Sharpe	99
Figura A - 18. Esquema para la preparación de agua peptonada	100

1. INTRODUCCIÓN

Desde tiempos coloniales, nuestros descendientes deseosos de tomar bebidas alcohólicas, se miraban en la necesidad de elaborar su propia bebida.

Las bebidas fermentadas son bebidas que contienen etanol (alcohol etílico). Atendiendo a la elaboración se pueden distinguir como bebidas producidas por fermentación alcohólica (vino, cerveza, hidromiel, chicha) en las que el contenido en alcohol no supera los 15 grados (Aguilera y Molina 2011).

En la presente investigación se plantea la incorporación de un probiótico: *Lactobacillus casei* sobre una matriz siendo esta una bebida fermentada a base de *mamey* (*Mammea americana* L.) (Vino de mamey) lo que traería muchos beneficios en la salud de las personas específicamente para mejorar el sistema gastrointestinal debido a que las bacterias ácido lácticas del género *Lactobacillus* poseen muchos beneficios para la reconstrucción de la microbiota intestinal.

La investigación se llevó a cabo en un periodo del 19 de Abril de 2017 hasta el 1 de Febrero de 2019 en el laboratorio de bromatología de la facultad de química y farmacia de la Universidad de El Salvador. Para lograrlo se elaboraron tres lotes de vino de mamey de 1 litro cada uno.

Con la bebida fermentada elaborada se procedió a inocular la bacteria probiótica *Lactobacillus casei* en cada uno de los lotes, la inoculación se realizó a tres diferentes concentraciones: 10^6 UFC, 10^7 UFC y 10^8 UFC/mL.

Las concentraciones son para cada litro o lote y se evaluó durante cuatro semanas el conteo de bacterias ácido lácticas utilizando la metodología tradicional con AGAR. M.R.S, Man Rogosa Sharpe; Durante ese mismo periodo de tiempo también se evaluó el comportamiento fisicoquímico, cada lote con su concentración de bacterias inoculado como control en proceso.

Al finalizar la evaluación los resultados obtenidos de pH, grado alcohólico, Brix y acidez total y conteo de bacterias ácido lácticas, fueron sometidos en una evaluación estadística, aplicando el análisis de varianza (anova), para conocer la diferencia significativa que existe entre estos parámetros, respecto a cada uno de los lotes inoculados.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Bebidas fermentadas

2.1.1. Reseña histórica

La fermentación se ha realizado durante mucho tiempo, se cree que se practicaba al menos desde unos 10,000 a.C. suficientes pruebas científicas y arqueológicas han demostrado que la bebida fermentada a base de un cereal más antigua del mundo es la cerveza, producida por primera vez 4,000 años a.C. por los sumerios en el sur de Babilonia, se encontraron tablillas de arcilla suméricas con escritos sobre la receta de la bebida. Los sumerios fueron conocidos como grandes bebedores de cerveza al igual que los egipcios también famosos por su tecnología fermentativa, fueron grandes productores y consumidores de cerveza y pan (Páez 2010).

En México, país de grandes contrastes, tradiciones y gran diversidad cultural y biológica, se encuentran alimentos muy variados, entre ellos los alimentos fermentados tradicionales que se consumen hoy en día y que complementan la dieta de forma importante. Las bebidas y los alimentos indígenas fermentados han sido de gran importancia en la vida diaria y ceremonial de numerosos grupos desde la época prehispánica hasta la actual (García 2010).

En las culturas indígenas existen muchos alimentos y bebidas fermentadas autóctonas, de las cuales se conoce poco. En 1965 Hesseltin publicó una lista de alimentos fermentados tradicionales que actualmente se ha incrementado (Páez 2010).

2.1.2. Generalidades

Los alimentos fermentados se definen como aquellos alimentos en los que los microorganismos han causado reacciones bioquímicas deseables las cuales conllevan a cambios significativos. Durante el proceso de fermentación un sustrato orgánico, usualmente un carbohidrato se oxida incompletamente y existe un compuesto orgánico el cual actúa como aceptor final de electrones (Armendáriz y Bolaños 2012).

En términos generales, la fermentación implica el empleo de microorganismos para llevar a cabo transformaciones de la materia orgánica catalizadas por enzimas (Porto 2010).

La fermentación de alimentos ofrece ciertas ventajas, entre ellas:

- Provee alimentos resistentes al deterioro y al desarrollo de toxinas.
- Menos probabilidad de que los alimentos transfieran microorganismos patógenos.
- Se consigue un tiempo de vida útil más prolongado.
- Existen modificación del sabor original de los ingredientes y mejoran el valor nutricional (Armendáriz y Bolaños 2012).

Los alimentos o bebidas fermentadas son aquellas en que una etapa esencial de su procesamiento se debe al crecimiento y la actividad de microorganismos (hay fermentaciones lácticas, acéticas, alcohólicas y mixtas, entre otras) (García 2010).

Páez (2010), en un sentido biológico la fermentación es un proceso de obtención de energía en condiciones anaeróbicas (ausencia de oxígeno) que puede generar como producto final ácido láctico (fermentación láctica por las bacterias ácido – lácticas) o etanol (fermentación alcohólica por levaduras).

Las bebidas alcohólicas son bebidas que contienen etanol (alcohol etílico). Atendiendo a la elaboración se pueden distinguir entre bebidas producidas por fermentación alcohólica (vino, cerveza, hidromiel, chicha) en las que el contenido en alcohol no supera los 15 grados, y las producidas por destilación, generalmente a partir de un producto de fermentación (licores, aguardientes, etc.) (Aguilera y Molina 2011).

2.1.3. Las bebidas fermentadas en el mundo son las siguientes:

- **Vino:** El vino es una bebida alcohólica que se hace a partir de la uva, el proceso implica la fermentación alcohólica del zumo o mosto a través de la acción metabólica de levaduras (Landaverde 2017).
- **Sidra:** Se trata de una bebida con alcohol que se produce a partir de la fermentación del jugo de manzana (Porto, 2010).
- **Hidromiel:** Es el producto obtenido de la fermentación de la miel con agregado de agua y nutrientes por levaduras (Gonzales, M. & Terenzano s.f.).
- **Cerveza:** La cerveza depende del tipo de cereal y de agua, pero sobre todo de las diferencias en cuanto a tostado, concentración del mosto, cantidad de levadura añadida y cambios de temperatura, se obtienen los tipos de cerveza más conocidos. Se distinguen dos clases de cervezas, las de fermentación alta y las de fermentación baja (Porto 2010).

2.2. Historia de la elaboración de bebidas alcohólicas fermentadas en El Salvador

Desde tiempos coloniales, nuestros descendientes deseosos de tomar bebidas alcohólicas, se miraban en la necesidad de elaborar su propia bebida, durante casi toda la siguiente centuria post colonial. No podían adquirir ni bebidas extranjeras, mucho menos otras de menor calidad; pero sí fermentar cierta bebida a base de maíz, agua al natural, dulce en panela, más secundarios ingredientes; existió después propaganda menospreciadora de las grandes licoreras contra humilde bebida nativa. Valiéndose de cántaros o con similar artesanía, durante 4 ó más días fermentaban tales bebidas alcohólicas, obteniendo graduaciones etílicas similares o superiores a cerveza común (Aguilera y Molina 2011).

2.2.1. Tipos de bebidas alcohólicas fermentadas en El Salvador:

- **Chicha de cereales (maíz, arroz, trigo y cebada):** Chicha es el nombre que reciben diversas variedades de bebidas alcohólicas derivadas principalmente de la fermentación no destilada del maíz y otros cereales originarios de América.
- **Chicha de Frutas (marañón, nance, jocote, naranja, etc.):** La chicha de fruta se obtiene por la fermentación espontánea del jugo. El tiempo de fermentación está en estrecha relación con la maduración (contenido de azúcares) y la temperatura ambiente.
- **Chaparro:** Esta bebida es elaborada a base de la destilación de la chicha elaborada a base de maíz y dulce de panela, un producto derivado de la caña de azúcar.
- **Vino:** El vino es una de las bebidas espirituosas más difundidas en nuestra cultura y está relacionado directamente a las uvas, pero existen otros recursos que nos permiten experimentar el sabor de un buen vino.
- **Vino de Jamaica:** El Vino de rosa de Jamaica es una bebida alcohólica con 12% de alcohol en volumen; desarrollado durante un proceso de fermentación en el cual no interviene ningún tipo de tratamiento con insumos químicos.
- **Cerveza:** La cerveza es una bebida alcohólica muy antigua, desarrollada por los pueblos de los imperios mesopotámicos y por los egipcios, resultado de fermentar los cereales germinados en agua, en presencia de levadura (Aguilera y Molina 2011).

2.3. Vinos

2.3.1. Antecedentes

Entender la historia del vino implica no solo adentrarnos en la vida cotidiana de millones de personas a lo largo de los tiempos sino también observar el proceso de apropiación de técnicas agrícolas, de elaboración, de creación de envases y producción de excedentes que implican la necesaria transmisión de experiencia y conocimientos de una generación a otra, es probable que se produjeran vinificaciones accidentales en todas partes donde hubiese a la vez uvas en estado silvestre y población humana (Filippi 2008).

Nuestra era del vino comienza con la colonización del Mediterráneo hacia el año 1,100 a.C., los griegos hicieron lo propio 350 años más tarde; fue entonces cuando el vino llegó a los países donde se establecería: Italia, Francia y España (Buendía 2012).

2.3.2. Definición

El vino es una bebida alcohólica que se hace a partir de la uva, el proceso implica la fermentación alcohólica del zumo o mosto a través de la acción metabólica de levaduras (Porto 2010).

El vino es el alimento natural obtenido exclusivamente por fermentación alcohólica, total o parcial, de uva fresca, estrujada o no, o de mosto de uva” (Landaverde 2017).

2.3.3. Producción de vino a nivel mundial

Entre los países mayores productores de vino se encuentra Italia que se posiciona en 2015 como el primer productor mundial (48,9 Mill. hL, +10 % con respecto a 2014) seguida de Francia (47,4 Mill. hL, +1 % con respecto a 2014) y España (36,7 Mill. hL, +4 % con respecto a 2014). En los tres principales países productores europeos se han alcanzado producciones ligeramente superiores a la media. Fuera de la Unión Europea, Estados Unidos alcanzaría una producción de 23,9 millones de hectolitros, un 10% superior a la de 2015. En América del sur, la producción de Argentina, Chile y Brasil, según recoge la OIV, cae de forma destacada por la influencia del Niño. (OIV 2015) (Fig. 1).

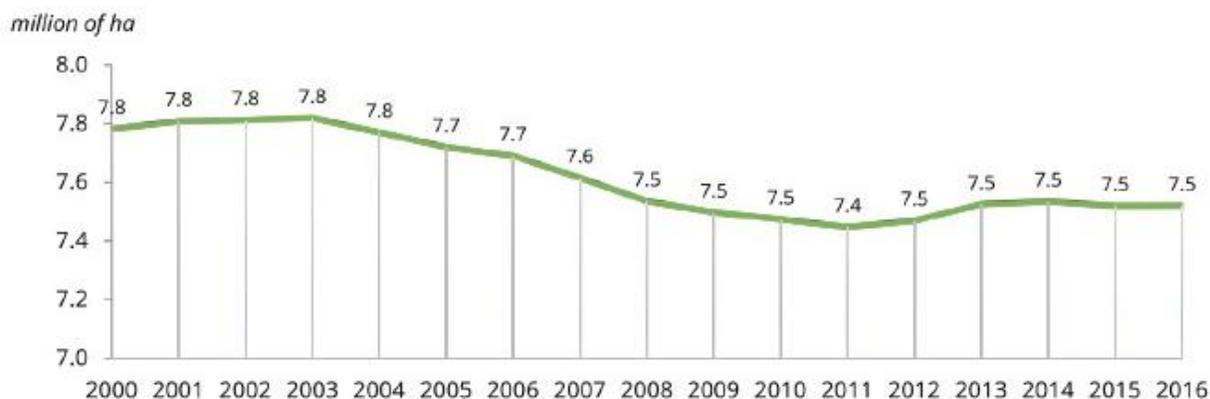


Figura 1. Producción de vino a nivel mundial

Fuente: OIV 2015

2.3.4. Consumidores de vino a nivel mundial

El consumo mundial de vinos rosados alcanzó en 2014 los 22,7 Mill. hL, es decir un aumento del 20 % desde 2002. Francia y Estados Unidos son los principales consumidores de vinos, con 8,1 y 3,2 millones de hectolitros consumidos respectivamente en 2014.

Solo unos pocos países experimentaron una reducción en su consumo de vinos y son aquellos con una relevancia histórica en el consumo de vino y de vino rosado: Italia, España y Portugal; El consumo de vino se globaliza y el número de nuevos países aumenta, especialmente de Europa del norte: Reino Unido (+250 % desde el 2002), Suecia (+750 %), pero también Canadá (+120 %) o Hong Kong (+250 %) (OIV 2015).

2.3.5. Situación actual de los vinos en El Salvador

2.3.5.2. Consumo de vino en El Salvador

El mercado del vino en El Salvador ha experimentado un sorprendente dinamismo, creciendo en más de un 50% en los últimos años.

Por ello, se está convirtiendo en un mercado atractivo para múltiples bodegas, debido al continuo crecimiento de las ventas y paulatino descubrimiento que está haciendo el consumidor salvadoreño de este producto de consumo no tradicional en el país ya que no hay producción de vino en El Salvador, por lo que todo el consumo es importado (Fig. 2).

Sin contar las cifras exactas, actualmente se estima en unos \$10,000,000 la importación anual de vinos y en consecuencia el consumo en el país.

Los salvadoreños han descubierto el placer del buen vino, convirtiendo el país en un mercado muy atractivo para las grandes casas vinícolas del mundo.

Los vinos más vendidos en el país son los de la casa chilena Concha y Toro, con un 30% del mercado del vino en El Salvador y una cuota de ventas que supone más del 40% de las ventas de vinos de Chile.

Vende principalmente su marca estrella Casillero del Diablo, seguido de cerca de la marca Frontera. Cada año Concha y Toro venden en El Salvador unas 36.000 cajas de 12 botellas de 750 ml., es decir, cajas de 9 litros (ICEX 2013).

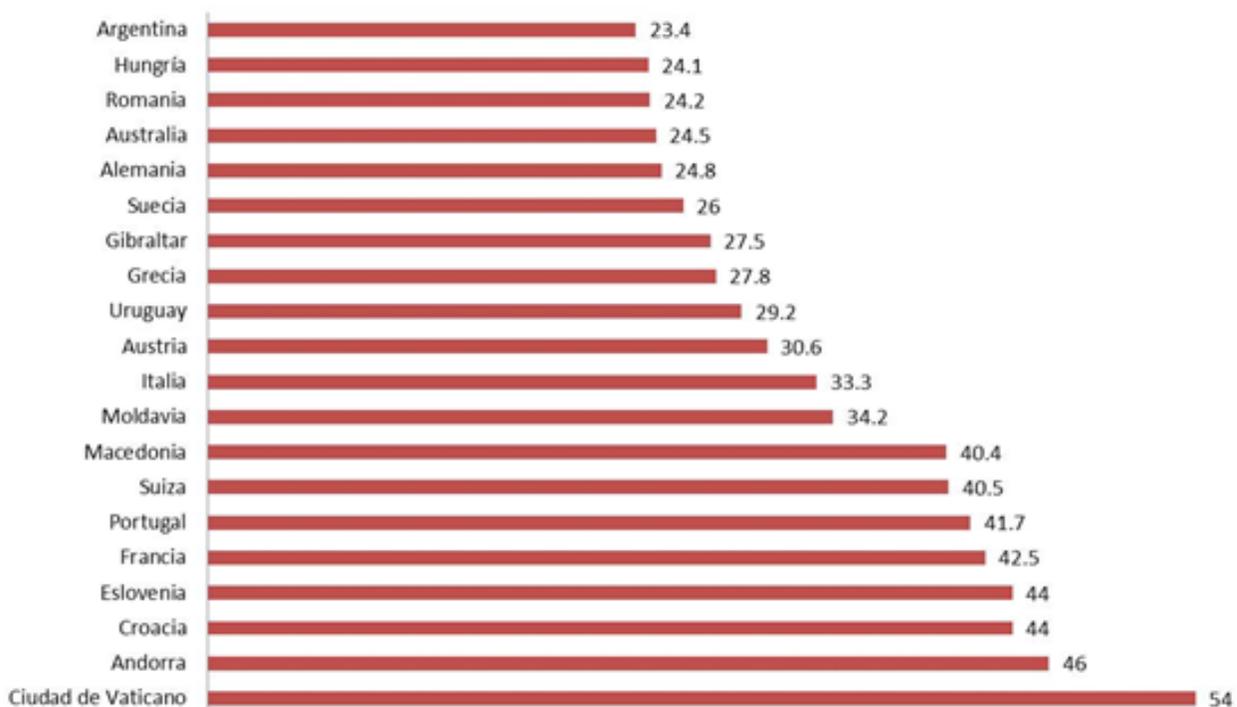


Figura 2. Países con más consumo de vino per cápita en el mundo (litros / año).

Fuente: OIV, 2015

2.3.5.2. Producción de vino en El Salvador

No hay producción de vino en El Salvador, por lo que todo el consumo es importado (ICEX 2013).

Algunos obstáculos comerciales para la producción son:

- El tamaño relativamente pequeño del mercado.
- La fuerte competencia de los vinos chilenos que gozan de arancel 0% frente a los vinos españoles con un 20%.
- El consumo de vino en el país muestra una tendencia creciente, pero es todavía mucho menor en relación al consumo de otras bebidas alcohólicas, como la cerveza y el vodka.
- Respecto a los requisitos y barreras de ingreso, existen diversas normas de obligado cumplimiento (etiquetado, registro, etc.), así como gravámenes especiales a las bebidas alcohólicas (ICEX 2013).

2.4. Tipos de vinos

2.4.1. Generalidades

El tipo de vino determina el carácter del mismo, que es el rasgo más perceptible y fácil de determinar al probar un vino, al contrario que las fragancias y los sabores estos cambian y son sutiles dependiendo muchas veces de las condiciones de producción (Vidal 2010).

2.4.2. Esquema de tipos de vinos (clasificación).

Los vinos se clasifican según su color y su azúcar residual de la siguiente manera (Fig. 3):

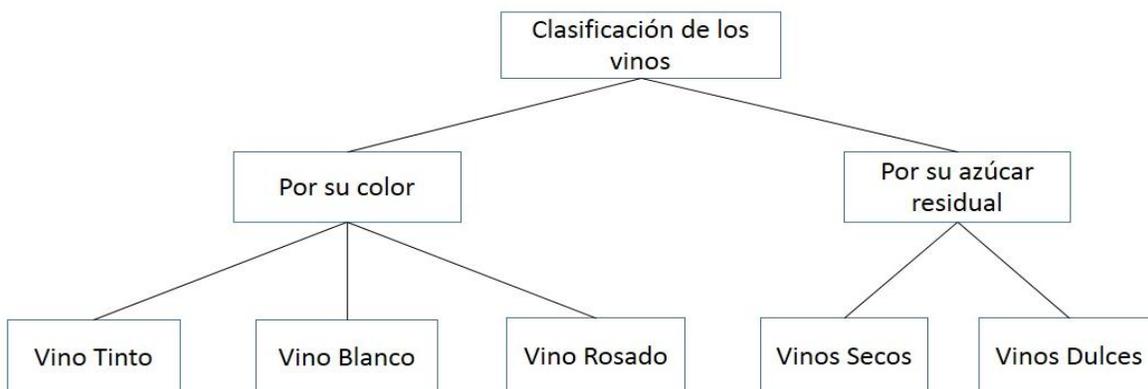


Figura 3. Clasificación de vinos.

2.4.3. Clasificación de vinos por su color

2.4.3.1. Vino tinto

El vino tinto se elabora fermentando el mosto en contacto con pieles y semillas para extraer la concentración adecuada de antocianos, este proceso denominado maceración puede durar unas horas en el caso de los vinos rosados, unos pocos días en el caso de los vinos tintos destinados a ser consumidos rápidamente o varias semanas en aquellos vinos tintos destinados a la crianza (Zamora 2013).

2.4.3.2. Vino rosado

El vino rosado es un vino tinto con poca maceración. El vino tinto tiene ese color porque se maceran los hollejos de las uvas negras, que contienen el "colorante" junto con el jugo de las mismas. De esa manera el jugo, amarillento, se "tiñe". Ahora bien, si la maceración dura veinte días el color será intenso (vino tinto), si es de un día apenas tenue estará dando como resultado un vino rosado (Vidal 2010).

2.4.3.3. Vino blanco

El vino blanco se elabora a partir de mosto de uvas blancas o tintas, siempre y cuando estas últimas no presenten pulpa coloreada y no se someta a maceración con sus hollejos, La definición legal de estos vinos impide la maceración en la fase fermentativa, pero no necesariamente ha de evitarse en el periodo pre fermentativo, donde los hollejos y otros

componentes de la vendimia, pueden intercambiar sustancias con el mosto en mayor o menor grado y según la técnica de elaboración adoptada por el enólogo de la bodega (Zamora 2013).

2.4.3.4. Clasificación de los vinos según su azúcar residual

2.4.3.5. Secos

El vino seco se obtiene de la fermentación natural, mientras que el dulce está fortificado para evitar que el azúcar se convierta por completo en alcohol (De la Borda, 2017). Los vinos secos no tienen mucha cantidad de azúcar residual, y por lo tanto no son dulces. Seco, en vinos, es lo opuesto a dulce. Este tipo de vino se produce en todo el mundo y los hay tintos, blancos y rosados y pueden ser los que tienen como uva base: Chardonnay, Sauvignon Blanc, Cabernet Sauvignon, Merlot, Pinot Noir, Borgoñas y Burdeos (Torres 2006).

2.4.3.6. Dulces

Los vinos dulces naturales deben tener normas analíticas bien precisas: su contenido en alcohol debe estar comprendido entre el 15 y el 18 %, y su grado licoroso entre 50 y 100 g de azúcar por litro, la crianza de los vinos dulces naturales se lleva a cabo tradicionalmente en un medio oxidativo, es decir, dentro de tinajas en vendimia o dentro de botas sin rellenar e, incluso, dentro de recipientes de vidrio expuestos al sol (Torres 2006).

