

AUTORES
AUTHORS

✉ **O.F.B. Estela Ramírez MORA**^{1,2}
Dr. Ramón Álvar Martínez PENICHE¹

¹ Universidad Autónoma de Querétaro,
División de Investigación y Posgrado en Alimentos,
Facultad de Química, Cerro de las Campanas s/n.
Centro universitario, 76010, Querétaro, México.

² e-mail: teli_11@hotmail.com

RESUMEN

Para evaluar el efecto de la cepa de levadura y el sulfitado sobre las características químicas de sidra tranquila obtenida artesanalmente, jugo extraído de manzanas 'Golden Delicious' fue sulfitado y desfangado. Posteriormente, el mosto se hizo fermentar mediante inoculación con distintas cepas de levadura, siguiéndose la fermentación a partir de la evolución de la densidad y los sólidos solubles totales. Después de la fermentación, se analizó la acidez total, azúcares residuales, acidez volátil, color (L^* , a^* y b^*) y sulfito libre, combinado y total. Los factores de estudio fueron el sulfitado (3 g/ HL y sin sulfito agregado) y las cepas de levadura 71B, K1 (Lalemand®) y levadura comercial para panificación (La Nevada®). Los resultados indican que la cepa de levadura influye significativamente sobre la acidez total, los azúcares residuales y la acidez volátil; el sulfitado no afectó las características químicas de la sidra, pero sí modificó la velocidad de la fermentación en función de la cepa de levadura utilizada; los azúcares residuales y la acidez volátil disminuyeron significativamente con el sulfitado cuando se emplea la levadura comercial. Las mejores características químicas de la sidra tranquila se obtuvieron con la levadura 71B (ambos tratamientos de sulfitado) y con la levadura comercial con sulfitado; la sidra tranquila obtenida con la cepa 71B, con y sin sulfitar, mostró valores de "a" y "b" elevados, correspondientes a una tonalidad café rojiza, visualmente indeseable. Se concluye que la mejor calidad de sidra tranquila se obtuvo utilizando levadura comercial, con el mosto sulfitado.

ABSTRACT

To evaluate the effect of yeast strain and sulfiting on the chemical characteristics of artisan hard cider, juice extracted from 'Golden Delicious' apples was sulfited, partially clarified, and inoculated with different yeast strains. The fermentation was screened through the evolution of density and total soluble solids. After fermentation, total acidity, residual sugar, volatile acidity, color (L^* , a^* , b^* and c^*) and total free and combined sulfite were analyzed in the hard cider. The factors studied were sulfiting (3 g/HL and without sulfiting) and the yeast strains: 71b, K1 (both from Lalemand) and commercial yeast for baking (La Nevada). The yeast strain influenced the total acidity, volatile acidity and residual sugar, in contrast, sulfiting had no effect on the chemical characteristics of the hard cider but it had a significant effect on the fermentation velocity, which also rest on the yeast strain used. The residual sugar and volatile acidity decreased in the sulfited treatments when commercial yeast was used. The best chemical characteristics of the artisan hard cider were obtained with 71B strain (both treatments of sulfiting) and sulfiting with the commercial yeast, nevertheless, the hard cider obtained with 71b strain showed high "a" and "b" values which correspond to an undesirable tamarind color. We concluded that the best chemical characteristics of artisan hard cider are