2.4.3.7. Vinos de frutas

La obtención de vinos de frutas ha sido probada en varios países al elaborarlos de diversas frutas como piña, nance, granada, papaya, etc. Siendo uno de los más populares y mayor éxito comercial el de Naranja (Ronquillo *et al* 2016).

2.5. Proceso de elaboración del vino

La química del vino, es esencial en la transformación del zumo de la uva en vino, este proceso se denomina fermentación, que normalmente se realiza en depósitos de acero o de hormigón (Cazanga 1985).

De esta manera, las levaduras se van muriendo poco a poco por falta de alimento y el proceso se detiene, obteniéndose un vino seco, sin azúcar (Gómez 2017).

2.5.2. Descripción del flujo de Proceso

2.5.2.1. Recepción y control de la uva

Mediante el empleo de remolques que transportan cajas o pequeños cestos que no sobrepasen 25 kg de capacidad, el transporte se realiza con la mayor rapidez posible debiendo llegar la uva a la bodega el mismo día de ser vendimiada, evitando en lo posible el aplastamiento de la uva y un calentamiento excesivo de la misma. Se procede inmediatamente al pesado y toma de muestra esta se realiza en cada remolque, y posteriormente se analizará para comprobar el estado sanitario y riqueza en azúcar de la uva (Luengo 2008).

2.5.2.2. Despalillado y estrujado

La vendimia entra por su parte superior por gravedad, es despalillada enviándose los raspones al exterior de la nave y la uva pasa a continuación por la estrujadora para que libere el mosto y ponerlo en contacto con los hollejos. La uva estrujada y despalillada se envía a los depósitos de fermentación por una bomba de vendimia, a la salida de la bomba se sitúa un dosificador automático de sulfuroso para corregir el mosto (Luengo 2008).

2.5.2.3. Encubado y maceración

Esta operación consiste en depositar el mosto en los depósitos para que fermente y se convierta en vino, la duración de la fermentación será de 6 días para el vino joven y será la primera que entre en la bodega y 6/10 días para el vino de crianza y reserva. En líneas generales, la maceración es un proceso en el que se produce un intercambio de compuestos entre partes sólidas y líquidas. Una forma natural de dotar, tanto al componente líquido como al sólido, de nuevos sabores y matices que están presentes en uno u otro elemento (Serres 2017).

2.5.2.4. Fermentación alcohólica

Es el proceso por el cual el azúcar del mosto se convierte en alcohol etílico mediante la acción de las levaduras naturales presentes en el hollejo de la uva (en la pruina) y en la propia bodega. Se trata de uno de los momentos fundamentales del proceso de elaboración del vino (Gómez 2017).

2.5.2.5. Descube y prensado

Consiste en sacar el “vino yema” del depósito donde ha fermentado con los orujos y trasladarlo a otros depósitos donde se produce la fermentación maloláctica. Los orujos frescos fermentados obtenidos de los depósitos autovaciantes, se prensan obteniéndose “vino prensa” (Luengo 2008).

El prensado consiste en introducir la uva en la prensa, que es una máquina que presiona la uva, Sirve para extraer el mosto de la uva. (Gómez 2017). Los sistemas de prensado, por la necesidad de separar las partes sólidas del jugo que tiene la uva en su interior, son tan antiguos como el propio vino. Tras siglos de evolución, hemos llegado a nuestro tiempo con sistemas mecánicos normalmente horizontales, o verticales, menos comunes pero que aún están en vigor (Belli 2016).

El ciclo de prensado tiene una duración de 87 minutos, de los cuales los primeros 30 minutos se realizan a muy baja presión. La prensa se fracciona en tres categorías: llamamos “turbio” al primer vino obtenido, apenas sin ejercer presión (200 milibares), durante el proceso de colocación de los hollejos (Puig 2016).

2.5.2.6. Fermentación maloláctica

Bioquímicamente es un proceso llevado a cabo por las bacterias lácticas que consiste en la transformación del ácido málico del vino en ácido láctico más CO₂, de ahí el nombre de maloláctica (Mesas y Alegre 1999).

2.5.2.7. Almacenamiento

Realizado el descube se trasladará el vino yema a los depósitos de almacenamiento, este se almacenará en estos depósitos verticales de acero inoxidable donde se produce una segunda fermentación (fermentación maloláctica). Sin control de temperatura. Una vez realizado este proceso:

1. El vino joven se conservará en estos depósitos de acero inoxidable.
2. El de envejecimiento irá a barricas de madera según sea el tratamiento y la longevidad que le queramos dar a su crianza. El vino prensa se almacenará en distintos depósitos (Luengo 2008).

2.5.2.8. Trasiegos

Consiste en separar el vino de las lías acumuladas en el fondo de los depósitos y barricas, Las lías son los restos de las levaduras y otras sustancias sólidas que quedan en el fondo de los recipientes vinarios, ésta es la forma de separar el vino limpio de las sustancias que le dan turbidez, y por lo tanto es el modo de limpiar el vino de manera natural (Gómez 2017).

Tras la primera fermentación, el mosto (únicamente) realiza otra fermentación en la que unas bacterias transforman el ácido málico en ácido láctico, llamada fermentación maloláctica. Esta es mucho más suave y agradable que el anterior, por lo que el vino gana en finura (Sáez 2011).

Mediante el trasiego se trasvasa el vino de un depósito a otro, o de una barrica a otra. Se puede realizar mediante la ayuda de una bomba o por su propio peso, gracias al trasiego se separan del vino heces y otras materias sólidas en suspensión (posos) que han caído al fondo de los depósitos o barricas. Estos componentes orgánicos si se dejaran en contacto con el vino le podrían transmitir olores y sabores desagradables (Velásquez 2018).

2.5.2.9. Tratamiento por frío

La estabilización por frío consiste en someter al vino a un enfriamiento para que precipiten en el depósito las sales de ácido tartárico que no son solubles a menor temperatura. El ácido tartárico, principal ácido de la uva, forma sales con el potasio y el sodio que son los tartratos (Gómez 2017).

2.5.2.10. Filtrado

Es otro de los procesos que se utilizan para eliminar los sedimentos en el vino y así dejarlo perfectamente limpio y preparado para su embotellado (Gómez 2017).

Además, mediante el filtrado se pretende eliminar a los microorganismos y conseguir una limpieza adecuada que no altere la calidad visual y gustativa del vino; En vinos de calidad, es de común aceptación que los filtrados agresivos eliminan importantes compuestos (extracto seco) que contribuyen a su complejidad, así como taninos y materias colorantes que les ayudan a envejecer. Un vino sin filtrar puede tener muchos posos y bitartratos (Sáez 2011).

2.5.2.11. Embotellado

Consiste en introducir el vino a las botellas, además es una de las formas de hacer llegar el vino hasta el consumidor, pero, sobre todo es la mejor forma ya que aparte de cuestiones de imagen, la botella supone el remate final en la mejora del vino, ya que dentro de ella, el vino se redondea y alcanza su momento óptimo de consumo (Gómez 2017).

2.5.2.12. La crianza de vino en barricas de roble

Se emplearán barricas de roble americano de 225 litros de capacidad, donde el vino permanece al menos un año. Transcurrido este tiempo, el vino pasa a botellas bordelesas de 0.75 litros donde terminará el proceso de envejecimiento (Luengo 2008).

2.6. Fermentación en vinos

La fermentación se define desde un punto de vista bioquímico como el proceso de generación de energía en el que los compuestos orgánicos actúan tanto como donadores o aceptores terminales de electrones (Matsumoto 2013).

Se conoce que microorganismos específicos pueden producir cambios en la materia prima por la acción de enzimas microbianas en el sustrato orgánico (alimento), estos microorganismos inhiben a su vez el crecimiento no deseado de otros organismos, debido principalmente a la producción de productos como resultado de la acción metabólica en la materia prima (Vega s.f).

2.6.1. Tipos de fermentación

2.6.1.1. Fermentación alcohólica (F.A.): Levaduras

Sin microorganismos no hay vino ya que son los responsables de la transformación del mosto de la uva en vino. En concreto son las levaduras las que por medio de un proceso bioquímico denominado fermentación alcohólica (F.A.) transforman los azúcares del mosto de la uva en etanol, CO₂ y otros compuestos químicos y con ello el mosto en vino (Mesas y Alegre 1999).

La fermentación alcohólica en mostos azucarados se origina por el metabolismo anaerobio de *Saccharomyces cerevisiae*, que forma etanol y CO₂ como productos principales. (Matsumoto

2013), es decir que la fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno. Para ello disocian las moléculas de glucosa y obtienen la energía necesaria para sobrevivir, produciendo el alcohol y CO₂ como desechos consecuencia de la fermentación (Carrión 2015).

En condiciones de aerobiósis las levaduras se multiplican abundantemente con un rendimiento en biomasa muy alto ya que se consigue 1 g de levadura por cada 4 g de azúcares consumidos. En anaerobiosis las levaduras realizan la F.A., es decir degradan los azúcares de forma incompleta generando etanol, CO₂ y energía (Mesas y Alegre 1999).

Durante mucho tiempo misteriosa por su carácter espontáneo, ruidoso, tumultuoso y por sus mecanismos complejos la fermentación alcohólica sigue siendo mal conocida por su desarrollo, o sea en la transformación total de azúcar en alcohol (Peynaud 2000).

2.6.1.2. Levaduras

Las levaduras son un grupo no monofilético dentro del Reino de los Hongos (Reino Fungi). Por lo tanto la denominación levaduras no tiene ningún valor taxonómico. Sin embargo, su utilización a lo largo de la historia para referirse a unos hongos específicos con unas características similares hace que todavía sea útil (Contreras 2013).

2.6.1.3. *Saccharomyces cerevisiae*

La levadura *Saccharomyces cerevisiae* utiliza preferentemente monosacáridos como glucosa, fructosa, manosa y galactosa, y disacáridos como maltosa e isomaltosa, como fuente de carbono y de energía (76). La primera etapa de la utilización de estos azúcares es su paso a través de la membrana plasmática, estructura que define la extensión de la célula y que es permeable a moléculas no cargadas de pequeño tamaño e impermeable a moléculas cargadas y de gran tamaño (Anglada 2000).

2.6.1.4. Fermentación maloláctica (F.M.L.)

Desde principios del siglo XX se sabe que en la elaboración de algunos vinos pueden intervenir, además de las levaduras, otros microorganismos cuya misión es transformar el ácido málico del vino en ácido láctico. Esta transformación, que es denominada fermentación maloláctica (F.M.L.) y que es llevada a cabo por diversas especies de bacterias lácticas, es

considerada una fermentación de suavización del vino que conviene a todos los vinos tintos y a aquellos vinos blancos cuyo contenido en ácido málico sea muy elevado. La fermentación maloláctica es una segunda fermentación que, a no ser que se impida, la sufren los vinos jóvenes cuando ha terminado o está a punto de terminar la F.A. (Mesas y Alegre 1999).

2.6.1.5. Fermentación láctica

Las bacterias lácticas son un grupo no taxonómico de bacterias que agrupa a todas aquellas bacterias capaces de producir ácido láctico a partir de azúcares. Dentro de este grupo hay especies capaces de desarrollarse en el vino a pesar de ser un medio inhóspito dado su contenido en alcohol y su bajo pH. A estas especies se las denomina bacterias lácticas del vino. A su vez algunas de estas especies son capaces, bajo determinadas condiciones, de transformar el ácido málico del vino en ácido láctico; el proceso se denomina fermentación maloláctica (F.M.L.) y las especies capaces de hacerlo se denominan bacterias de la fermentación maloláctica o bacterias malolácticas (Mesas y Alegre 1999).

2.7. Tipos de controles de calidad

2.7.1. Físico - químicos

2.7.1.1. Acidez total en vinos

La acidez es una característica de los vinos, es un atributo, ya que, de su nivel, depende gran parte el equilibrio gustativo. El nivel de acidez de cada vino, depende de dos parámetros, la llamada acidez fija debida a los ácidos orgánicos presentes en la uva, el tartárico, el málico y el cítrico, y por otro a la llamada acidez volátil originada durante la vinificación, donde se forman cantidades limitadas de ácido acético, y en la fermentación maloláctica que transforma el ácido málico en ácido láctico, mejorando la sensación gustativa (Sanz *et al* 2014).

En enología, la noción de acidez de los vinos se puede enfocar de distintas maneras. El enólogo distingue diversas formas de acidez: la acidez total, la acidez volátil, la acidez fija y la acidez real. Por consenso, la acidez total representa la acidez determinada por la neutralización química de las funciones ácidas de los ácidos minerales y orgánicos presentes en el medio. La participación de cada ácido en concreto en la acidez total está determinada por su carácter más o menos fuerte, es decir por su estado de disociación K_a y su grado de salificación (A^-) (Pascal 2005).

2.7.1.2. pH en vinos

La medición de pH en el vino o mosto, tiene un marcado interés pues este dato es importante por su efecto sobre: microorganismos, matiz del color, sabor, potencial redox. El valor de pH de los mostos destinados a los vinos de mesa, oscila entre 2.7 y 3.8, de pendiente principalmente, del grado de madurez de la uva de que proceden. No existe una relación directa entre el pH y la acidez total valorable. La impresión organoléptica de la astringencia y acidez, es más dependiente del pH, que de la acidez total. La tonalidad y vivacidad del color de los vinos tintos, depende de su pH. Los ataques bacterianos son posibles cuando más elevado es el pH (Barceló 1990).

El pH es uno de los factores más variables del vino. Varía de 2,8 a 4,2 aproximadamente. Hace cuarenta años, los primeros tratados de enología hablaban de una variación de pH entre 2,5 y 3,8. Se observa una tendencia al incremento del límite superior del pH de los vinos durante los últimos años. El pH del vino es resultado del equilibrio de los diversos ácidos incluidos en su composición (clorhídrico, sulfúrico tártrico). (Pascal 2005).

2.7.1.3. Refractrometría en vino

Refractrometría, que indica porcentaje de sólidos solubles, medidos en grados Brix, que es casi equivalente al porcentaje de hidratos de carbono fermentables existente en el mosto. La cosecha puede realizarse generalmente con °Brix que oscilan entre 22 y 25 según la variedad (Corrial 2014).

2.7.1.4. Grado alcohólico (Etanol) en vinos

El alcohol es el producto principal de la fermentación del mosto de uva. Además del etanol, son varios los alcoholes y polialcoholes que están presentes en un vino. Algunos de los alcoholes superiores son los que dan la característica a los vinos. El etanol es el alcohol mayoritario, y a este producto van dirigidas las técnicas analíticas, para determinar su concentración (Barceló 1990).

La fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico realizado por las levaduras y pertenecientes al género *Saccharomyces*. Se produce de forma espontánea o conducida por las levaduras seleccionadas. (Sanz *et al* 2014).

Para efectuar análisis de alcohol deben ser tomadas ciertas precauciones al preparar la muestra, para evitar la pérdida de evaporación, dilución o contaminación. Muchos son los métodos para determinar la concentración de este producto: métodos basados en el punto de ebullición; destilación seguida por oxidación química; peso específico del destilado; índices de refracción u otras propiedades del destilado (Barceló 1990).

2.8. Control microbiológico

Los microorganismos residuales son aquellas poblaciones microbianas que, tras la elaboración del vino, estabilización, clarificación, sulfitado, son capaces de desarrollarse y formar colonias provocando enfermedades e inestabilidad en los vinos ya terminados. Para realizar el aislamiento de microorganismos, se utilizan medios de cultivo tanto medio específico como diferenciales, la composición de los medios específicos permite el desarrollo de una especie concreta. Mientras que el diferencial permite el desarrollo de una especie concreta para el desarrollo se han de buscar medios de cultivo para cada tipo de microorganismo que se quiera estudiar (Azofra 2014).

2.9. Alteraciones y defecto en vinos

Actualmente sabemos que, si bien los agentes causantes de la transformación del zumo de la uva en vino son microorganismos, que consideramos por ello beneficiosos, también existen microorganismos que causan alteraciones en el vino y que consideramos por ello perjudiciales. Los microorganismos relacionados con el vino pueden ser distribuidos en 4 grupos:

- Las levaduras, que son las encargadas de realizar la fermentación alcohólica.
- Las bacterias lácticas, que llevan a cabo la fermentación maloláctica.

- Las bacterias acéticas, que junto con algunas levaduras y algunas bacterias lácticas son causantes de alteraciones en los vinos, los mohos, algunas de cuyas especies pueden desarrollarse sobre la uva y en las vides causando mermas importantes en la cantidad y en la calidad de la uva (Mesas y Alegre 1999).

2.10. Generalidades del cultivo de mamey en El Salvador

2.10.1. Generalidades del mamey

Los frutales exóticos constituyen desde hace varias décadas una fuente inagotable de riquezas, por su aceptación en varias regiones del mundo y por los elementos nutritivos que aportan a la salud humana, según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (Caicedo y López 2016).

El árbol de mamey por lo general produce dos cosechas por año, con un promedio de 250-400 frutos al año, cada uno con un peso promedio de 600 a 700 gr, las épocas de cosecha son en enero y julio (Alvarado *et al* 1994).

Los frutos del mamey tienen propiedades funcionales debido a sus vitaminas y minerales, además del contenido de compuestos fenólicos y consecuentemente su actividad anti radical, y ocupa un lugar importante dentro de los frutos conocidos como exóticos (Caicedo y López 2016).

Además, el mamey puede llegar a tener un gran potencial de exportación, porque puede ser una fruta muy atractiva para los mercados internacionales, en donde se deben de aprovechar los Tratados de Libre Comercio y el gran mercado étnico de más de dos millones de salvadoreños en el extranjero (Torres 2007).

2.10.2. Características botánicas y morfológicas

A continuación, se muestran las características botánicas del cultivo de mamey (Tabla 1.):

Tabla 1 Clasificación botánica del mamey.

Reino	Plantea	Orden	Gutiferales
División	Antofitas	Familia	Guttiferae (Clusiaceae)
Clase	Dicotiledóneas	Genero	<i>Mammea</i>
Subclase	Dialipétalas	Especie	<i>americana</i>

Fuente: Calderón 2007.

2.10.3. Origen y distribución geográfica

El área de distribución natural de este frutal se extiende desde la latitud 20° norte a la 10° norte, a través de las indias occidentales, ubicándose principalmente en las islas de: Jamaica, República Dominicana y Haití, Puerto Rico, las Antillas menores y la parte norte de Sudamérica, extendiéndose a través de la América Central hasta el sur de México (Torres 2007).

2.10.3.1. Sistema radicular

Las raíces del mamey son extendidas y bastante superficiales, y no se produce una raíz Pivotante o principal dominante (Zapatier 2015).

2.10.4. Características morfológicas

2.10.5. Composición nutricional del mamey

A continuación, se observa la composición nutricional de la pulpa de mamey (Tabla 2.):

Tabla 2 Composición nutricional en 100 gramos de porción comestible

Compuesto		Cantidad	Compuesto		Cantidad	Compuesto		Cantidad
		86.20						
Agua	%		Vit A Equiv. Retinol	mcg	12.00	Tiamina	Mg	0.02
Energía	Kcal	51.00	Ac.grasos mono- insat	g	0.20	Riboflavina	Mg	0.04
Proteína	G	0.50	Ac.grasos poli-insa	g	0.08	Nicacina	Mg	0.40
Grasa total	G	0.50	Ac.grasos saturados	g	0.14	Vitamina C	Mg	14.00
Carbohidratos	G	12.50	Colesterol	mg	0.00	Hierro	Mg	0.70
Fibra diet. total	G	3.00	Potasio	mg	47.00	Vit.B12	mcg	0.00
Ceniza	G	0.30	Sodio	mg	15.00	Ácido fólico	mcg	0.00
Calcio	Mg	11.00	Zinc	mg	0.10	Folato equiv.FD	mcg	14.00
Fosforo	Mg	11.00	Magnesio	mg	16.00	Fracción comestible	%	0.60
						Vit.B6	mg	0.10

Fuente: INCAP y OPS 2012.

2.10.5.1. Tallo

El duramen es de color marrón rojizo y la albura de un color ligeramente más claro, la madera es dura, resistente y pesada, pero no se recomienda comercializar para muebles o pisos debido a su inestabilidad (Torres 2007).

2.10.5.2. Hojas

Las hojas son de color verde brillante oscuro, con pecíolo corto, elípticas, algunas veces oblongo-ovado, la base en forma de cuña, obtusa o redondeada, el ápice redondeado u obtuso, los márgenes enteros con numerosas glándulas finas y claras entre las nervaduras, de 10 a 20 cm. de largo y 5 a 10 cm. de ancho (Sosof *et. al* 2005).

2.10.5.3. Flores

Las flores, blancas y fragantes y de 2 a 3 cm de ancho, pueden ser examinadas, pistiladas o polígamas. Crecen ya sea como flores solitarias o en agrupaciones en las axilas de las ramas más jóvenes (Zapatier 2015).

Existen flores masculinas, femeninas y hermafroditas o bisexuales, y se pueden encontrar en el mismo árbol o en árboles diferentes. Las flores masculinas tienen numerosos estambres amarillos apiñados en el centro, de 1.27 cm de altura y 1.90 cm de ancho y unidos en la base; las flores femeninas tienen un pistilo compuesto, con un ovario de 2 – 4 células con estilo corto y un estigma con dos lóbulos generalmente anchos (Torres 2007).

2.10.5.4. Fruto

Según Hernández & Moza (2013) el fruto es globoso u ovalado, de 8 a 20 cm. de diámetro, con un pedúnculo delgado y corto, permaneciendo más o menos un remanente floral en la punta de color café claro con pequeñas áreas esparcidas en la superficie.

El fruto es una drupa, puede ser de forma redondeada u oblonga, de 8 – 20 cm de diámetro y 0.5 - 2.0 kg de peso, con corteza gruesa y flexible, pulpa de amarilla rojiza o anaranjada, de exquisito sabor y jugosa, puede contener de 1 – 4 semillas oblongas de color marrón rojizo de 5 – 6 cm de largo (Torres 2007).

Según Hernández & Moza (2013) el fruto tiene un peso entre 600 y 700 g pudiendo llegar hasta 1.0 kg. La pulpa es firme, de color amarillo rojizo o amarillo naranja, tienen de 2 a 4 semillas grandes, exudando cuando verdes látex de color amarillo (Sosof *et. al* 2005).

2.10.5.5. Semilla

Según el CATIE (2003), las semillas requieren de 1 – 2 meses para germinar, se deben sembrar de 5 – 8 cm de profundidad. Las semillas se pueden extraer de frutos maduros caídos al suelo y pueden ser almacenadas bajo refrigeración hasta por cuatro meses, La estructura utilizada como semilla corresponde al endocarpio, el cual contiene en su interior una semilla, estos pesan en promedio 47.8 g. Cada fruto puede contener de 1 – 4 endocarpos, siendo un 71.5% de los frutos que presentan un endocarpio, un 24.5% presentan dos, un 3.0% presentan tres y un 1.0% presenta hasta cuatro (Torres 2007).

2.10.5.5.1. Toxicidad en semilla

El ingrediente activo de la semilla de mamey se conoce como “mameyín”, sustancia parecida en composición y efecto a las piretrinas, encontrándose en un 0.19% en base al peso de la semilla (Torres 2007).

Las diferentes estructuras del mamey tienen propiedades tóxicas que pueden ser utilizadas como insecticidas. Las semillas de mamey son altamente tóxicas para insectos, peces y animales hambrientos particularmente cerdos. Las cumarinas del fruto probablemente no son tóxicas para los seres humanos (Hernández y Moza 2013).

Por ejemplo, la hoja puede controlar el ataque de grillos y plagas en distintos cultivos. El látex de la corteza, combinado con grasa, puede contrarrestar el ataque de garrapatas, pulgas y piojos (Cedeño y Viteri 2009).

2.10.5.6. Rendimiento

Se pueden esperar producciones anuales de más de 100 Kg. de fruto en árboles adultos (250 – 400 frutos), repartidas en una o dos cosechas. Según, se pueden cosechar 250 frutos/planta/año con un peso promedio de 650 a 700 g (Torres 2007).

2.10.6. Requerimientos edáficos y climáticos

2.10.6.1. Suelos

Requiere de suelos fértiles, bien drenados; de sol constante. Aunque soporta sólo “suaves” sombras. Sin embargo, no tolera el frío (Mayorga *et al.* 2010).

Los mejores suelos para el desarrollo del mamey son aquellos que son profundos, ricos en materia orgánica y con buen drenaje (Torres 2007).

Según Hernández y Moza (2013), el cultivo de mamey tolera también suelos que van de margas arenosas a arcillosas y una fluctuación en el pH de 5.1 a 7.8. Aparentemente el mamey no crece en arenas excesivamente drenadas o en suelo con drenaje pobre. Sobrevive y crece de manera lenta en suelos erosionados y compactos. El pH puede oscilar de 5.1 hasta 7.8 (Torres 2007).

2.10.6.2. Clima

Es un árbol propio de las tierras calientes, y se adapta desde el nivel del mar hasta los 1000 metros sobre el nivel del mar, tanto en regiones húmedas como en los semiáridos, prosperando tal vez mejor en las últimas (Lebrón 2015)

El mamey crece mejor en climas cálidos y húmedos, y es tolerante a la sombra intensa, principalmente cuando los árboles están jóvenes. Se adapta mejor en climas húmedos a muy húmedos en donde la precipitación anual promedio varía de 1500 a 3000 mm, incluso se encuentra en El Caribe en lugares en donde la precipitación alcanza los 4000 mm anuales.

Torres (2007) tiene reportes donde explica que el mamey no es tolerante a las heladas, cuando estas han bajado de los 0 °C, los árboles mueren.

2.10.7. Reproducción y crecimiento

Las plantas injertadas fructifican a los cuatro años después del trasplante, mientras que en las plantas obtenidas de semilla. La fructificación se inicia solamente después de ocho a diez años del trasplante, con el agravante de la presencia de más de 50% de plantas masculinas que no producen frutos (Hernández y Moza 2013).

2.10.8. Manejo agronómico del cultivo de mamey

2.10.8.1. Época de siembra

Las actividades de injertación debe realizarse al menos nueve meses antes, de la siembra al campo definitivo, es decir desde el desarrollo del patrón hasta la injertación, ya que cuando entre la estación lluviosa las plantas injertadas deben tener un desarrollo óptimo que garantice su crecimiento en el lugar definitivo lo suficiente como para soportar el siguiente período de sequía o al menos que se cuente con riego se pueden establecer en cualquier época (Torres 2007).

2.10.8.2. Distanciamiento y sistema de siembra

Este cultivo se puede establecer desde 4.5 x 4.5 m hasta 6 x 6 metros a cuatro; 4 x 6 m; 5 x 7 m en rectángulo y a 5 x 5 x 5 metros a tres bolillos (Torres 2007).

2.10.8.3. Fertilización

La fertilización es un aspecto clave para acelerar y mejorar la productividad, recomienda usar por árbol, de 10 – 15 kg de estiércol anualmente (Torres 2007).

2.10.9. Control de principales plagas y enfermedades del cultivo de mamey

Según Torres (2007) en El Salvador se reporta que la mosca de la fruta (*Anastrepha sp.*), la avispa negra (*Trigona sp.*), como las plagas que más daños hacen al cultivo de mamey.

Pero según Sermeño (2016), las principales plagas que afectan el cultivo de mamey en El Salvador son las siguientes.

2.11. Principales enfermedades del cultivo de mamey

Para mamey hasta el momento no se reportan enfermedades que causen algún daño económico (Sosof *et. al* 2005). Sin embargo, según López & Moreira (2015), las principales enfermedades son las siguientes:

2.11.1. La antracnosis

(*Colletotrichum gloeosporioides* penz). Puede dañar las hojas jóvenes, flores y los frutos, pero usualmente no es un problema muy serio.

2.11.2. El alga roja

(*Cephaleuros virescens* kunze). Puede atacar ramitas y las hojas causando la muerte regresiva, si condiciones de alta humedad se mantiene continuamente por un largo periodo.

Las raíces pueden ser atacadas por varios hongos *Rhizoctonia* sp. *Pythium splendens* lo cual ocasiona un declinamiento general en el vigor del árbol.

2.11.3. Control de malezas

El mamey es un frutal de crecimiento lento durante su establecimiento, por lo que es necesario hacer limpiezas más frecuentes al menos cada dos meses. En terrenos planos lo más conveniente es hacer las limpiezas utilizando maquinaria, en terrenos con pendiente que no permita el uso de maquinaria, lo mejor es hacer uso de herbicidas, preferiblemente a base de glifosato por su mejor eficiencia. (Torres 2007).

2.11.4. Riegos

Los métodos más conocidos son el riego por surcos o gravedad y riego por goteo, siendo este último el más conveniente ya que solamente se humedece parte de la superficie del suelo donde se ubica la zona radical del árbol. Este sistema pretende como ventajas que se adapta a las condiciones topográficas de terrenos más diversas y su gran eficiencia (Sosof *et al.* 2005).

2.12. Cosecha

2.12.1. Índice de cosecha

Esta se realiza cuando el fruto tiene un tamaño adecuado y va depender básicamente del material genético del que se disponga que por el hecho de ser una especie nativa y de propagación espontánea su origen es de semilla por lo que habrá diferencias marcadas de un árbol a otro (Hernández y Moza 2013).

Se deben cosechar cuando están maduras. La madurez del fruto se determina por un ligero amarillamiento de la piel o cuando uno puede raspar levemente la superficie del fruto con las uñas. Se recomienda recolectar los frutos directamente del árbol, dejándoles adherido una pequeña porción del pedúnculo. Los frutos que caen al suelo también pueden ser colectados pero el periodo de almacenamiento es menor que cuando se recolectan directamente del árbol (IICA s. f.).

2.12.2. Sistemas de recolección

Lo más conveniente es evitar que el fruto caiga al suelo porque en muchas partes el agricultor simplemente espera a que ellos solos caigan, sin embargo, de esa forma los frutos se dañan principalmente si los árboles son muy altos, lo más recomendable es recolectar la fruta una a una o usar una bolsa de lona atada a una vara larga y liviana para cosechar las frutas en ramas distantes (Hernández y Moza 2013).

2.12.3. Manejo postcosecha

Al parecer es una fruta no climatérica por lo que se cosecha prácticamente en completa madurez, sin embargo, lo mejor sería colocarlos en cajas de madera o plástico amortiguadas con paja o papel periódico (Sosof *et al.* 2005).

2.12.4. Propiedades físico químicas del fruto de mamey

La composición porcentual promedio del fruto es de 62% de pulpa, 20% de semilla y 18% de cáscara; el color de la pulpa en el fruto de mamey se debe a la presencia de carotenoides y que durante la maduración la concentración de estos pigmentos aumenta. Se detectó la presencia de β - caroteno (color amarillo) y el pimiento violaxantina, el de mayor concentración de los carotenoides (Caicedo y López 2016).

Según estudios realizados en tres diferentes extractos (etanólicos, metanólicos y diclorometanos) obtenidos de *Mammea americana* en el tratamiento de trastornos gastrointestinales causados por diversos factores, se demostró la capacidad de los compuestos presentes como tratamientos en todos los tipos de úlceras gástricas (Cedeño y Viteri 2009).

La concentración de fibra dietética (fibra soluble e insoluble) en la mayoría de frutas normalmente oscila de 1 a 5 g. por 100 g. de producto fresco y con respecto al mamey, señala

que este contiene polisacáridos cuyas características fisicoquímicas permiten utilizarlos como fuente de fibra en la preparación de alimentos para regímenes especiales. Además de ser una buena fuente de fibra insoluble por su alto contenido de celulosa con 0.95 g. /100 g. de porción comestible (Zapatier 2015).

2.12.5. Usos del cultivo de mamey

En El Salvador se come directamente como fruta fresca, en refresco o en helados. Los indígenas elaboraban bebidas alcohólicas de la fruta y un rico licor dulce y oloroso se obtiene de la destilación de las flores, el cual en las Antillas le llaman “Eau e Creóle” (Hernández y Moza 2013).

En cuanto a la pulpa de mamey, puede usarse adecuadamente para la elaboración de pulpa, puré congelado, pasteles, dulces, jaleas, yogurt, helados, torta, vino. Además, puede mantenerse en conservas y enlatar en rodajas (Cedeño y Viteri, 2009).

Para el control de insectos en cultivos se usa la semilla molida en polvo fino en una relación de 8 a 9 gr, por planta, se considera que en polvo el poder insecticida es mayor. Además, se puede aplicar en forma líquida, utilizando como adherente agua jabonosa, en una relación de 1 kg de polvo de semilla en 100 litros de agua (Alvarado *et al.* 1994).

La madera que es dura y pesada se deja trabajar fácilmente, se puede utilizar para la fabricación de herramientas y de estructuras decorativas debido a que se puede pulir bien y da un buen brillo. Los árboles se utilizan como rompe vientos en los cafetales (FAO s. f.).

En El Salvador se ha empleado satisfactoriamente para el control de la palomilla dorso de diamante que ataca el repollo. Se prepara una infusión en agua caliente de semilla molida de mamey, a razón de 1 kg de la harina molida por 6 litros de agua, dejando reposar por 24 horas, se filtra con una tela y se aplica con bomba de mochila sobre el repollo afectado (Lebrón 2015).

2.13. Diversificación de productos procesados del cultivo de mamey

2.13.1. Pasta de mamey

Se puede preparar pasta de mamey, con rendimiento de 40% sobre la base de la fruta, pero es necesario utilizar un molino coloidal La pasta se conserva en buenas condiciones al medio

ambiente ya 37° con bisulfito de sodio (400 ppm) V sorbato de potasio (0.1 %), además del tratamiento térmico de 80° C por tres minutos. La dilución de la pasta en agua (1:6), da un buen néctar de 14.5 Brix y pH 3.5 (Orduz y Rangel 2002).

2.13.2. Maceración de mamey

La forma más simple de industrializar es cortar la fruta en tiras, macerarla en azúcar por algunas horas y envasarla para su consumo. Sin embargo, existen otras formas de industrialización casera que podrían ser mejoradas para constituir la base de una microempresa agroindustrial, como son la preparación de mermeladas, compotas y licor de las flores (FAO s. f.).

2.13.3. Conserva de mamey

Según investigaciones realizadas, es una fruta muy recomendada para la creación de conservas, ya que dura de dos a tres meses en descomponer su pulpa y llegar a portar hongos dañinos para la salud (López y Moreira 2015).

2.13.4. Ventajas competitivas del mamey

- Hay lugares de América Latina que protegen mucho el árbol de mamey Cartagena, ya que la fruta es muy valorada y considerada dentro de las jurisdicciones, como lo es el caso de Cuba, México, Brasil, Colombia y Venezuela. (López y Moreira 2015).
- El mamey tiene un importante contenido de carotenoides y es una fuente de vitamina A, contiene algunas otras vitaminas, aunque en menores proporciones, como el ácido ascórbico (Mayorga *et al.* 2010).
- En Ecuador, la pulpa en ciertos lugares se acostumbra a macerar la fruta en vino, dando como resultado un vino exquisito de un aroma y sabor muy agradable (López y Moreira 2015).

2.14. El mamey y el comercio mundial

En la Figura 5. Se observa la distribución geográfica de producción del cultivo de mamey en Centroamérica.



Figura 5. Distribución del mamey en Centroamérica según FAO.

Fuente: FAO s. f.

No se tiene datos actuales sobre la producción mundial, pero, se conoce los lugares donde se está produciendo el cultivo, que está ubicado en centro América los lugares donde hay productores de mamey son México, Guatemala, Puerto Rico, Costa Rica, Cuba, República dominicana y Florida, entre otros (Lebrón 2015).

Siendo México el país que más investigaciones ha realizado para mejorar el cultivo ahora cuenta con más de 2342.75 ha sembradas y Guatemala con un total de 793,970 ha de mamey. Los principales destinos de exportación de Guatemala durante el 2002-2006 han sido El Salvador con 60%, Honduras 20.2%, Estados Unidos con 19.6% (Gutiérrez 2009).

2.14.1. Datos de producción y zonas potenciales de siembra de mamey en El Salvador

El mamey es un cultivo como la mayoría de frutales en El Salvador de traspatio de árboles desarrollados espontáneamente y en estado casi silvestre, sin embargo, por la arquitectura del árbol, forma y textura de las hojas puede encontrarse en muchas zonas residenciales de San Salvador como árbol ornamental (Hernández y Moza 2013).

No existe en El Salvador plantaciones comerciales de mamey con propósitos comerciales, toda la producción proviene de árboles establecidos naturalmente o sembrados informalmente. Los registros estadísticos reflejan un total de 28 manzanas de cultivo que son asesoradas por el Programa Nacional de Frutas de El Salvador (MAG FRUTALES) (Gutiérrez 2009).

Sin embargo, según Menéndez (2001), en la presentación de resultados del mercado de frutas nativas por FRUTALES, los datos generales del cultivo de mamey (*Mammea americana* L.) en El Salvador son los que se muestran en la tabla 3:

Tabla 3 Generalidades de mercado de frutas nativas en El Salvador.

Comportamiento del cultivo de mamey (<i>Mammea americana</i> L.) en El Salvador	
Procedencia	La Paz (San Pedro Nonualco, Santiago Nonualco), Cuscatlán (Cojutepeque) Sonsonate
Variedades	Mamey de azúcarón y Mamey de fresco
Calidad	Tamaño grande, buen color entre amarillo y anaranjado
Periodos	Marzo - Agosto
Cantidades	Aprox. 3,3000 unidades/semana
Compradores	Mayoristas de La Tiendona (Carlos José Reyes)
Recomendaciones	Producir más (esto no alteraría los precios, ya que existe una fuerte demanda)

Fuente: Gutiérrez 2009.

El cultivo se puede desarrollar casi en todo el país y frecuentemente es hallado entre los 500-1000 msnm, aunque existen materiales que se hayan desde el nivel del mar, por lo que nos hace pensar que su potencial de explotación se limita a las zonas con medias alturas de Ahuachapán, Santa Ana, Cuscatlán, San Salvador, Usulután, San Miguel, Sonsonate, La Libertad, y La Paz (Hernández y Moza 2013).

Según Torres (2007) realizando giras de campo realizadas en El Salvador en zonas productoras del cultivo durante un periodo comprendido entre mayo de 2006 a julio de 2007, los lugares identificados como potenciales fueron: Izalco en el departamento de Sonsonate; Santo Tomás y Santiago Texacuangos en el departamento de San Salvador; San Francisco Chinameca, San Pedro Nonualco y Santa María Ostuma en el departamento de La Paz, y Cojutepeque en el departamento de Cuscatlán.

2.15. Exportación de mamey en El Salvador

La cantidad de mamey que se exporta en El Salvador es de 796 kg con valor de \$23.779 en 2000 (Cruz y Deras 2000).

2.16. Estacionalidad del cultivo de mamey en El Salvador

La estacionalidad del Cultivo del mamey en El Salvador, según el Ministerio de Agricultura y Ganadería (Tabla 4.) es la siguiente:

Tabla 4 Estacionalidad de cultivo de mamey en El Salvador.

ESTACIONALIDAD DEL CULTIVO DE MAMEY EN EL SALVADOR																																
Agrupación Taxonómica				Época de Cosecha												Altitud de siembra recomendable (m.s.n.m.)						Consumo		Mercado Principal								
Nombre común	Tipo o variedad	Familia	Nombre científico	E	F	M	A	M	J	J	A	S	O	N	D	0	2	4	6	8	1	1	1	1	2	2	Fresco	Procesado	Local (El Salvador)	C.A.	EE.UU.	Europa
Mamey	Criollo	Guttiferae (Clusiaceae)	Mammea americana L.																													

Fuente: Ministerio de Agricultura y Ganadería 2009.

Según Menéndez (2001), en la presentación de resultados del mercado de frutas nativas por FRUTALES, algunos datos del comportamiento de la exportación en kilogramos desde el año 1995 al 2000 son los que se muestran en la siguiente gráfica (Figura 6.):

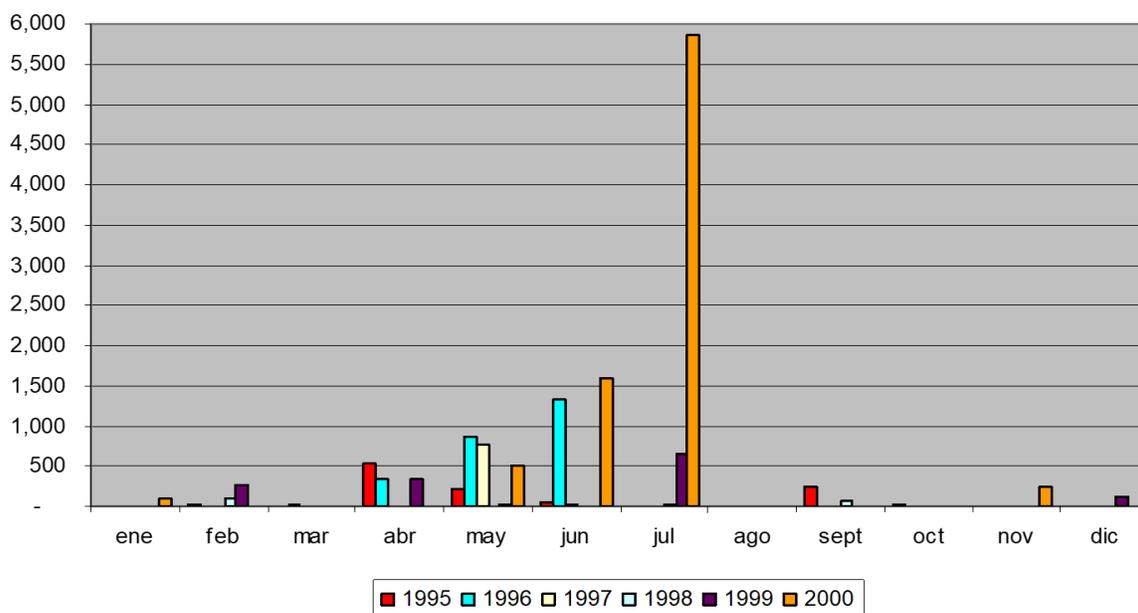


Figura 6. Exportaciones mensuales de mamey (Kilogramos).

Fuente: Gutiérrez 2009.

2.16.1. Mercados potenciales para la comercialización de mamey

El mamey tiene una importación relativamente pequeña en EEUU, su mayor mercado sigue siendo el mercado étnico. Se necesita desarrollar tanto el mercado como las variedades de los cultivos, pero la fruta por si misma tiene mucho potencial, gracias a su tamaño, la gran cantidad de pulpa que contiene, y su gran rendimiento como cultivo (Campbell 2004).

Actuales proveedores

Actualmente se comercializan en el mercado estadounidense las marcas de mamey congelado siguientes Maya y doña Lola en Los Ángeles CA, Washington DC y la marca Maya en Houston Texas.(MAG 2009)

La comercialización de esta presentación se encuentra en manos de diversos distribuidores de productos salvadoreños, no obstante, reconocen que es un producto de baja rotación y ocasional (IICA 2003).

2.17. Alimentos Funcionales

2.17.1. Biotecnología

La biotecnología es la ciencia que estudia la transformación de materias primas en productos de utilidad para el ser humano, que se lleva a cabo por medio del empleo de microorganismos y sus metabolitos, así como en algunos casos utilizando células animales. Para ello recurre al análisis y modificación de las características fenotípicas de las células, el estudio de los procesos metabólicos y las condiciones en las cuales se llevan a cabo, y colabora en el diseño de los procesos de ingeniería. Los resultados del empleo de la biotecnología en la industria lo podemos observar en: la industria alimentaria, Industria farmacéutica y en la conservación ambiental (Conde y López 2014.)

2.17.2. Definición de alimento funcional

La definición del International Life Science Institute en 1999, establece que un alimento puede ser considerado funcional si se ha demostrado de forma satisfactoria que posee un efecto beneficioso sobre una o varias funciones específicas en el organismo, más allá de los efectos

nutricionales habituales, siendo éste relevante para la mejora de la salud y el bienestar y/o la reducción del riesgo de enfermar (Andrellucchi 2008).

En la sociedad actual, los desequilibrios y desajustes alimentarios están relacionados con la aparición de un gran número de enfermedades. La falta de tiempo para cocinar, el ritmo de vida actual y la enorme oferta de alimentos que hace difícil la toma de decisiones adecuadas, conduce a que muchas personas no sigan una alimentación equilibrada, y por tanto, no ingieran todos los nutrientes que necesitan o las cantidades adecuadas. Como consecuencia de esta situación, surgen los alimentos „funcionales“ que pueden compensar los desequilibrios alimentarios y garantizan las ingestas de nutrientes recomendadas por los especialistas en nutrición (Aranceta y Serra s. f.).

Cualquier definición de alimento funcional debe converger hacia aquel alimento que tenga un impacto positivo en la salud del individuo ya sea previniendo o curando alguna enfermedad, además del valor nutritivo que contiene. Surge entonces a partir de estos nuevos enfoques, otros conceptos para identificar características particulares dentro de estos alimentos novedosos. (Reig y Anesto 2002).

2.17.3. Ejemplos de alimentos funcionales

Leches enriquecidas, Yogures enriquecidos, Leches fermentadas con bacterias probióticas específicas, zumos enriquecidos, cereales fortificados etc (Aranceta y Serra s. f.).

2.17.4. Clasificación de alimentos funcionales

Los alimentos funcionales se pueden dividir en dos amplias categorías. La primera categoría consiste en alimentos funcionales que naturalmente contienen un componente que ofrece beneficios adicionales al consumidor. La otra categoría de alimentos funcionales consiste en alimentos procesados en el que el componente se añade al alimento para darle beneficios adicionales (Ford y Dahl 2012).

2.17.5. Probióticos

Dentro del campo de los alimentos funcionales, existe un grupo denominado probióticos. El campo de probióticos es un amplio sector que comprende toda una serie de alimentos

fermentados muy extendidos en otras culturas, obtenidos no sólo a partir de leche sino de otros productos, especialmente de cereales (Andrellucchi 2008).

Los alimentos probióticos –también denominados funcionales- están en boga porque se ha experimentado mucho entorno a ellos en los últimos tiempos, sin embargo, no se trata de productos nuevos en el mercado, sino de alimentos comunes que contienen microorganismos vivos que ingeridos pueden proporcionar numerosos beneficios a nuestro organismo, y ayudarnos a mantener sana la flora intestinal (Pipitone *et al.* 2014).

2.17.5.1. Definición de probiótico

Los probióticos son microbios vivos que pueden agregarse a la fórmula de muchos diferentes tipos de productos, incluyendo alimentos, medicamentos y suplementos dietéticos cuya ingesta en cantidades adecuadas y en forma sostenida en el tiempo, es beneficiosa para la salud del ser humano (González *et al.* 2014).

Los probióticos son aquellos microorganismos vivos que, al ser agregados como suplemento en la dieta, afectan en forma beneficiosa al desarrollo de la flora microbiana en el intestino. Los probióticos estimulan las funciones protectoras del sistema digestivo. Son también conocidos como bioterapéuticos, bioprotectores o bio profilácticos (Reig y Anesto 2002).

Las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son las usadas más frecuentemente como probióticos, pero la levadura *Saccharomyces cerevisiae* y algunas especies de *Escherichia coli* y *Bacillus* también son utilizadas como probióticos (WGO 2011).

2.17.5.2. Antecedentes de probiótico

El término “probióticos” fue introducido por primera vez en 1965 por Lilly y Stillwell; a diferencia de los antibióticos, los probióticos fueron definidos como factores de origen microbiano que estimulan la proliferación de otros organismos. En 1989, Roy Fuller destacó el hecho que, para considerarse probiótico, el microorganismo en cuestión debía estar presente en estado viable, e introdujo la idea de su efecto beneficioso sobre el huésped (WGO 2011).

El término probiótico es una palabra relativamente nueva que significa “a favor de la vida” y actualmente se utiliza para designar las bacterias que tienen efectos beneficiosos para los seres humanos y los animales. La observación original de la función positiva desempeñada por

algunas bacterias se atribuye a Eli Metchnikoff, ruso galardonado con el premio Nobel por sus trabajos en el Instituto Pasteur a comienzos del siglo pasado, que afirmó que "la dependencia de los microbios intestinales con respecto a los alimentos hace posible adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microbios nocivos por microbios útiles" (FAO y OMS 2006).

2.17.6. Utilidad de los probióticos

- Contribuyen a restaurar la microbiota, es decir los microorganismos que viven habitualmente en el intestino.
- Compiten con microorganismos patógenos en el intestino, inhibiendo toxinas bacterianas y evitando infecciones.
- Producen sustancias antimicrobianas contra otros organismos no deseados estimulan el sistema inmune.
- Pueden actuar en diversos órganos, por ejemplo, en el sistema respiratorio, digestivo, urinario, etc. (González *et al.* 2014).

2.17.6.1. Probióticos en la alimentación

Las formas más comunes en que se presentan los probióticos son productos lácteos y alimentos fortificados con probióticos. Sin embargo, también hay comprimidos, cápsulas, y sachets que contienen las bacterias (WGO 2011).

Las cepas de *Lactobacillus casei*, utilizadas para producir leches fermentadas, se usan en Japón desde los años 30, gracias a su capacidad de adhesión y persistencia en el tracto gastrointestinal. El nombre de *L. casei* fue dado en 1919 y su nomenclatura está relacionada con el queso (*L. casei* y caseína son originarias del latín caseus, que significa queso (Andrellucchi 2008).

2.17.7. Prebióticos

Algunos componentes presentes de la fibra son denominados prebióticos, definidos como ingredientes alimenticios no digeribles de los alimentos que afectan de manera positiva al huésped, estimulando de forma selectiva el crecimiento y/o la actividad metabólica de un número limitado de cepas de bacterias colónicas. Estos compuestos se caracterizan por ser

moléculas de gran tamaño que no pueden ser digeridas por las enzimas digestivas del tracto gastrointestinal alto, alcanzando el intestino grueso donde son degradados por la microflora bacteriana, principalmente por las *Bifidobacterias* y *Lactobacilos*, generando de esta forma una biomasa bacteriana saludable y un pH óptimo (Olagnero *et al.* 2007).

Se encuentran en forma natural en gran cantidad de frutas y verduras, como, plátano, cebollas, papas, ajos entre otros. Los Prebióticos mejoran la flora intestinal o microbiota, estimulando el crecimiento de bifidobacterias “bacterias buenas”, que actúan beneficiando la salud: mejoran la absorción del calcio, pueden disminuir el riesgo de cáncer de colon y mejoran la respuesta inmune (González *et al.* 2014).

2.17.8. Simbióticos

Los simbióticos constituyen un grupo diferente a los probióticos. Los simbióticos se definen como “una mezcla de probióticos y prebióticos destinada a aumentar la supervivencia de las bacterias que promueven la salud, con el fin de modificar la flora intestinal y su metabolismo” y el término debe reservarse exclusivamente para los productos que poseen verificación científica de la simbiosis, es decir en los cuales los prebióticos favorecen selectivamente a los probióticos adicionados en éste simbiótico en particular (Olagnero *et al.* 2007).

2.17.9. *Lactobacillus casei*

Es una bacteria ácido-láctica que posee el estatus de generalmente reconocida como segura (GRAS), además, de catalogarse como probiótico; este último corresponde al cultivo de microorganismos vivos (bacterias, hongos y levaduras) que actúan directa o indirectamente sobre bacterias patógenas Gram-negativas en el tubo digestivo, actuando por competición física o de nutrientes, por secreción de bacteriocitas, producción de ácidos o por inmunidad cruzada (Gámez *et al.* 2014).

2.17.9.1. Beneficios al consumir *L. casei*

- Actividad inmunomoduladora regulando el sistema inmune específico y no específico.
- Mejora de la respuesta antibacteriana debido a la actividad antagonista contra patógenos. Al contribuir a restablecer el efecto barrera de la mucosa intestinal, reducen

el sobre crecimiento bacteriano y aumentan la resistencia a la colonización por microorganismos patógenos.

- Mejoría de los procesos diarreicos de cualquier etiología. En niños con diarreas por rotavirus, la administración de lactobacillus consigue menor número de días con diarrea acuosa y una reconstitución total de la flora intestinal.
- Reducción de las alergias. La existencia de una microflora intestinal con una elevada proporción de lactobacillus y bifidobacterias se ha asociado con una menor prevalencia de alergias.
- Disminución de la intolerancia a la lactosa. Está demostrado que los individuos con deficiencia de lactasa digieren mejor la lactosa a partir del yogur que a partir de la leche.
- Efectos antiinflamatorios de la mucosa intestinal.
- Prevención de la incidencia de cáncer (Andrellucchi 2008).

2.18. Presencia de *Lactobacillus* en otros alimentos

Los lactobacilos pueden encontrarse en productos lácteos, quesos, granos, productos cárnicos o de pescado, agua, aguas cloacales, cervezas, vinos, frutas y jugos de frutas y otros vegetales fermentados, ensilajes, masas agrias y pulpas, aunque también forman parte de la flora normal de la boca, el tracto gastrointestinal y la vagina de muchos animales de temperatura estable, incluyendo al hombre. También pueden encontrarse en hábitat secundarios como los fertilizantes de origen orgánico (Serna 2009).

2.18.1. *Lactobacillus* en vinos

Sin microorganismos no hay vino ya que son los responsables de la transformación del mosto de la uva en vino. En concreto son las levaduras las que por medio de un proceso bioquímico denominado fermentación alcohólica (F.A.) transforman los azúcares del mosto de la uva en etanol, CO₂ y otros compuestos químicos y con ello el mosto en vino (Mesas y Alegre 1999).

El pH determinará las especies de BAL presentes en un vino. Con niveles de pH superiores a 3,5, se favorece el desarrollo de las especies *Lactobacillus* y *Pediococcus*, mientras que, con niveles inferiores, es *O. oeni* la especie que tiende a predominar (Weber s. f.).

2.18.2. Microorganismos alterantes en vinos

Las fuentes de contaminación en el vino son numerosas y diversas, pero los principales focos son frecuentemente los mismos. Las alteraciones microbianas sobre el vino pueden venir de levaduras consideradas como contaminantes, como es el caso de *Brettanomyces* (producción de fenoles volátiles como etilfenol y etilguaiacol) La presencia de *Brettanomyces* en la uva formando parte de su microbiota natural es muy rara, al igual que durante la fermentación alcohólica; la crianza en barricas se revela como el foco de contaminación más generalizado, razón por la que la limpieza y desinfección de la madera con agua caliente. (Llanos 2014).

2.19. Métodos de siembra

Existen diversos métodos para enumerar microorganismos en muestras de muy diferente origen. Cada método tiene sus peculiaridades a la hora de transformar los datos obtenidos en una densidad microbiana de la muestra estudiada, bien sea Unidades Formadoras de Colonias (UFC), Microorganismos Totales, etc. (Arana *et al* s. f.).

2.19.1. Recuento en placa

Es un método muy utilizado cuando se necesita determinar el tamaño de la población bacteriana de una muestra. El recuento de microorganismos, en este caso, se basa en que cada uno desarrollará una colonia visible. Pero debido a que una muestra no es totalmente homogénea con respecto a su composición microbiológica, es posible que una colonia se origine de un microorganismo o de cientos de ellos, dando en este último caso un recuento menor del real (UNNE 2006).

La técnica se basa en contar las “unidades formadoras de colonias” o UFC presentes en un gramo o mililitro de muestra. Se considera que cada colonia que desarrolla en el medio de cultivo de elección después de un cierto tiempo de incubación a la temperatura adecuada, proviene de un microorganismo o de un agregado de ellos, de la muestra bajo estudio; este microorganismo o microorganismos son capaces de formar la colonia, es decir una UFC. Para que las colonias puedan contarse de manera confiable, se hacen las diluciones decimales necesarias de la muestra, antes de ponerla en el medio de cultivo; la técnica para realizar este procedimiento se describe en “Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico” (Giles *et al*. 2009).

2.19.2. Estimación del número más probable (NMP)

Este método se basa en la presunción de que las bacterias se hallan uniformemente distribuidas en un medio líquido, o sea que las muestras del mismo tamaño de un mismo producto tendrían el mismo número de microorganismos. Naturalmente las muestras contienen algunos gérmenes más o menos. Entonces la cifra media es el número más probable (UNNE 2006).

2.19.3. Método de siembra por estría en placa

Es el método más fácil y el más usado para obtener cultivos axénicos. Para ello, con un asa de siembra se toma una muestra de la población mixta y a continuación se hacen estrías sobre la superficie de un medio sólido preparado en una placa Petri (a las placas Petri también se les denomina simplemente placas). Conforme se van haciendo estrías en zigzag con el asa, cada vez se van depositando en la superficie del medio menos microorganismos (Técnicas y métodos de aislamiento 2012).

2.19.4. Método vertido en placa

En este método, las suspensiones de células microbianas se diluyen antes de su siembra en placa. Se siguen estas técnicas cuando la muestra contiene tantos microorganismos, que la dilución no se puede realizar en una sola etapa. Por ejemplo, una suspensión con mil millones de células por mililitro debe ser diluida 10 veces para obtener una suspensión con un centenar de células por mililitro, por tanto, se realizan diluciones seriadas (en varias etapas), normalmente de diez en diez, pero a veces de cien en cien (Aguilar 2012).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Aspectos generales de la investigación

La investigación consistió en hacer un estudio de supervivencia de la bacteria probiótica (*Lactobacillus casei* L.) adicionada en una bebida fermentada a base de Mamey, evaluando tres tratamientos con diferentes concentraciones.

3.2. Localización de la investigación

3.2.1. Macrolocalización

La investigación fue realizada en la zona urbana del municipio de San Salvador departamento de San Salvador en la zona central de la república. Limita al norte con Chalatenango, al este con Cuscatlán, al sur con La Paz y al Oeste con La Libertad (Fig. 7).



Figura 7. Macrolocalización de la investigación.

Fuente: Google Maps.

3.2.2. Microlocalización

La investigación se realizó en los laboratorios de Bromatología y CENSALUD de la Facultad de Química y Farmacia, de la Universidad de El Salvador (Fig. 8).

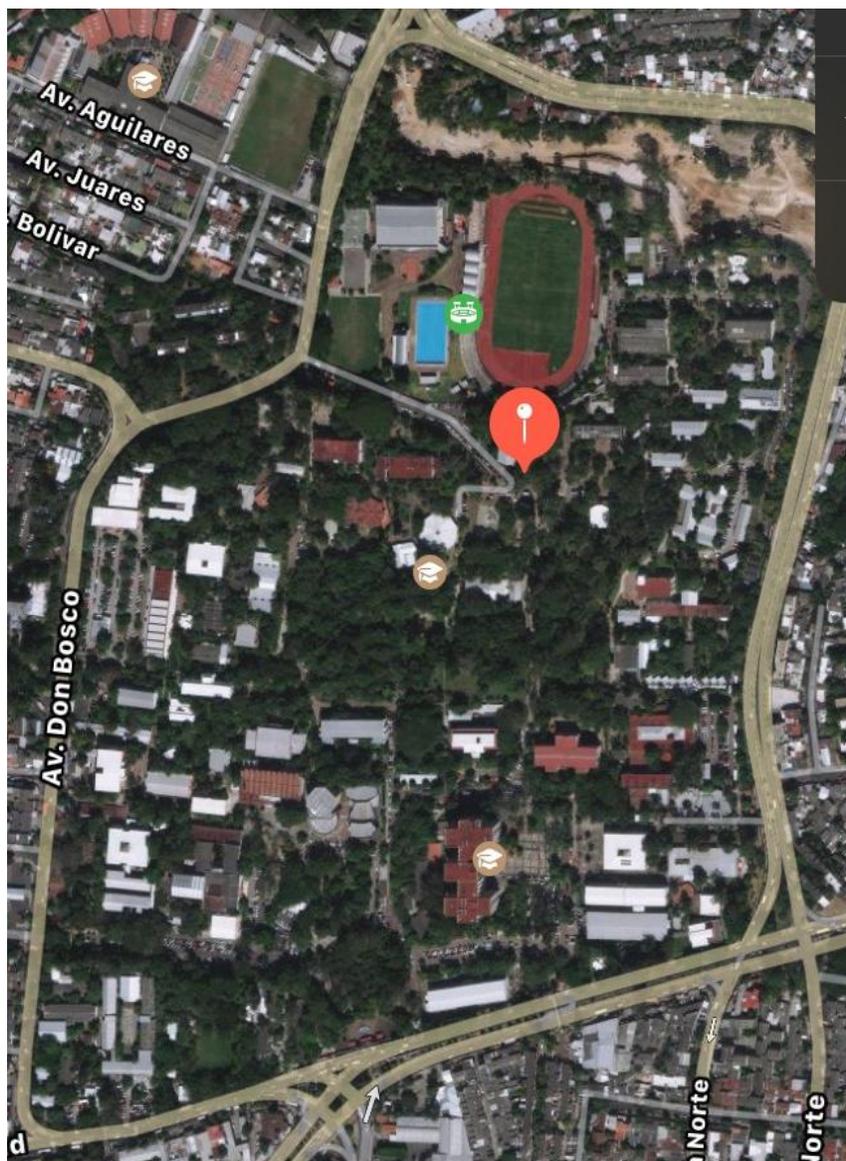


Figura 8. Microlocalización de la investigación

Fuente: Google Maps.

3.3. Tipo de investigación

La investigación realizada fue de tipo experimental donde los tratamientos se sometieron a un estudio para evaluar la presencia o no de bacterias probióticas, bajo condiciones fisicoquímicas que brinda un vino de mamey.

3.4. Investigación de laboratorio

3.4.1. Elaboración de la bebida fermentada a base de mamey

3.4.2. Diagrama de flujo para elaboración de bebida fermentada a base de mamey (vino de mamey)

A continuación, se presenta el flujo de proceso realizado para la elaboración de bebida fermentada (Fig 9.):

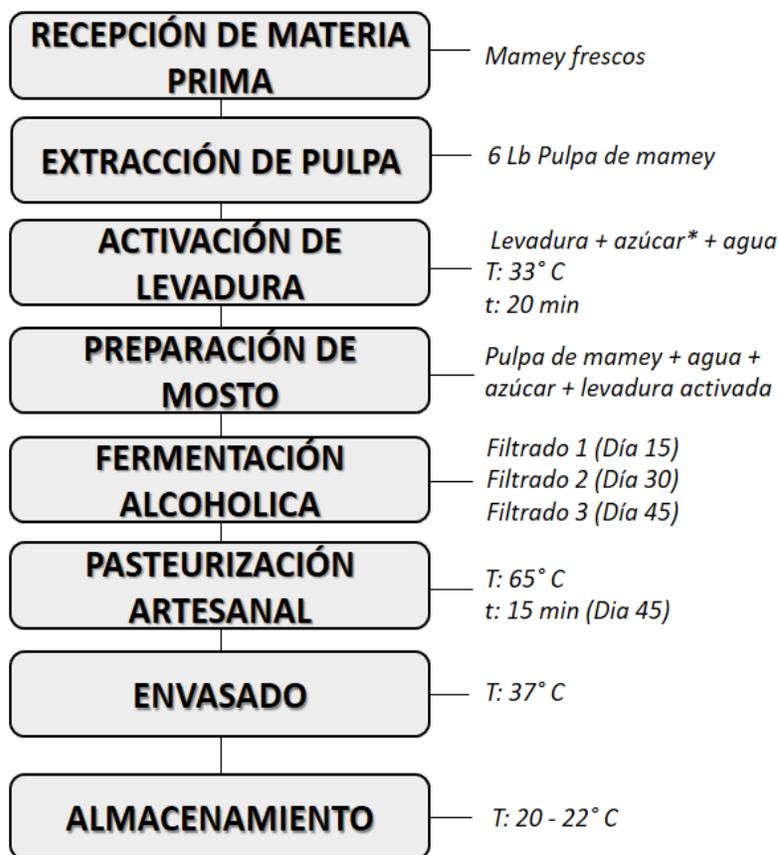


Figura 9. Flujo de proceso de bebida fermentada de mamey

3.4.3. Descripción del flujo de proceso

3.4.3.1. Recepción

Es la primera etapa del proceso de elaboración de bebida fermentada de fruta (vino de fruta), consistirá en recepcionar las materias, verificando que el producto recibido se encuentre en buen estado, limpio y con la calidad requerida. Al mismo tiempo, se debe de verificar que los envases, embalajes y etiquetados estén en buen estado.

3.4.3.2. Lavado y selección

En esta etapa se selecciona la fruta que no cumple con la calidad requerida, aquella que no tenga con el grado de madurez adecuado, no cumpla con el calibre requerido o presente golpes o magulladuras será eliminada. Esto se realizará en una mesa de selección.

Luego se realizará el lavado respectivo de la fruta para eliminar bacterias superficiales, residuos de insecticidas y suciedad adherida a la fruta. Se utilizará agua con Hipoclorito de sodio al 1% para garantizar la limpieza de la materia prima (Ronquillo *et al.* s. f.).

3.4.3.3. Extracción de pulpa

La eliminación de la cáscara permite ablandar más rápidamente la fruta, así como obtener un producto de mejor calidad. Se realizará mecánicamente utilizando una peladora. Es esta parte de la preparación, en la que se logra la separación de la pulpa de los demás residuos como las semillas, cáscaras y otros (Vega 2011).

3.4.3.4. Preparación de mosto

Se procede a realizar la mezcla de todos los ingredientes, como la levadura, la pulpa de la fruta y la sacarosa (Ronquillo *et al.* s. f.).

3.4.3.5. Fermentación

En este paso se coloca una trampa de aire, para evitar su oxidación a vinagre. La mezcla se deja fermentar en barrica de encino, de 10 días para la naranja y tejocote como mínimo, a una

temperatura de 30°C. La fermentación se interrumpe cuando ya no hay producción de gas (Ronquillo *et al.* s. f.).

3.4.3.6. Trasiego

Durante el fermento existe una separación de fases, quedando el vino en la parte superior y residuos de fruta o levadura en la parte inferior. Consiste en separar la parte superior del fermento, mediante una manta de cielo para filtrar la parte de arriba del fermentado, previamente esterilizado, para eliminar la levadura y la pulpa residuales (Ronquillo *et al.* s. f.).

3.4.3.7. Envasado

Por lo general, se hace en botellas de vidrio. Los envases deben esterilizarse. El sellado puede hacerse manual o mecánicamente. Es frecuente que el tapón de la botella sea de corcho, en este caso se utiliza botella de vidrio con tapa de rosca de plástico (Ronquillo *et al.* s. f.).

3.4.3.8. Almacenamiento

Debe de realizarse bajo condiciones de temperaturas optimas y niveles de luz bajos. De esta manera se conservará el producto terminado con las características de calidad idóneas (Ronquillo *et al.* s. f.).

3.5. Determinaciones fisicoquímicas para una bebida fermentada a base de mamey

Al batch de bebida fermentada producida, se le realizaron análisis fisicoquímicos para obtener cálculos y procedimientos normados para garantizar la calidad del vino y supervivencia de bacterias. El batch elaborado y analizado, fue utilizado para la inoculación de probióticos separándolo en 3 tratamientos con 4 repeticiones cada uno; además del tratamiento testigo.

3.5.1. Determinación de pH según AOAC (1984)

Fundamento: La concentración de iones hidrógeno se expresa como pH, este se mide utilizando un potenciómetro que se calibra con soluciones tampón y los valores de pH de la muestra se determinan introduciendo directamente el electrodo en la muestra sin diluir a temperatura ambiente.

Determinación de pH.

Proceso:

- Se encendió el potenciómetro.
- Posteriormente se calibró el con las soluciones tampón siguiendo las instrucciones del fabricante.
- Se lavó el electrodo con agua destilada y se secó el exceso de agua con papel absorbente.
- Se colocó la muestra mezclada contenida en un vaso de precipitados y se colocó el electrodo sin que toque las paredes del vaso.
- Se esperó a que se estabilizara la lectura del medidor y se anotó el resultado.

Nota: El análisis se efectuó por triplicado, el rango de especificación es de 3.2-3.9 de acuerdo con lo establecido por la Norma Mexicana NMX-V-012-1986.

3.5.2. Determinación de acidez total (Según la AOAC)

Principio del método

La valoración se efectúa con el indicador de fenolftaleína. La presencia de gran cantidad de agua caliente minimiza el error debido al contenido de dióxido de carbono.

Se procede sin desgasificar si se trata de un vino tranquilo.

Desgasificación de la muestra

Si el vino tiene apreciable cantidad de CO₂ conviene eliminarlo por el método AOAC

Reactivos

- Solución de Fenolftaleína al 1% Preparada con alcohol al 70%
- Hidróxido sódico 0.0667 M

Proceso:

Desgasificación de la muestra (Eliminar CO₂)

- En un erlenmeyer de 100ml se colocaron 25 ml de la muestra y se calentó en un recipiente ebullición; Se dejó durante 30 segundos agitandolo y esperamos a que alcance la temperatura ambiente.
- En un erlenmeyer de 500ml se hirvieron 200ml de agua destilada.

- Se detuvo la ebullición y todavía caliente se añadió 1ml de la solución indicadora de fenolftaleína.
- Con la solución de hidróxido de sodio se neutralizó hasta alcanzar un color rosado
- A continuación se añadieron 5ml de la muestra de vino o mosto.
- Desde una bureta se añadió la solución de hidróxido sódico, que se utilizó anteriormente, hasta alcanzar el mismo color inicial.

Cálculos

El cálculo de la acidez total, expresada en gramos de ácido tartárico por litro de vino, es igual al número de mililitros de reactivo de hidróxido sódico, gastados en la valoración.

Cálculos (expresados como gramos de ácido tartárico).

Gramos de ácido tartárico/100 mL de vino = $\frac{\text{mL NaOH} \times \text{Normalidad} \times 0.075}{5}$

Nota: El procedimiento se efectuó por triplicado. rango de especificación acidez total titulable entre: 4.5 -10 de acuerdo a lo establecido por la norma Mexicana NMX-V-012-1986.

3.5.3. Determinación de grados Brix

Proceso:

- Se limpió el lente del brixómetro con una torunda de algodón impregnada de alcohol.
- Se verificó si está calibrado colocando una gota de agua destilada sobre del lente del brixómetro,
- Posteriormente se realizó la lectura observando en dirección a la luz.
- Con la ayuda de una micropipeta se colocó 1 gota de muestra en el lente del brixómetro y se hizo la lectura observando en dirección a la luz.
- Se anotó el valor leído en el campo del lente del brixómetro.

3.5.4. Determinación de grado alcohólico, según AOAC 11.006

Proceso:

- Se midieron 50.0 mL de vino y fueron colocados en un balón de destilación de 250 mL.
- Se agregaron 25 mL de agua destilada.
- Posteriormente se instaló el aparato de destilación colocando el condensador verticalmente.

- Se Destilaron alrededor de 25 mL.
- Con el destilado obtenido, se procedió a determinar el grado alcohólico por densidad específica.

Fórmula: $W = \frac{m_g - m_0}{m^1 - m_0}$

Dónde:

W= grado alcohólico.

mg= masa del picnómetro + líquido a analizar.

m₀= Picnómetro vacío

m₁=masa del picnómetro + agua

Se encontró el porcentaje de alcohol de acuerdo a las tablas apéndice C de la AOAC correspondientes a la gravedad específica.

Nota: Rango de especificación es de 8.5 -14, acuerdo a lo establecido por la norma Mexicana NMX-V-012-1986.

3.6. Protocolo microbiológico para determinación de concentraciones de *Lactobacillus casei* L. por tratamiento a evaluar

Con base a los tratamientos previamente establecidos se realizó la determinación de concentraciones de *Lactobacillus casei* L. por gramo liofilizado, para definir las cantidades a inocular en el vino.

Insumos microbiológicos:

Para la determinación de concentraciones de *Lactobacillus casei* por tratamiento se utilizaron los siguientes insumos y los materiales y equipo que se ven reflejados en la tabla 6:

- *Lactobacillus casei* L.
- Agar M.R.S
- Agua peptonada
- Agua destilada
- Anilina
- Etanol al 70%
- Hipoclorito de Sodio al 0.4%

Tabla 5. Materiales y equipo a utilizar en la determinación de concentraciones

Instrumento o material	Cantidad	Instrumento o material	Cantidad
Balanza	1	Puntas	15
Termómetro	1	Probetas	5
Cámara de flujo laminar	1	Agitadores	2
Estufa	1	Placas Petri (20ml)	9
Autoclave	1	Tubos de ensayo	13
Erlenmeyer	4	Frascos formuladores	4
Beacker	6	Frasco de dilución	1
Gradillas	1	Vela	1
Incubadora	1	Papel aluminio	1
Baja lenguas	2	Papel toalla	1

3.6.1. Proceso de comprobación de número de bacterias por gramo liofilizado

Esterilización de materiales

- Se colocaron los instrumentos de cristal y de madera en una estufa y se llevó a 170°C durante 60 minutos.
- Se colocaron los tubos y el frasco formulador que contenían agua peptonada en el autoclave hasta quedar completamente estéril.

Preparación de agua peptonada

- Se disolvieron 15g de agua peptonada en 1 Litro de agua destilada.
- Se calentó el agua destilada para homogenizar la dilución y se midió en una probeta.
- Se midieron 225ml de agua peptonada y se trasladó al frasco medidor.
- Se midieron los 9ml de agua peptonada para cada tubo (117ml).

Preparación de agar MRS

- De acuerdo a las instrucciones del envase 14g de agar MRS (De Man, Rogosa y Sharpe) se disolvieron con agua destilada y se aforó a 200ml, se homogeneizó la mezcla calentándola.

Preparación de Hipoclorito de sodio al 0.4%

- Se prepararon 500ml de Hipoclorito de sodio al 0.4% y para ello se utilizaron 460ml de agua destilada estéril y 40ml de Hipoclorito de sodio al 5%.

Preparación de Etanol al 70%

- Se prepararon 500ml de Etanol al 70% y para ello se utilizaron 388ml de etanol al 90% y 112ml de agua destilada estéril
- Se agitó hasta homogenizarse.

Limpieza y desinfección de la cámara de flujo laminar.

- Se abrió completamente la cámara de flujo laminar, se limpió a totalidad con papel toalla humedecido con hipoclorito de sodio y con etanol dejándose actuar por 20 minutos.

Proceso de inoculación

- Se disolvió 1g de *Lactobacillus casei* en 225ml de agua peptonada y se agitó hasta homogenizarse siendo este frasco la dilución 10^{-1} y se pasó 1ml del 10^{-1} al 10^{-2} y así sucesivamente hasta llegar al último tubo 10^{-13} , esto con el fin de que la bacteria vaya más disuelta en los últimos tubos y poder facilitar el conteo.
- Se calentó el agar hasta volverlo líquido y se colocó en baño maría para mantenerlo a 45°C y se le adicionaron 2ml de anilina azul hasta tornar un color verde oscuro.
- Se colocó 1ml de las diluciones ya inoculadas 10^{-1} , 10^{-4} y 10^{-7} en placas petri al triplicado por cada dilución.
- Se colocó el agar en estado líquido en las placas utilizando la técnica (vertido en placa).
- Se esperó hasta que el agar se solidificara, se rotularon y se envolvieron las placas con papel aluminio en paquetes de 3 (por diluciones) y se guardaron en condiciones de anaerobiosis a 37°C durante 48 horas.

3.6.2. Recuento de bacterias

En la Figura 10 se muestra una placa con crecimiento bacteriano, seccionada en 8 partes para facilitar su recuento.

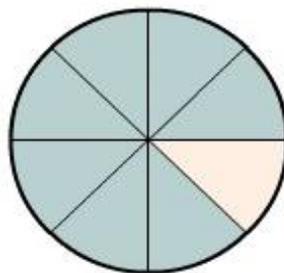


Figura 10. Placa Petri dividida en 8 partes

- Después de 48 horas se extrajeron las placas Petri de la incubadora rompiendo así el sistema de anaerobiosis
- Se tomó en cuenta la dilución 10^{-7} debido a que fue la única que era posible contar ya que las diluciones 10^{-1} y 10^{-4} tenían un crecimiento demasiado numeroso
- Se seccionó la placa en 8 partes en cada una de las 3 placas con la dilución 10^{-7}
- Se procedió a contar la octava parte de cada placa y el resultado se multiplicó por 8 para obtener el número de UFC que crecieron por placa.

$$P1. 248\text{UFC} \times 8 = 1,984\text{UFC}$$

$$P2. 551\text{UFC} \times 8 = 4,448\text{UFC}$$

$$P3. 2,074 \text{ UFC} \times 8 = 16,592\text{UFC}$$

- Se realizó la sumatoria de las 3 placas y se sacó un promedio

$$\text{UFC/P} = P1 + P2 + P3 / 3$$

$$\text{UFC/P} = 1,984\text{UFC} + 4,448\text{UFC} + 16,592\text{UFC} / 3$$

$$\text{UFC/P} = 23,024\text{UFC} / 3$$

$$\text{UFC/P} = 7,674.66\text{UFC}$$

- Se calculó el factor de dilución y se aplicó la siguiente formula:

Calculo del factor de dilución

$$225\text{ml H}_2\text{O Pept.} + 1\text{g } L.\text{Casei} = 226\text{ml}$$

$$1 / (1 + 225\text{ml H}_2\text{O Pept.})$$

$$1 / 226\text{ml}$$

$$\text{FD: } (10 \times 7)(226\text{ml}) / 6\text{ml}$$

$$\text{FD: } 2,636.66$$

$$\text{FD: } 2.63 \times 10^3$$

$$\text{UFC/g} = \text{UFC Placa} \times \text{FD} / \text{g Muestra}$$

$$\text{UFC/g} = 7,674.66\text{UFC} \times 2,636.66 / 1\text{g}$$

$$\text{UFC/g} = 2.023 \times 10^7 \quad \text{UFC/g}$$

3.6.3. Proceso de inoculación de *L. casei* a la bebida fermentada de mamey y siembra

Con base a las concentraciones de *L. casei* por gramo determinadas, se realizó la inoculación en el vino para los diferentes tratamientos y la siembra de vino inoculado en las placas Petri para su recuento.

Insumos microbiológicos:

Para la inoculación de *Lactobacillus casei* en la bebida fermentada se utilizaron los siguientes insumos y los materiales y equipo que se ven reflejados en la tabla 7:

- *Lactobacillus casei*
- Agar M.R.S
- Agua peptonada
- Agua destilada
- Anilina
- Etanol al 70%
- Hipoclorito de Sodio al 0.4%
- Bebida fermentada de mamey

Tabla 6. Materiales y equipo a utilizar en la inoculación

Instrumento o material	Cantidad	Instrumento o material	Cantidad
Balanza	1	Puntas	15
Termómetro	1	Probetas	5
Cámara de flujo laminar	1	Agitadores	2
Estufa	1	Placas Petri (20ml)	28
Autoclave	1	Tubos de ensayo	4
Erlenmeyer	4	Frascos formuladores	4
Beacker	6	Frasco de dilución	12
Gradillas	1	Vela	1
Incubadora	1	Papel aluminio	1
Baja lenguas	2	Papel toalla	1

Esterilización de materiales

- Se colocaron los instrumentos de cristal y de madera en una estufa y se llevó a 170°C durante 60 minutos.
- Se colocaron los tubos y el frasco formulador que contenían vino de mamey en el autoclave hasta quedar completamente estéril.

Preparación de agar MRS

- De acuerdo a las instrucciones del envase 49g de agar MRS (De Man, Rogosa y Sharpe) se disolvieron con agua destilada y se aforó a 700ml, se homogeneizó la mezcla calentándola.

Preparación de agua peptonada

- Se disolvieron 15g de agua peptonada en 1 Litro de agua destilada
- Se calentó el agua destilada para homogenizar la dilución y se midió en una probeta.
- Se midieron 675ml de agua peptonada y se trasladó en partes iguales a 3 frascos medidores teniendo 225ml cada uno.
- Se midieron los 9ml de agua peptonada para cada tubo (36ml).

Preparación de Hipoclorito de sodio al 0.4%

- Se prepararon 500ml de Hipoclorito de sodio al 0.4% y para ello se utilizaron 460ml de agua destilada estéril y 40ml de Hipoclorito de sodio al 5%.

Preparación de Etanol al 70%

- Se prepararon 500ml de Etanol al 70% y para ello se utilizaron 388ml de etanol al 90% y 112ml de agua destilada estéril
- Se agitó hasta homogenizarse.

Limpieza y desinfección de la cámara de flujo laminar.

Se abrió completamente la cámara de flujo laminar, se limpió a totalidad con papel toalla humedecido con hipoclorito de sodio y con etanol dejándose actuar por 20 minutos.

Peso de bacterias inoculadas por litro de bebida fermentada

$$T1(10^6) = 49.4\text{mg}$$

$$T2(10^7) = 494.31\text{mg}$$

$$T3(10^8) = 4,943.1\text{mg}$$

3.7. Proceso de inoculación

- Se disolvió la cantidad correspondiente en mg por tratamiento de *Lactobacillus casei* en 1L de vino, se agitó hasta homogenizarse y se trasladaron 25ml de vino ya inoculado a un frasco de dilución que contenía 225ml de agua peptonada siendo este frasco la dilución 10^{-2} y se pasó 1ml a un tubo de ensayo de 10ml siendo este 10^{-3} .
- Se calentó el agar hasta volverlo líquido, se colocó en baño maría para mantenerlo a 45°C y se le adicionaron 2ml de anilina azul hasta tornar una coloración verde oscuro
- Se colocó 1ml de la dilución ya inoculada 10^{-2} y 1ml de la dilución 10^{-3} en placas Petri al cuadruplicado por cada dilución.
- Se colocó el agar en estado líquido en las placas utilizando la técnica (vertido en placa).
- Se colocó agar en 3 placas que no contenían muestra de vino siendo estas la testigo y una placa ambiente.
- Se esperó hasta que el agar se solidificara, se rotularon y se envolvieron las placas con papel aluminio en paquetes de 4 (por diluciones) y se guardaron en condiciones de anaerobiosis a 37°C durante 48 horas.
- Este proceso se realizó para cada uno de los tratamientos (10^6 , 10^7 y 10^8) que se definieron para evaluar.

3.7.1. Primer recuento de bacterias

- Después de 48 horas se extrajeron las placas Petri de la incubadora rompiendo así el sistema de anaerobiosis.
 - En el tratamiento 1 (10^6) se hizo un conteo general de cada una de las placas.
- Los resultados fueron:
 - P1. 23UFC
 - P2. 32UFC
 - P3. 31UFC
 - P4. 30UFC

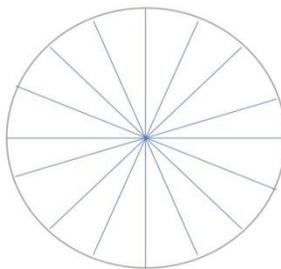


Figura 11 .Placa Petri dividida en 16 partes,

- Se procedió a contar la dieciseisava parte de cada placa y el resultado se multiplicó por 16 para obtener el número de UFC que crecieron por placa y los resultados fueron:

P1. 916UFC x 16= 14,656UFC

P2. 739UFC x 16= 11,824UFC

P3. 372UFC x 16= 5,952UFC

P4. 830UFC x 16= 13,280UFC

- Para el tratamiento 2 (10^7) se seccionó cada placa en 16 partes (Fig 11.)
- En el tercer tratamiento (10^8) no fue posible hacer un conteo debido a que el crecimiento en las placas fue demasiado numeroso, por lo tanto, se asume que su crecimiento por placa fue:

P1. 600,000,000UFC

P3. 600,000,000UFC

P2. 600,000,000UFC

P4. 600,000,000UFC

3.8. Proceso de segunda siembra de vino inoculado a los 8 días

Insumos microbiológicos:

Para la segunda siembra de vino inoculado en las placas Petri se utilizaron los siguientes insumos y los materiales y equipo que se ven reflejados en la tabla 8:

- Agar M.R.S
- Agua peptonada
- Agua destilada
- Anilina
- Etanol al 70%
- Hipoclorito de Sodio al 0.4%
- Bebida fermentada de mamey inoculada con *Lactobacillus casei*

Tabla 7. Materiales y equipo a utilizar en la segunda siembra

Instrumento o material	Cantidad	Instrumento o material	Cantidad
Balanza	1	Puntas	15
Termómetro	1	Probetas	5
Cámara de flujo laminar	1	Agitadores	2
Estufa	1	Placas Petri (20ml)	28
Autoclave	1	Tubos de ensayo	4
Erlenmeyer	4	Frascos formuladores	4
Beacker	6	Frasco de dilución	12
Gradillas	1	Vela	1
Incubadora	1	Papel aluminio	1
Baja lenguas	2	Papel toalla	1

Esterilización de materiales

- Se colocaron los instrumentos de cristal y de madera en una estufa y se llevó a 170°C durante 20 minutos.
- Se colocaron los tubos y el frasco formulador que contenían vino de mamey en el autoclave hasta quedar completamente estéril.

Preparación de agar MRS

- De acuerdo a las instrucciones del envase 49g de agar MRS (De Man, Rogosa y Sharpe) se disolvieron con agua destilada y se aforó a 700ml , se homogeneizó la mezcla calentándola.

Preparación de agua peptonada

- Se disolvieron 15g de agua peptonada en 1 Litro de agua destilada
- Se calentó el agua destilada para homogenizar la dilución y se midió en una probeta.
- Se midieron 675ml de agua peptonada y se trasladó en partes iguales a 3 frascos medidores teniendo 225ml cada uno.

- Se midieron los 9ml de agua peptonada para cada tubo (36ml).

Preparación de Hipoclorito de sodio al 0.4%

- Se prepararon 500ml de Hipoclorito de sodio al 0.4% y para ello se utilizaron 460ml de agua destilada estéril y 40ml de Hipoclorito de sodio al 5%.

Preparación de Etanol al 70%

- Se prepararon 500ml de Etanol al 70% y para ello se utilizaron 388ml de etanol al 90% y 112ml de agua destilada estéril
- Se agitó hasta homogenizarse.

Limpieza y desinfección de la cámara de flujo laminar

Se abrió completamente la cámara de flujo laminar, se limpió a totalidad con papel toalla humedecido con hipoclorito de sodio y con etanol dejándose actuar por 20 minutos.

Proceso de cultivo bacteriano en placas

- Se trasladaron 25ml de vino ya inoculado a un frasco de dilución que contenía 225ml de agua peptonada siendo este frasco la dilución 10^{-2} y se pasó 1ml a un tubo de ensayo de 10ml siendo este 10^{-3} .
- Se calentó el agar hasta volverlo líquido, se colocó en baño maría para mantenerlo a 45°C y se le adicionaron 2ml de anilina azul hasta tornar una coloración verde oscuro
- Se colocó 1ml de la dilución ya inoculada 10^{-2} y 1ml de la dilución 10^{-3} en placas Petri al cuadruplicado por cada dilución.
- Se colocó el agar en estado líquido en las placas utilizando la técnica (vertido en placa).
- Se colocó Agar en 3 placas que no contenían muestra de vino siendo estas las testigo y una placa ambiente.

- Se esperó hasta que el agar se solidificara, se rotularon y se envolvieron las placas con papel aluminio en paquetes de 4 (por diluciones) y se guardaron en condiciones de anaerobiosis a 37°C durante 48 horas.
- Este proceso se realizó para cada uno de los tratamientos.

3.9. Segundo recuento de bacterias

- Después de 48 horas se extrajeron las placas petri de la incubadora rompiendo así el sistema de anaerobiosis.
- Ninguna de las placas sembradas con los diferentes tratamientos presentó crecimiento por lo tanto no hubo conteo y se procedió a hacer una comprobación para tener certeza al 100% que la bacteria estaba muerta en su totalidad.

Muestras y repeticiones

- Se establecieron 4 repeticiones por muestra incluyendo el testigo evaluando la presencia de probióticos en 2 intervalos de tiempo (Tabla 9.).

Tabla 8. Tratamientos y repeticiones

Repeticiones	Muestra	Repeticiones	Muestra
I	1(10 ⁶)	I	3(10 ⁸)
II	1(10 ⁶)	II	3(10 ⁸)
III	1(10 ⁶)	III	3(10 ⁸)
IV	1(10 ⁶)	IV	3(10 ⁸)
I	2(10 ⁷)	I	TESTIGO
II	2(10 ⁷)	II	TESTIGO
III	2(10 ⁷)	III	TESTIGO
IV	2(10 ⁷)	IV	TESTIGO

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

4.1. Resultado de la estandarización para elaborar una bebida fermentada a base de mamey

La elaboración de la bebida fermentada se efectuó con una formulación estandarizada en un tiempo aproximado de 25 días. El procesamiento del vino se llevó a cabo en el laboratorio de análisis bromatológico en la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, manejando un rango de temperatura entre 22 +/- 2 °C y humedad relativa 45 +/-5%.

Resultado y Discusión de resultados de elaboración de la bebida fermentada

Se obtuvo un solo lote de la bebida fermentada de 10 litros con tonalidad marrón, característica de un vino joven con olor a fruta de mamey de sabor y aroma agradable. La bebida fermentada obtenida se dividió por litro en cada uno de los tratamientos codificados (X10⁶T1, X10⁷T2, X10⁸T3).

4.2. Resultados de análisis fisicoquímicos para bebida fermentada de mamey

4.2.1. Determinación de Ph

La determinación de pH se efectuó en el laboratorio de análisis bromatológico de la Universidad de El Salvador, con la ayuda del potenciómetro METHORHM (632 pH Meter). La determinación de Ph (Tabla 10.), se efectuó tanto para el vino inoculado con las bacterias probiótica *Lactobacillus casei* y sin inocular.

Tabla 9. Resultados de pH

Valor de pH vino sin inocular		3.01		
Valor de pH (promedio) vino inoculado				
Tratamientos	X10 ⁶ T1	X10 ⁷ T2	X10 ⁸ T3	
Semana 1 (48 hrs)	3.18	3.20	3.67	
Semana 2 (8 días)	3.20	3.25	3.67	

Valor de pH (promedio) vino inoculado

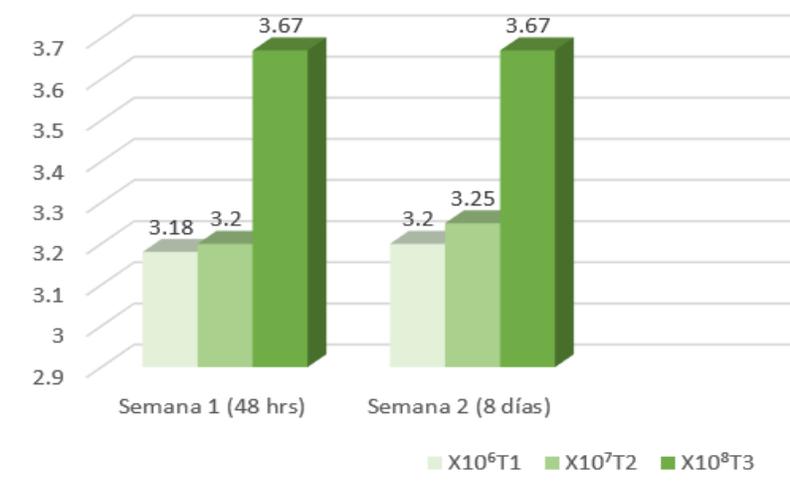


Figura 12. Valor de pH (promedio) vino inoculado

El resultado del pH de la bebida fermentada sin inocular fue 3.01. Este dato es general para el lote inicial elaborado y cumple los valores establecidos en la NMX-V-012-1986 para bebidas fermentadas.

En base a los resultados obtenidos del pH de la bebida fermentada ya inoculada, se observa que en la semana 1 y 2 el aumento del pH (más alcalino) es directamente proporcional a la cantidad de probióticos y también cumplen con los valores establecidos en la norma.

El pH de la bebida fermentada sin inocular comparado con el pH de la bebida inoculada en ambas semanas fue inferior a los promedios obtenidos; lo cual indica que el valor de pH es directamente proporcional a las concentraciones de *Lactobacillus casei*. No incidiendo en la calidad de la bebida fermentada.

El comportamiento del pH en la segunda semana después de inoculado fue bastante similar a la primera semana presentando mínimas variaciones.

4.2.2. Determinación de acidez titulable

La acidez titulable, se efectuó empleando una valoración ácido base. En la tabla 11, se presentan los valores obtenidos de acidez titulable, para la bebida fermentada a base de mamey sin inocular e inoculado:

Tabla 10. Resultados de acidez titulable

Valor de Acidez titulable vino sin inocular		4.50		
Valor de Acidez titulable (promedio) vino inoculado				
Tratamientos	X10 ⁶ T1	X10 ⁷ T2	X10 ⁸ T3	
Semana 1 (48 hrs)	5.03	4.41	5.03	
Semana 2 (8 días)	4.79	4.35	4.92	

Nota: valor promedio.

Valor de Acidez titulable (promedio) vino inoculado

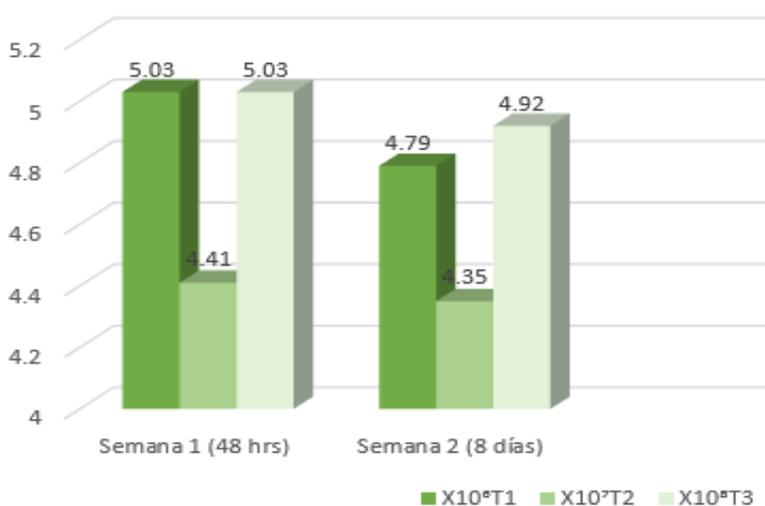


Figura 13. Valor de acidez titulable (promedio) vino inoculado

El resultado de la acidez titulable de la bebida fermentada sin inocular fue 4.50g/l. Este dato es general para el lote inicial elaborado y cumple los valores establecidos en la NMX-V-012-1986 para bebidas fermentadas.

En base a los resultados obtenidos de la acidez titulable en la bebida fermentada ya inoculada, como se observa en la figura 13.

La segunda semana la acidez descendió en los 3 tratamientos, comparado con la semana 1 pero manteniéndose siempre mayor al dato de la bebida sin inocular.

El dato de la acidez titulable de la bebida fermentada sin inocular comparado con la bebida fermentada inoculada fue inferior a los promedios obtenidos; lo cual indica que la acidez titulable aumentó con la presencia de *L. casei* no incidiendo en la calidad de la bebida fermentada.

Para la determinación de la acidez titulable para la bebida fermentada de mamey se utilizaron diferentes reactivos (Tabla 12.).

Tabla 11. Reactivos utilizados para el análisis de acidez titulable

Reactivo	Cantidad
Fenolftaleína (indicador)	0.5ml (2 gotas)
Muestra de bebida fermentada de mamey	3.13ml
Hidróxido de Sodio	2.06ml
Agua destilada	25ml

Interpretación de datos para el cálculo para acidez titulable

El resultado de la acidez titulable fue la siguiente:

$$\text{Gramos de ácido Tartárico/100 mL de vino} = \frac{2.0667 \times 0.909 \text{N} \times 0.075}{3.13} \times 100$$

$$\text{Gramos de ácido Tartárico/L de vino} = 4.50 \text{ g/L}$$

100 es factor de conversión para expresar el resultado en g/L.

4.2.3. Determinación de grados Brix

La determinación de grados brix, se efectuó en el laboratorio de análisis bromatológico de La facultad de Química y Farmacia de La Universidad de El Salvador, utilizando el refractómetro VEGGE ELM-46/07. En la tabla 13, se detallan los resultados:

Tabla 12. Resultados obtenidos de grados Brix

Valor de Brix vino sin inocular		9.00		
Valor de Brix (promedio) vino inoculado				
Tratamientos	X10 ⁶ T1	X10 ⁷ T2	X10 ⁸ T3	
Semana 1 (48 hrs)	8.07	8.16	8.21	
Semana 2 (8 días)	8.00	8.03	8.20	

Valor de Brix (promedio) vino inoculado

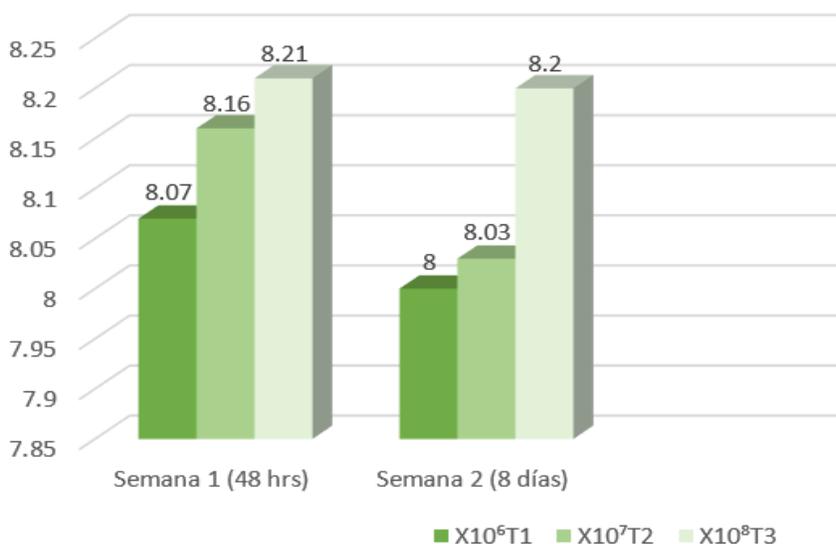


Figura 14. Valor de Brix (promedio) vino inoculado

El resultado de grados Brix de la bebida fermentada sin inocular fue 9.73. Este dato es general para el lote inicial elaborado y cumple los valores establecidos en la NMX-V-012-1986 para bebidas fermentadas.

En base a los resultados obtenidos de grados brix de la bebida fermentada ya inoculada, se observa que no hubo cambios relevantes.

El Brix de la bebida fermentada sin inocular comparado con el de la bebida inoculada fue superior pero no de forma significativa con respecto a los promedios obtenidos; lo cual indica que el valor de grados brix disminuye con la presencia de *Lactobacillus casei*. No incidiendo en la calidad de la bebida fermentada.

4.2.4. Determinación de grado alcohólico

La determinación de grado alcohólico se efectuó en el laboratorio de análisis Bromatológico de La Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, utilizando un destilador fraccionado y posteriormente obteniendo valores de peso específico, consultados en el apéndice C de la AOAC. A continuación, en la tabla 14 se detallan los valores de grado alcohólico obtenidos.

Tabla 13. Resultados de grado alcohólico

Valor de Grado Alcohólico vino sin inocular		8.33		
Valor de Grado alcohólico (promedio) vino inoculado				
Tratamientos	X10 ⁶ T1	X10 ⁷ T2	X10 ⁸ T3	
Semana 1 (48 hrs)	10.07	8.60	8.13	
Semana 2 (8 días)	10.90	8.53	8.03	

Valor de Grado alcohólico (promedio) vino inoculado

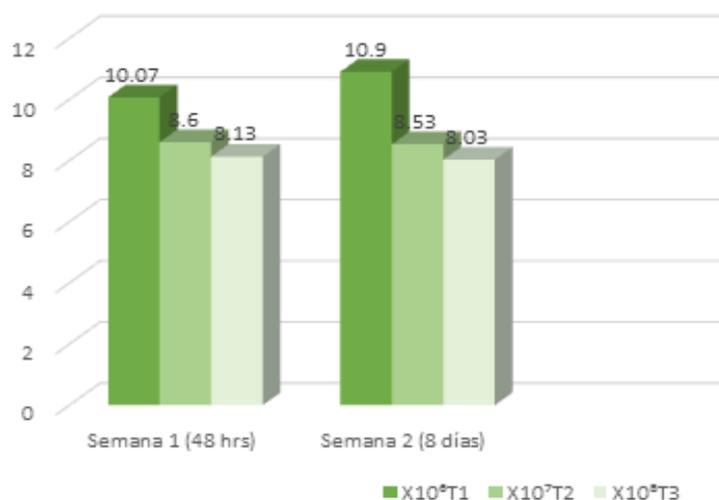


Figura 15. Valor de grado alcohólico (promedio) vino inoculado

El resultado de grado alcohólico de la bebida fermentada sin inocular fue 11.00. Este dato es general para el lote inicial elaborado y cumple los valores establecidos en la NMX-V-012-1986 para bebidas fermentadas.

En base a los resultados obtenidos de grado alcohólico de la bebida fermentada ya inoculada, se observa que hubo una disminución a medida aumentaban las concentraciones de bacterias.

El grado alcohólico de la bebida fermentada inoculada comparado con el de la bebida sin inocular fue superior en el T1 y T2 de ambas semanas; lo cual indica que el grado alcohólico disminuye con la presencia de *Lactobacillus casei* L. siendo el T3 el único que refleja disminución en su grado alcohólico al tener la mayor concentración de probióticos.

Relación de resultados entre parámetros físico-químicos

La acidez titulable y el pH son formas de determinar la existencia de soluciones que contengan ácidos orgánicos. En los cuadros anteriores se observa que ambos datos tienen la misma tendencia a aumentar su valor inicial para la bebida fermentada sin inocular con respecto a su valor con la bebida inoculada.

El alcohol es producido por la fermentación de azúcares los que hace que el brix y el alcohol tengan una relación directa. En los cuadros anteriores se observa que ambos reflejan una tendencia a disminuir con la presencia de *L. casei*.

4.3. Resultados de presencia de *Lactobacillus casei*. En bebida fermentada a base de mamey

Con base a las concentraciones de *L. casei* determinadas, se realizó la inoculación en la bebida fermentada para los diferentes tratamientos T1, T2, T3 y su testigo.

Para la determinación de la presencia de probiótico se tomó 1ml de bebida fermentada inoculada por tratamiento y se colocó en placas Petri para su recuento en el día 2 (Reflejo del crecimiento del día 0) y el día 10 (Reflejo del crecimiento del día 8). Dichos resultados se muestran en la tabla 15.

Tabla 14. Resultados de recuento de probiótico.

Repeticiones	Tratamiento	Cantidad de bacterias (UFC) el día 2(reflejo del crecimiento del día 0)	Cantidad de bacterias (UFC) el día 10(Reflejo del crecimiento del día 8)
I	1(10 ⁶)	23	0.00
II	1(10 ⁶)	32	0.00
III	1(10 ⁶)	31	0.00
IV	1(10 ⁶)	30	0.00
I	2(10 ⁷)	14,656	0.00
II	2(10 ⁷)	11,824	0.00
III	2(10 ⁷)	5,952	0.00
IV	2(10 ⁷)	13,280	0.00
I	3(10 ⁸)	600,000,000	0.00
II	3(10 ⁸)	600,000,000	0.00
III	3(10 ⁸)	600,000,000	0.00
IV	3(10 ⁸)	600,000,000	0.00
I	TESTIGO	0.00	0.00
II	TESTIGO	0.00	0.00
III	TESTIGO	0.00	0.00
IV	TESTIGO	0.00	0.00
	AGAR	0.00	0.00
	AMBIENTE	0.00	0.00



Figura 16. Resultados de recuento de probiótico

En la tabla 15 se observan los valores obtenidos a los 2 días (Reflejo de crecimiento bacteriano del día 0) en las diferentes concentraciones de los tratamientos, donde se muestra un crecimiento exponencial entre tratamientos.

La presencia de probióticos en la bebida fermentada a los 10 días (Reflejo de crecimiento del día 8) de su inoculación fue nula en todos los tratamientos al hacer recuento en placa.

El testigo (bebida sin inocular) no presentó crecimiento en ningún momento, lo cual ayudó a comparar el estado físico de las placas; especialmente en las que no presentaron crecimiento a los 8 días de la inoculación de la bebida fermentada.

Para garantizar la inocuidad del ambiente se mantuvo expuesta una placa solamente con medio de cultivo que evidenció las buenas prácticas en el proceso al no presentar ningún tipo de crecimiento de microorganismos externos.

Para garantizar la inocuidad del medio de cultivo se mantuvo una placa cerrada sin inocular que evidenció las buenas prácticas en su procedimiento de preparación al no presentar ningún tipo de crecimiento de microorganismos.

- Para todos los tratamientos y repeticiones se evidencia que el día de su inoculación existe presencia de probióticos, mostrando un cambio en el recuento en placa del día 10 que refleja ausencia de probióticos. Esto significa que las bacterias murieron entre el día 1 y el día 8 después de su inoculación en la bebida fermentada, deduciendo que su valor promedio de supervivencia estaría contemplado en 3.5 días.

4.4. Análisis de causa del no crecimiento de *Lactobacillus casei* 431, tanto en muestras elaboradas a nivel de laboratorio y muestras comerciales

Se recurrió a la fuente bibliográfica de análisis, empleando la metodología de las 5M, para determinar el factor determinante de la no supervivencia del probiótico en la matriz.

- **Método:** Se considera que el método es el adecuado, ya que la metodología tradicional (AOAC), usando Agar Man Rogosa Sharper (MRS); están validados para el crecimiento y recuento de bacterias ácido lácticas.
-
- **Medio ambiente:** Descartamos que haya habido algún tipo de contaminación ya que el procedimiento se realizó en condiciones adecuadas de temperatura y en condiciones asépticas durante el desarrollo de la bebida fermentada dentro del laboratorio.
-
- **Analista:** El trabajo de los analistas es adecuada; ya que se realizó el procedimiento según la técnica con tiempos estipulados y en base a normas con la supervisión del docente asesor.
-
- **Materia prima:** Se descarta que el mamey sea un factor de causa, ya que no se han encontrado suficientes estudios que respalden la muerte de las bacterias.
-
- **Materiales:** El tipo de material utilizado en la parte fisicoquímica y microbiológica fueron los adecuados para realizar el procedimiento.

Matriz alimentaria: Según J. M. Mesas & M. T. Alegre hay especies de bacterias lácticas capaces de desarrollarse en la bebida fermentada a pesar de ser un medio inhóspito dado su contenido en alcohol y su bajo pH. Sin embargo, El *Lactobacillus casei* que se utilizó en el experimento no resistió las condiciones inhóspitas de dicha matriz alimentaria, a diferencia de la utilizada en la referencia.

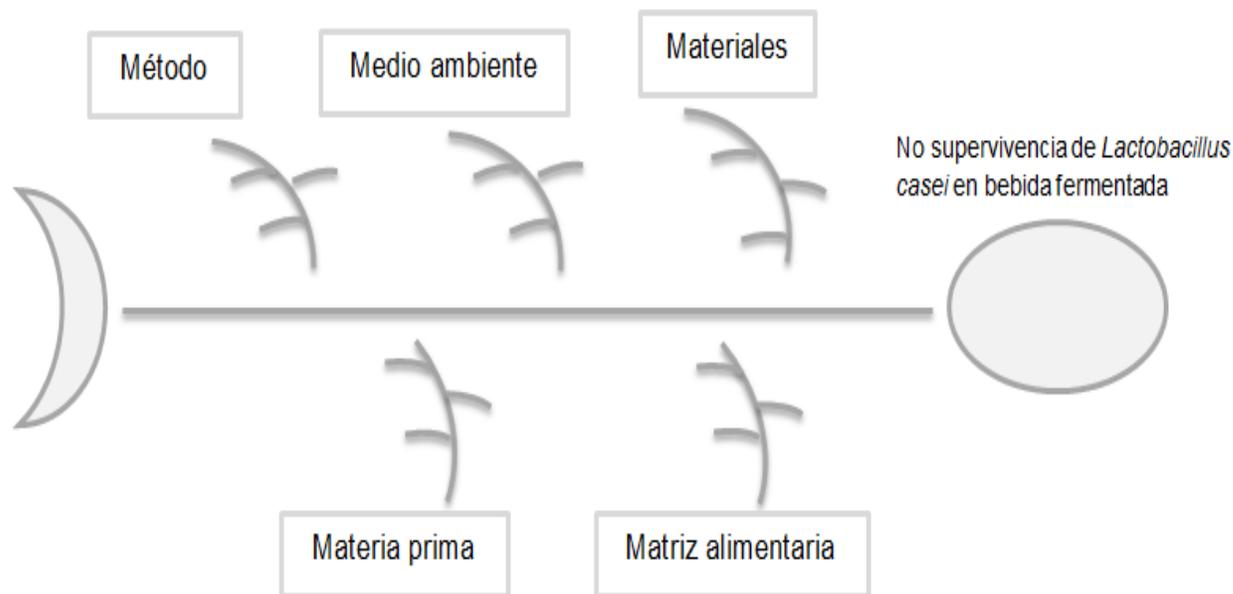


Figura 17. Diagrama de Ishikawa

4.5. Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de acidez titulable de Vino inoculado (3 días)

Hipótesis nula: la igualdad de las medias en los valores de los resultados obtenidos de acidez titulable, en los tres tratamientos estudio, no presentan diferencia significativa.

Hipótesis alterna: Las medias en los valores de los resultados obtenidos de acidez titulable en los tres tratamientos presentan diferencia significativa.

Nivel de confianza: 95 Alfa: 0.05 (5%)

Tabla 15 .Resultados ANOVA de acidez titulable

F de V	SC	GL	CM	FC	P valor
Tratamientos	0.597	2	0.299	5.218	0.05
Error	0.343	6	0.057		
Total		9			

F de V: Origen de las variaciones

SC: Sumas de los cuadrados

GL: Grados de libertad

CM: Promedio de los cuadrados

FC: Factor de corrección

P valor: Nivel de significancia

El valor de P es igual a 0.05, dado este valor no existe diferencia significativa entre los tratamientos.

4.5.1. Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de grados Brix de Vino inoculado (3 días)

Hipótesis nula: la igualdad de las medias en los valores de los resultados obtenidos de grados Brix, en los tres tratamientos en estudio, no presentan diferencia significativa.

Hipótesis alterna: Las medias en los valores de los resultados obtenidos de grados Brix en los tres tratamientos presentan diferencia significativa.

Nivel de confianza: 95%

Alfa: 0.05 (5%)

Tabla 16 Resultados ANOVA de Grados Brix

F de V	SC	GL	CM	FC	P valor
Tratamientos	0.31	2	0.016	2.409	0.171
Error	0.39	6	0.006		
Total		9			

F de V: Origen de las variaciones

CM: Promedio de los cuadrados

SC: Sumas de los cuadrados

FC: Factor de corrección

GL: Grados de libertad

P valor: Nivel de significancia

El valor de P es mayor a 0.05, por lo que se acepta la hipótesis nula, aceptando entonces que no existe una diferencia significativa entre los resultados obtenidos ya que los datos fueron muy similares independientemente de la fecha en que se realizaron los análisis.

4.5.2. Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de pH en Vino inoculado (3 días)

Hipótesis nula: la igualdad de las medias en los valores de los resultados obtenidos de grados Brix, en los tres tratamientos en estudio, no presentan diferencia significativa.

Hipótesis alterna: Las medias en los valores de los resultados obtenidos de grados Brix en los tres tratamientos presentan diferencia significativa.

Nivel de confianza: 95%

Alfa: 0.05 (5%)

El valor de P es menor a 0.05, por lo que se acepta la hipótesis alterna, aceptando entonces que, si existe una diferencia significativa entre los resultados obtenidos, por lo cual se realizó el análisis estadístico Tukey para identificar que tratamiento es mejor estadísticamente.

Tabla 17 Resultados ANOVA de pH

F de V	SC	GL	CM	FC	P valor
Tratamientos	0.461	2	0.231	266.192	0.000
Error	0.005	6	0.001		
Total		9			

F de V: Origen de las variaciones

CM: Promedio de los cuadrados

SC: Sumas de los cuadrados

FC: Factor de corrección

GL: Grados de libertad

P valor: Nivel de significancia

Tabla 18. Resultados TUKEY de Ph

Tratamientos	Promedio
Tratamiento 3	3.67 ^a
Tratamiento 2	3.20 ^b
Tratamiento 1	3.18 ^b

Se observa también a través de la prueba Tukey, las diferencias existentes en los tratamientos. Partiendo que estadísticamente hablando el mejor tratamiento es el 3 representado por a (tiene mayor diferencia significativa), seguido del tratamiento 2 representado por b y luego tratamiento 1 representado por letra c.

4.5.3. Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de alcohol en Vino inoculado (3 días)

Hipótesis nula: la igualdad de las medias en los valores de los resultados obtenidos de grados Brix, en los tres tratamientos en estudio, no presentan diferencia significativa.

Hipótesis alterna: Las medias en los valores de los resultados obtenidos de grados Brix en los tres tratamientos presentan diferencia significativa.

Nivel de confianza: 95%

Alfa: 0.05 (5%)

Tabla 19. Resultados ANOVA de Grados Alcohólicos

F de V	SC	GL	CM	FC	P valor
Tratamientos	14.196	2	7.098	12.501	0.007
Error	3.407	6	0.568		
Total		9			

F de V: Origen de las variaciones

CM: Promedio de los cuadrados

SC: Sumas de los cuadrados

FC: Factor de corrección

GL: Grados de libertad

P valor: Nivel de significancia

Tabla 20. Resultados TUKEY de Grados Alcohólicos

Tratamientos	Promedio
Tratamiento 1	11.00 ^a
Tratamiento 2	8.60 ^b
Tratamiento 3	8.13 ^b

El valor de P es menor a 0.05, por lo que se acepta la hipótesis alterna, aceptando entonces que, si existe una diferencia significativa entre los resultados obtenidos, por lo cual se realizó el análisis estadístico Tukey para identificar que tratamiento es mejor estadísticamente.

Se observa también a través de la prueba Tukey, las diferencias existentes en los tratamientos. Partiendo que estadísticamente hablando el mejor tratamiento es el 1 representado por a (tiene mayor diferencia significativa), seguido del tratamiento 2 representado por b y luego tratamiento 3 representado por letra c.

4.5.4. Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de acidez titulable de Vino inoculado (8 días)

Hipótesis nula: la igualdad de las medias en los valores de los resultados obtenidos de acidez titulable, en los tres tratamientos estudio, no presentan diferencia significativa.

Hipótesis alterna: Las medias en los valores de los resultados obtenidos de acidez titulable en los tres tratamientos presentan diferencia significativa.

Nivel de confianza: 95%

Alfa: 0.05 (5%)

Tabla 21. Resultados ANOVA de acidez titulable

F de V	SC	GL	CM	FC	P valor
Tratamientos	2.65	2	1.32	1.75	0.25
Error	4.52	6	0.75		
Total		9			

F de V: Origen de las variaciones

CM: Promedio de los cuadrados

SC: Sumas de los cuadrados

FC: Factor de corrección

GL: Grados de libertad

P valor: Nivel de significancia

El valor de P es mayor a 0.05, por lo que se acepta la hipótesis nula, aceptando entonces que no existe una diferencia significativa entre los resultados obtenidos de los valores de acidez titulable obtenidos de los tratamientos en estudios.

4.5.5. Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de grados Brix de Vino inoculado (8 días)

Hipótesis nula: la igualdad de las medias en los valores de los resultados obtenidos de grados Brix, en los tres tratamientos en estudio, no presentan diferencia significativa.

Hipótesis alterna: Las medias en los valores de los resultados obtenidos de grados Brix en los tres tratamientos presentan diferencia significativa.

Nivel de confianza: 95%

Alfa: 0.05 (5%)

Tabla 22. Resultados ANOVA de grados Brix

F de V	SC	GL	CM	FC	P valor
Tratamientos	0.06	2	0.03	31.00	0.001
Error	0.00	6	0.00		
Total		9			

F de V: Origen de las variaciones

CM: Promedio de los cuadrados

SC: Sumas de los cuadrados

FC: Factor de corrección

GL: Grados de libertad

P valor: Nivel de significancia

Tabla 23. Resultados TUKEY de Grados Brix

Tratamientos	Promedio
Tratamiento 3	8.20 ^a
Tratamiento 2	8.03 ^b
Tratamiento 1	8.00 ^b

El valor de *P* es menor a 0.05, por lo que se acepta la hipótesis alterna, aceptando entonces que si existe una diferencia significativa entre los resultados obtenidos por lo cual se realizó el análisis estadístico Tukey para identificar que tratamiento es mejor estadísticamente.

Se observa también a través de la prueba Tukey, las diferencias existentes en los tratamientos. Partiendo que estadísticamente hablando el mejor tratamiento es el 3 representado por a (tiene

mayor diferencia significativa), seguido del tratamiento 2 representado por b y luego tratamiento 1 representado por letra c. Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de pH en Vino inoculado (8 días)

Hipótesis nula: la igualdad de las medias en los valores de los resultados obtenidos de grados Brix, en los tres tratamientos en estudio, no presentan diferencia significativa.

Hipótesis alterna: Las medias en los valores de los resultados obtenidos de grados Brix en los tres tratamientos presentan diferencia significativa.

Nivel de confianza: 95%

Alfa: 0.05 (5%)

Tabla 24. Resultados ANOVA de pH

F de V	SC	GL	CM	FC	P valor
Tratamientos	0.40	2	0.20	856.71	0.00
Error	0.001	6	0.00		
Total		9			

F de V: Origen de las variaciones

CM: Promedio de los cuadrados

SC: Sumas de los cuadrados

FC: Factor de corrección

GL: Grados de libertad

P valor: Nivel de significancia

Tabla 25. Resultados TUKEY de pH

Tratamientos	Promedio
Tratamiento 3	3.67 ^a
Tratamiento 2	3.25 ^b
Tratamiento 1	3.20 ^c

El valor de *P* es menor a 0.05, esto indica que existe diferencia significativa entre los tratamientos por lo cual se realizó el análisis estadístico Tukey para identificar que tratamiento es mejor estadísticamente.

Se observa también a través de la prueba Tukey, las diferencias existentes en los tratamientos. Partiendo que estadísticamente el mejor tratamiento es el 3 representado por la letra, ha seguido del tratamiento 2 representado por la letra, b y luego tratamiento 1 representado por letra, c.

4.5.6. Análisis estadístico de análisis de varianza de un factor (ANOVA), de alcohol en Vino inoculado (8 días)

Hipótesis nula: la igualdad de las medias en los valores de los resultados obtenidos de grados Brix, en los tres tratamientos en estudio, no presentan diferencia significativa.

Hipótesis alterna: Las medias en los valores de los resultados obtenidos de grados Brix en los tres tratamientos presentan diferencia significativa.

Nivel de confianza: 95%

Alfa: 0.05 (5%)

Tabla 26. Resultados ANOVA de grado alcohólico

F de V	SC	GL	CM	FC	P valor
Tratamientos	14.06	2	7.03	9.26	0.01
Error	4.55	6	0.75		
Total		9			

F de V: Origen de las variaciones

CM: Promedio de los cuadrados

SC: Sumas de los cuadrados

FC: Factor de corrección

GL: Grados de libertad

P valor: Nivel de significancia

El valor de P es menor a 0.05, esto indica que existe diferencia significativa entre los tratamientos por lo cual se realizó el análisis estadístico Tukey para identificar que tratamiento es mejor estadísticamente.

Según la tabla 31. Se puede observar que los resultados aplicando la prueba de Tukey el mejor tratamiento es el 1 representado por la letra, seguido del tratamiento 2 y 3 que estadísticamente son iguales, representados por la letra, b.

Tabla 27. Resultados TUKEY de grado alcohólico

Tratamientos	Promedio
Tratamiento 1	10.90 ^a
Tratamiento 2	8.53 ^b
Tratamiento 3	8.03 ^b

5. CONCLUSIONES

1. La bebida fermentada a base de mamey cumplió con los estándares de calidad según NMX-V-012-1986.
2. El *Lactobacillus casei* que se inoculó estará presente en la Bebida Fermentada de Mamey pero no en los tiempos requeridos.
3. Se presume que una posible causa de la muerte del probiótico (*Lactobacillus casei*) en esta investigación se debió a que se utilizó una cepa diferente a la que estudió García Ruiz en su experimento.
4. Los parámetros fisicoquímicos en la bebida fermentada presentaron cambios con la adición de probióticos, definiendo como mejor tratamiento el T3 dado que estadísticamente presenta mejores resultados en tres variables (Acidez total, pH y Birx) de las cuatro analizadas.
5. Debido a que la bacteria no sobrevivió en la matriz, no fue posible realizarle análisis sensorial a la bebida inoculada.

6. RECOMENDACIONES

1. Corroborar siempre que la bebida fermentada cumpla con los parámetros de calidad establecidos según la norma NMX-V-012-1986 de origen mexicano; Destacamos que su uso es válido ya que en El Salvador no existe una norma para tomarla de referencia.
2. Utilizar la concentración 10^8 (4,943.1mg) de probióticos, ya que se obtuvo un crecimiento promedio de 600, 000,000 UFC, siendo este el que presentó mayor crecimiento bacteriano.
3. Experimentar en futuras investigaciones la resistencia de otras bacterias probióticas en bebidas fermentadas ya que queda demostrado que la cepa probiótica liofilizada *Lactobacillus casei 431*. no cumple especificaciones necesarias para incorporarla en dicha matriz.
4. Estadísticamente según Tukey el tratamiento recomendado es el T3 (10^8) dado que estadísticamente presenta mejores resultados en tres variables (Acidez total, pH y Birx) de las cuatro analizadas.
5. Se recomienda realizar una investigación de la microbiota del mamey o de la materia prima que se desee utilizar.

7. BIBLIOGRAFÍA

- Aguilar, S.G.; s.f. Técnicas y métodos de aislamiento y selección de microorganismos. (en línea). Consultado 18 Ene 2018. Disponible en: <https://conalepfelixtovar.wordpress.com/2012/09/26/tecnicas-y-metodos-de-aislamiento-y-seleccion-de-microorganismos/>
- Aguilera Orellana, J.R, Molina Guzmán, J.M.A. 2011. Estudio sobre el valor nutricional de bebidas alcohólicas tradicionales. (en línea). Consultado 18 Feb 2018. Disponible en: <http://webquery.ujmd.edu.sv/siab/bvirtual/BIBLIOTECA%20VIRTUAL/TESIS/04/IAL/ADT/ESAE0001260.pdf>
- Alvarado Panameño, J.F.; López Cáceres, F.E.; Escolán Jovel, N.A.; 1994. Evaluación de extractos etanólicos y acuoso, de semilla de mamey (*Mammea americana*), para el control de garrapatas en bovino. (en línea). Consultado el 24 Jul 2017. Disponible en <http://ri.ues.edu.sv/13904/1/13100096.pdf>
- Andrellucchi Ortiz, A.; 2008. Estudio de Intervención Nutricional con leche fermentada con *Lactobacillus Casei* durante el puerperio. (en línea). Universidad de las palmas de Gran Canaria. Consultado 25 Jun 2017. Disponible en: https://acceda.ulpgc.es:8443/bitstream/10553/3359/1/TESIS_ORTIZ%20ADRIANA.pdf.
- Técnicas y métodos de aislamiento, 2012. Técnicas y métodos de aislamiento y selección de microorganismos. (en línea). Consultado 25 Jul 2017. Disponible en: <https://conalepfelixtovar.wordpress.com/2012/09/26/tecnicas-y-metodos-de-aislamiento-y-seleccion-de-microorganismos/>
- Arana I., Orruño M., Barcina I., s. f. Como abordar y resolver aspectos prácticos de microbiología. (en línea). Consultado 08 Jun 2017. Disponible en: <https://www.google.com.sv/url?sa>
- Aranceta J., Serra L., s. f. Guía de Alimentos Funcionales. (en línea) Consultado: 02 Feb 2018. Disponible en: http://www.fesnad.org/resources/files/Publicaciones/guia_alimentos_funcionales.pdf

- Armendariz C., Bolaños E., (2012). Desarrollo de una bebida fermentada saborizada de soya. (en línea). Ingeniería en Alimentos. Universidad San Francisco de Quito. Quito, Ecuador. Consultado 20 Feb 2018. Disponible en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/3858>
- Azofra García B. 2014. Microbiología residual en vino tinto. (en línea). Consultado 30 Ene 2017. Disponible en: https://biblioteca.unirioja.es/tfe_e/R000001912.pdf
- Barceló J.G. 1990. Técnicas analíticas para vinos. (en línea) Consultado 10 May 2017. Disponible en: <http://shop.gabsystem.com/data/descargas/Taules%20I-XV.pdf>
- Belli, G. 2016. El prensado de la uva. (en línea). OZEOENO Enología viva. Consultado 24 Ene 2018. Disponible en: <https://www.az3oenoenologia.com/el-prensado-de-la-uva/>
- Buendía, R.P. 2012. Historia del cultivo de la vid y el vino; su expresión en la biblia. (En línea). Revista de la Facultad de Educación de Albacete. Consultado 21 Mar 2017. Disponible en <http://www.itda.es/articulos/71.pdf>.
- Caicedo Atencia, K.M. & López Quesquén A.M.; 2016. Estimación del tiempo de vida útil del mamey (*mammea americana* L.) en tajados envasados en film de polietileno de alta densidad (pead).(en línea). Consultado 26 Ago 2017. Disponible en: <http://renati.sunedu.gob.pe/handle/sunedu/143865>
- Campbell, R.; 2004. Potencial de las frutas tropicales en América. (en línea). Consultado 18 Ene 2018. Disponible en <http://repiica.iica.int/docs/B0607e/B0607e.pdf>
- Cedeño Luzardo, EM; Viteri Herrera, KV. 2009. Estudio del comportamiento de la pulpa congelada y del aceite de semillas obtenido de dos variables diferentes de mamey (en línea). Consultado 11 Mar 2017. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/8848/1/Estudio%20del%20Comportamiento%20de%20la%20pulpa%20congelada%20y%20del%20aceite%20de%20semillas.pdf>

- Conde V.R., López V.R. 2014. Temas selectos de Biología. (en línea). Consultado 18 Feb 2018. Disponible en: <https://books.google.com.sv/books?id=mJ6EBgAAQBAJ&pg=PA170&dq=ciencia+que+estudia+la+Biotecnologia&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjm8T90bLZAhVKoFMKHXTnCPiQ6AEIJjAA#v=onepage&q=ciencia%20que%20estudia%20la%20Biotecnologia&f=true>
- Corrial Jara R.V., 2014. A ciencia cierta. (en línea) Consultado: 30/01/2017. Disponible en: <http://www.veterinaria-agronomia-udla.cl/portales/tp290d66e66p22/uploadImg/File/MUNDOAGRO-8-57-ANu00C1LISIS-QCOS.pdf>
- FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). Y OMS (Organización Mundial de la Salud) ,2006. Probióticos en los alimentos Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. (en línea). Consultado 10 May 2017. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-a0512s.pdf>
- Fenavin. 2007. La importancia de las propiedades y beneficios del vino en la salud, a debate en la feria nacional del vino. (en línea) Consultado 01 Feb 2019, disponible en: <http://wwwold.dipucr.es/viewnews&cat=54&id=939&texto=1>
- Filippi, A.G. 2008. Historia del vino. (en línea). Revista "El mundo del vino". Consultado 21 Mar 2017. Disponible en <http://todoelmundodelvino.blogspot.com/2008/08/historia-del-vino.html>
- Ford A., Dahl J.W., 2012. Alimentos Funcionales. (en línea). Consultado 18 Feb 2018. Disponible en: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdf/FS/FS21300.pdf>
- Gámez, J.H.; Yama C.F.; Tulcan, C A.; 2014. Determinación de parámetros cinéticos de *Lactobacillus casei* en dos medios probióticos. (en línea). Consultado 20 may 2017. Disponible en: <http://vetzootec.ucaldas.edu.co/downloads/v8n2a02.pdf>
- García Carrión, J. 2015. Qué es la fermentación alcohólica. (en línea). Consultado, 20 Mar 2017. Disponible en: <http://www.garciacarrion.es/es/vinos-garcia-carrion/pregunta-al-enologo/que-es-la-fermentacion-alcoholica>

- García Juárez, L.I. 2010. Una bebida fermentada en México. (en línea). Alcohol-Infórmate. Consultado 22 Feb. 2018. Disponible en: <https://docplayer.es/49268697-Pozol-una-bebida-fermentada-tradicional-de-mexico.html>
- Giles M., Camacho A., Ortegón A., Palao M., Serrano B., Velázquez O., 2009. Técnicas para el Análisis Microbiológico de Alimentos. (en línea). Consultado 14 Sep 2017. Disponible en: https://www.google.com/sv/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://depa.fquim.unam.mx/am_yd/archivero/TecnicBasicas-Cuenta-en-placa_6527.pdf&ved=2ahUKEwjV1Zvv_OnYAhUK7VMKHV5FCVEQFjAAegQIExAB&usg=AOvVaw0VTZqaariFIM92eNWeKtXX
- Gómez de Segura, J.M. 2017. Procesos de elaboración del vino. (en línea). Vinopediatv. Consultado 24 Ene 2018. Disponible en: <http://www.vinopedia.tv/procesos-de-elaboracion-del-vino/>
- Gómez, M. y Terenzano, I. S.F. Hidromiel espumante. (en línea). Consultado: 15 Feb 2018. Disponible en: <https://www.fcal.uner.edu.ar/wp-content/uploads/2012/06/97.pdf>
- González C.G., Zacarías I., Olivares S., Cruchet S., 2014. ¿Qué son los probióticos? ¿Para qué sirven?. (en línea). Consultado 15 Jun 2017. Disponible en: https://www.google.com/sv/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://inta.cl/sites/default/files/_minisitios/consumidores/Revistas/probioticos.pdf&ved=2ahUKEwilor7r7OnYAhVPHqwKH SmvCS0QFjAGegQICRAB&usg=AOvVaw17g_9dXzcEmeQVnnhttp_Db
- Gutiérrez, C.Y.; 2009. Análisis del mercado para mamey. Proyecto de desarrollo productivo, cadena de valor frutícola. (en línea). Consultado 24 Mar 2017. Disponible en: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9965/1/UPS-GT000996.pdf>
- Hernández Gómez, S.E.; Moza Hernández, J.E.; 2013. Elaboración de barras nutritivas de mamey enriquecidas con teberinto para niños y jóvenes en edad escolar (en línea). Tesis Ingeniero en alimentos. Ciudad de San Salvador, El Salvador, Universidad Dr. José Matías Delgado. 11 p. Disponible en: <http://webquery.ujmd.edu.sv/siab/bvirtual/BIBLIOTECA%20VIRTUAL/TESIS/04/IAL/0001743-ADTESSL.pdf>

ICEX (España Exportación e Inversiones). 2013. El mercado de vinos en El Salvador-Estudio de Mercado. (en línea). Consultado 29 Abr 2017. Disponible en: https://www.prochile.gob.cl/wp-content/uploads/2017/01/PMP_ESalvador_Vino_2016.pdf

IICA (Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura). 2003. (en línea). Consultado 20 Feb 2018. Disponible en <http://repiica.iica.int/docs/B0219E/B0219E.PDF>

INCAP (Instituto de Nutrición de Centroamérica y Panamá) y OPS (Organización Panamericana de la salud). 2012. Tabla de composición de alimentos de Centroamérica. (en línea). Consultado 12 May. 2018. Disponible en [file:///C:/Users/Jose%20Erick%20Amaya/Downloads/Tabla%20de%20Composicion%20de%20Alimentos%20para%20Centroamerica%20del%20INCAP%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/Jose%20Erick%20Amaya/Downloads/Tabla%20de%20Composicion%20de%20Alimentos%20para%20Centroamerica%20del%20INCAP%20(1).pdf)

Landaverde, R.D. 2017. Francés celebres del vino. (en línea). Fundamentos de Enología. Consultado 19 Mar 2017. Disponible en <https://fundamentosdeenologia.wordpress.com/author/ridavema/>

Lebrón, O.R. 2015. Elaboración y evaluación de una bebida natural a base de mamey (*Mammea americana L.*) como alimento funcional (en línea). Consultado el 25 Dic 2018. Disponible en: <http://webquery.ujmd.edu.sv/siab/bvirtual/BIBLIOTECA%20VIRTUAL/TESIS/04/ALI/0002232-ADTESLE.pdf>

Llanos, C.L., 2014. Estudio y determinación de la Población de bacterias en vino mediante epifluorescencia. (en línea) Consultado 21 Feb 2018. Disponible en: <https://uvadoc.uva.es/bitstream/10324/6343/1/TFM-G%20302.pdf>

López, L.C., Moreira, C.S; 2015. Estudio de factibilidad y plan de exportación de la pulpa de mamey congelada hacia el mercado español. (en línea). Consultado 16 Ene 2018. Disponible en <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/9965/1/UPS-GT000996.pdf>

Mayorga Caballero N.A., Perez Guerrero E.D.; Perez Carmona M.L.. Aplicación de la tecnología de métodos combinados (TMC) proporcionándole valor agregado al fruto de mamey (*Mammea americana L.*) en el periodo de mayo 2009 a febrero 2010 en la planta piloto Mauricio Diaz Muller UNAN-LEON. (en línea). Consultado 14 Mar 2018. Disponible <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/bitstream/123456789/2705/1/217546.pdf>

Mesas, J.M. & Alegre, M.T. 1999. El papel de los microorganismos en la elaboración del vino. (en línea). Ciencia y Tecnología Alimentaria, 2:4, 174-183, DOI: 10.1080/11358129909487599. Consultado 18 ago 2017. Disponible en <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/11358129909487599#aHR0cDovL3d3dy50YW5kZm9ubGluZS5jb20vZG9pL3BkZi8xMC4xMDgwLzExMzU4MTI5OTA5NDg3NTk5P25lZWRY2Nlc3M9dHJ1ZUBAQDA=>

Olagnero G., Abad A., Bendersky S., Genevois C., Granzella L., Montonati M., 2007. Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos. (en línea) Consultado 19 Feb 2018. Disponible en: http://www.fmed.uba.ar/depto/nutrinormal/funcionales_fibra.pdf

Orduz, J.O.; Rangel, J.A. 2002. Frutales tropicales potenciales para el Piedemonte Llanero. (en línea). Consultado 11 Abr 2017. Disponible en: <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/handle/11348/4738>

FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación). , s.f. Fichas técnicas productos frescos de fruta. (en línea). Consultado 22 Ajo, 2018. Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-au173s.pdf>

Organización internacional de la viña y el vino. 2015. La producción mundial de vino en 2015. (En línea). Comunicado de prensa sobre ELEMENTOS DE LA COYUNTURA VITIVINÍCOLA MUNDIAL. Consultado 28 Mar, 2017. Disponible en <http://www.oiv.int/public/medias/2257/es-communicue-de-presse-octobre-2015.pdf>

Páez Escobar. V.A. 2010. Reseña histórica (en línea). Bebidas fermentadas. Consultado 20 Feb 2018. Disponible en: <https://books.google.com.sv/books?id=KPq3cpWyMLQC&pg=PA7&lpg=PA7&dq=La+fermentación+se+ha+realizado+durante+muchotiempo,+se+cree+que+se+practicaba+al+menos+desde+unos+10,000+a.C.+suficientes+pruebas+cient%C3%ADficas+y>

Pascal C., 2005. Encuentro enológico. (en línea). Consultado 23 Ene 2017. Disponible en: http://www.culturadelvino.org/mobile/actividades/pdf/encuentros/encuentro_2005.pdf

- Peynaud, E.; 2000. La Fermentación y tipos de vino. (en línea). Enología práctica. Consultado 26 Mar 2017. Disponible en: <https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=C-lkDmQUkxEC&oi=fnd&pg=PR7&dq=fermentaci%C3%B3n+malol%C3%A1ctica+en+vinos&ots=wHt32AfsEv&sig=PpNquuG8Lt9O5KqwHvlijXMciHl#v=onepage&q=fermentaci%C3%B3n%20malol%C3%A1ctica%20en%20vinos&f=false>
- Pipitone Lara, R.; Avendaño García, R.I.; Cárdenas Soto, J.A. 2014. Elaboración de Bebidas con Probióticos a base de pulque. (en línea). Consultado el 18 Sep 2017. Disponible en: <https://docplayer.es/10740559-Elaboracion-de-bebidas-con-pro-bioticos-a-base-de-pulque.html>
- Orto Pérez, J. 2010. Definición de vino. (en línea). Consultado 20 Mar 2017. Disponible en: <http://definicion.de/vino/>
- Puig, J.C. 2016. El prensado de la uva. (en línea). Comenge, Enología. Consultado 24 Ene 2018. Disponible en: <http://www.comenge.com/blog/enologia/el-prensado-de-la-uva.html>
- Reig C.I.A., Anesto B.J., 2002. Prebióticos y probióticos, una relación beneficiosa. (en línea), consultado 06/06/2017. Disponible en: http://www.academia.edu/31523572/prebióticos_y_probióticos_una_relación_beneficiosa
- Ronquillo Téllez A.L., Lazcano Rocha V.M., Pérez Xochipa L.A., Cabrera Hilerio S.A., Lazcano Hernández M.A. Elaboración y caracterización de vino de frutas e infusión de hierbas. (en línea). Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Consultado 23 Ene 2018. Disponible en: <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/3/62.pdf>
- Sáez, P.B. 2011. Proceso del Vino. (en línea). Urbina Vinos Blog. Consultado 24 Ene 2018. Disponible en: <http://urbinavinos.blogspot.com/2011/03/filtracion-del-vino.html>
- Sanz T.D.M., Cediell A., Mateos I., Lobon P.M.J., Mata G.M., Rodríguez P.L.M., Cuenca R.A., Suarez V.J., Revilla Z.A., 2014. El vino y su análisis. (en línea) Consultado 23 Ene 2017. Disponible en: <http://eprints.ucm.es/29446/7/PIMCD%20N%C2%BA%20243.%20ANEXO%201.%20E-BOOK-%20EL%20VINO%20Y%20SU%20AN%C3%81LISIS.pdf>

- Sermeño, J.M. 2016. Insectos asociados al mamey (*mammea americana* L.), en El Salvador. (en línea). Revista de la Universidad de El Salvador. Consultado 24 Mar 2017. Disponible en <http://revistas.ues.edu.sv/index.php/launiversidad/article/view/7/10>
- Serna J.A., 2009. Efectos de diferentes fármacos sobre el crecimiento de *Lactobacillus casei* Shirota. (en línea). Consultado 21 Feb 2018. Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/jspui/bitstream/123456789/7935/1/64.pdf>
- Serres, C. 2017. Las maceraciones en el vino. (en línea). Consultado 24 Ene 2018. Disponible en: <https://www.carlosserres.com/las-maceraciones-en-el-vino/>
- Shirai Matsumoto, K., Malpica Sánchez, F.P.2013. Tecnología de las fermentaciones alimenticias. (en línea). Consultado 21 Sep 2018. Disponible en: <http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/fermentaciones.pdf>
- Sosof V., J.R.; Fajardo, F.J.; Otzoy, M.R. 2005. Estudio de la viabilidad y preservación de cultivares de mamey (*mammea americana* L.), en la región Sur Occidental de Guatemala. Guatemala. (en línea). Universidad de San Carlos de Guatemala. 4 p. Informe Final Proyecto. Disponible en: <http://digi.usac.edu.gt/bvirtual/informes/puirna/INF-2005-020.pdf>
- Torres Calderón, E.E. 2007. Identificación y Caracterización *in situ* de germoplasma de mamey (*mammea americana* L.), con potencial genético en zonas productoras de El Salvador. (en línea). Consultado 25 Feb 2019 Disponible en: <http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/1831/>
- Torres, P. 2006. Vinos dulces naturales: la magia del apagamiento en uvas sobremaduras. (en línea). ACE Revista de Enología. Consultado 22 Ene 2018. Disponible en: <http://www.acenologia.com/dossier75.htm>
- UNNE (Universidad Nacional del Nordeste), 2006. Recuento de colonias en placa. (en línea). Consultado 12 Oct 2017. Disponible en: https://www.google.com/sv/url?sa=t&source=web&rct=j&url=http://www.biologia.edu.ar/micr general/tp5.pdf&ved=2ahUKEwi64_mV-enYAhXI0VMKHdLMAk8QFjAAeqQIEhAB&usq=AOvVaw3XAzRXV7XazrrFTeMbMddr

Velásquez, C. 2018. Aprender sobre Vino: Trasiego del Vino. (en línea). VINO PREMIER. Consultado 24 Ene 2018. Disponible en: <https://devinosconcarla.vinopremier.com/aprender-sobre-vino-trasiego-del-vino/>

Vidal Buzzi, F. 2010. Vinos Rosados (en línea). Usos y costumbres del buen vino argentino. Consultado 22 de Ene 2018. Disponible en: <http://www.deliciasdebaco.com/vinos/vinos-rosados.html>

Weber, K.S. Bou, D. M. Francine, A.D.; s. f. Un nuevo concepto de *Lactobacillus plantarum* seleccionada para vinos de ph elevado. Consultado 15 May 2017. Disponible en <http://www.lallemandwine.com/wp-content/uploads/2015/10/Lactobacillus-Plantarum-2015-ESP.pdf>

WGO (Guía práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y Prebióticos), 2011. (en línea). Consultado 27 Sep 2017. Disponible en <http://www.summaremeis.com/images/productos/defenzinc/evidencia/03.pdf>

Zamora Marin, F. 2013. La química del color del vino. (en línea). Revista de enología científica y profesional. Consultado 22 Ene 2018. Disponible en: http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/quimica_color_vino_cienc1213.htm

Zapatier Santillán, A.D. 2015. Efecto de Ana y AIB en la propagación por esquejes de mamey (*mammea americana* L.) en el cantón de Quevedo. Tesis Ing. Agp. Cuidad de Babahoyo, Ecuador, Universidad Técnica Estatal de Quevedo. 6 p. Association of Official Analytical Chemist. (1984). Official Methods of Analysis. Arlington.

8. ANEXOS

Tabla A - 1. Resumen de resultados de análisis fisicoquímicos y estadísticos

Resumen de resultados de Análisis físico químicos y estadísticos									
Tiempo	FQ	T ¹	T ²	T ³	Tiempo	ES	T ¹	T ²	T ³
pH					pH				
V. S. I.	3.01	-	-	-	V. S. I.	-	-	-	-
V. I. 1	-	3.18	3.20	3.67	V. I. 1	-	c	b	a
V. I. 2	-	3.20	3.25	3.67	V. I. 2	-	c	b	a
Acidez Total					Acidez Total				
V. S. I.	6.16	-	-	-	V. S. I.	-	-	-	-
V. I. 1	-	5.03	4.41	5.03	V. I. 1	-	c	b	a
V. I. 2	-	4.79	4.35	4.92	V. I. 2	-	No existe diferencia significativa		
Brix					Brix				
V. S. I.	9.00				V. S. I.	-	-	-	-
V. I. 1		8.07	8.16	8.21	V. I. 1	-	No existe diferencia significativa		
V. I. 2		8.00	8.03	8.21	V. I. 2	-	c	b	a
Grado Alcohólico					Grado Alcohólico				
V. S. I.	18.33				V. S. I.	-	-	-	-
V. I. 1		10.07	8.60	8.13	V. I. 1	-	a	b	c
V. I. 2		10.90	8.53	8.03	V. I. 2	-	a	b	c

V.S.I: Vino sin Inocular

V.I.1.: Vino Inoculado, tiempo 1

V.I.2.: Vino Inoculado, tiempo 2

a: Mejor tratamiento

b: Regular

c: Peor



Figura A - 1. Elaboración de bebida fermentada a base de mamey.



Figura A - 2. Determinación de pH según AOAC.



Figura A - 3. Determinación de acidez total



Figura A - 4. Determinación de grados Brix



Figura A - 5. Determinación de grado alcohólico, según AOAC 11.006



Figura A - 6. Determinación de concentraciones de *L. Casei*



. Figura A - 7. Primer recuento de bacterias (48 hrs)

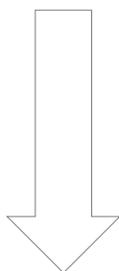


Figura A - 8. Inoculación de la bebida fermentada

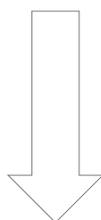


Figura A - 9. Primer recuento de bacterias (48 hrs)

Se pesó una cantidad equivalente a 49.43mg de *Lactobacillus casei*.



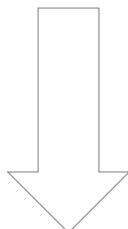
Se midió en una probeta 1,000 ml de vino, se transfirió a un recipiente de capacidad adecuada y se disolvió los 49.43mg de *Lactobacillus casei*. (En cabina de flujo laminar).



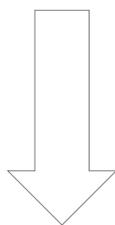
Se rotuló el recipiente como concentración 10^6 .

Figura A - 10. Inoculación de *Lactobacillus casei* a concentración de 10^6 UFC/mL por litro de bebida fermentada.

Se pesó una cantidad equivalente a 494.31mg de *Lactobacillus casei*



Se midió en una probeta 1,000 ml de vino, se transfirió a un recipiente de capacidad adecuada y se disolvió los 494.31mg de *Lactobacillus casei*. (En cabina de flujo laminar).



Se rotuló el recipiente como concentración 10^7 células

Figura A - 11. Inoculación de *Lactobacillus casei* a concentración de 10^9 UFC/mL por litro de vino.



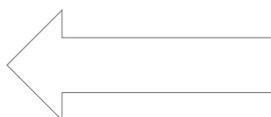
Se encendió el potenciómetro y se calibró con las soluciones tampón que indica el fabricante



Se lavó el electrodo con agua destilada y se secó con papel absorbente



Luego se efectuó la lectura en el potenciómetro, esperando que esta se estabilice y anotar la lectura



Se tomó una muestra de unos 30 ml de vino.

. Figura A - 12. Esquema de Medición de pH.



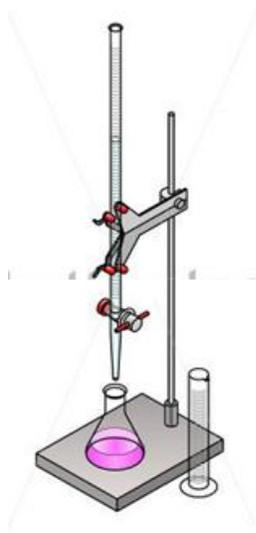
Se colocó una muestra de unos 25 ml de vino y se desgacifó, se llevó a ebullición y luego se dejó enfriar



En un Erlenmeyer de 500ml se hirvieron 200ml de agua destilada



Se añadió la muestra de vino y de agua destilada caliente.



Se tituló con NaOH 0.1 N (Hidróxido de sodio estandarizado) hasta tonarse un color rosa, se usó un fondo blanco iluminado.



Se añadió 5ml de la muestra desgasificada. Luego se agregaron 2 gotas del indicador fenolftaleína.

Figura A - 13. Esquema de trabajo de acidez titulable



Se limpió el lente del refractómetro con una torunda de algodón impregnada de alcohol.



Se calibró colocando una gota de agua destilada sobre el lente del refractómetro, luego se realizó la lectura en observando en dirección de la luz



Anotar el valor leído en el refractómetro.

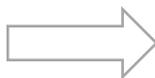


Con la ayuda de una micropipeta se colocó una gota de la muestra en el lente del refractómetro y se realizó la lectura en dirección a la luz.

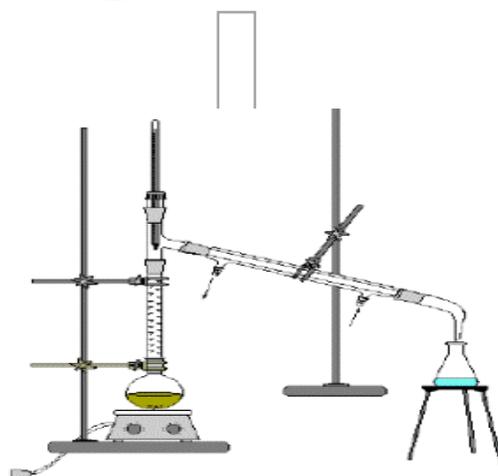
Figura A - 14. Esquema de trabajo de acidez titulable



Se Midieron 50ml de vino en una probeta.



Se colocar en un balón de destilación de entre 100 a – 300 ml.



Se colocó una gota del destilado obtenido en un refractómetro de ATAGO y se procedió a leer su índice de refracción. Encontrar el porcentaje de alcohol de acuerdo a las tablas 52. 004 de la AOAC



Se Instaló el aparato de destilación colocando el condensador verticalmente. Se destiló alrededor de 25 ml

Figura A - 15. Esquema de trabajo de grado alcohólico



Figura A - 16. Esquema para el recuento de bacterias ácido lácticas por gramo

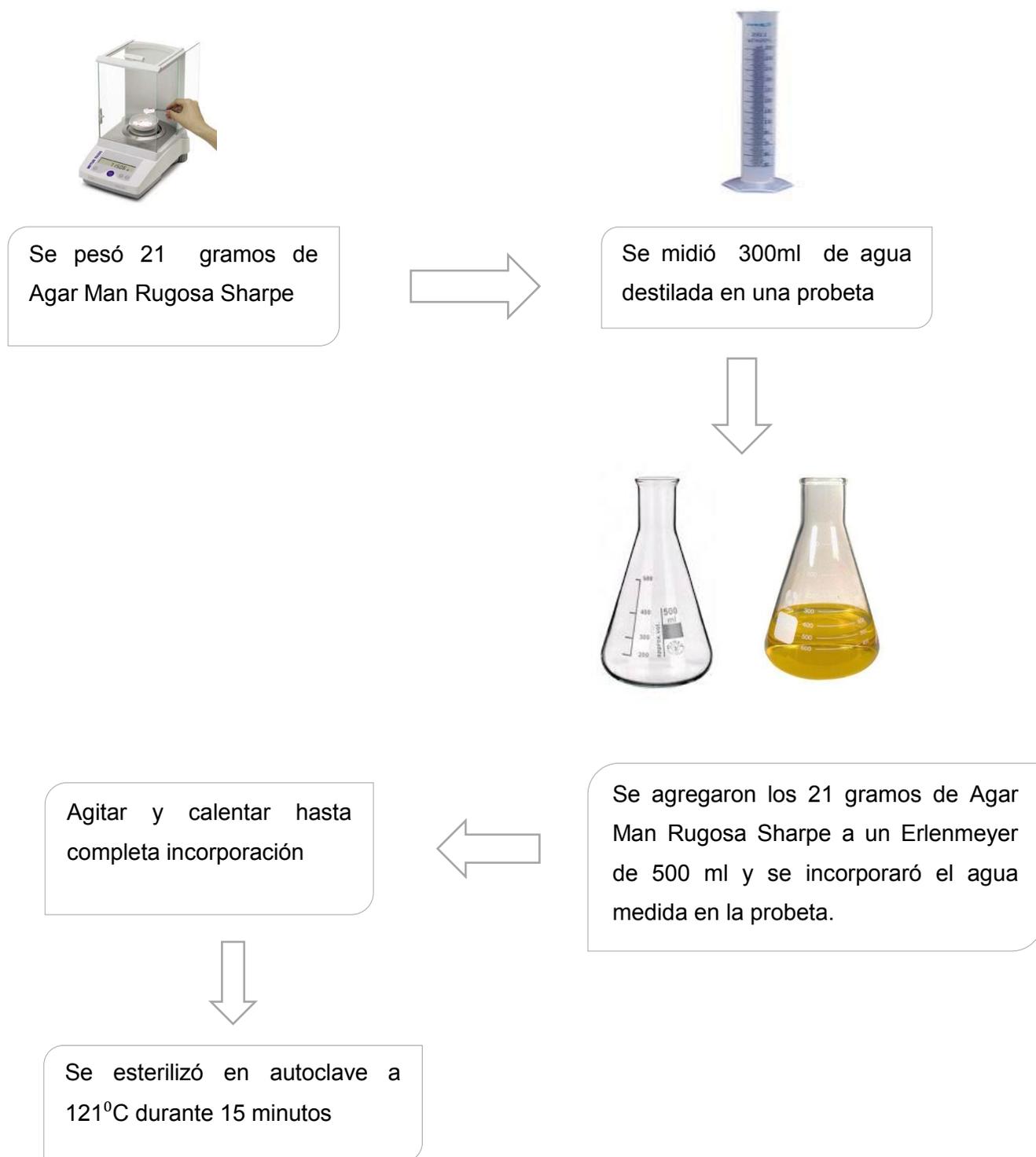


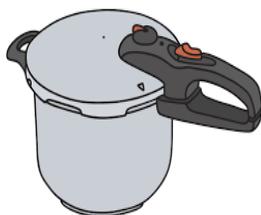
Figura A - 17. Esquema para la preparación de Agar Man Rugosa Sharpe



Se pesó 10.72 gramos de agua peptonada



Se midieron en una probeta 750ml de agua destilada.



Luego se procedió a Autoclavear a una temperatura de 121°C durante 15 minutos



En un erlenmeyer de 1,000 ml se incorporó el agua medida en la probeta y se agregó los 10.72 gramos de agua peptonada y se agitó hasta diluirse completamente.

. Figura A - 18. Esquema para la preparación de agua peptonada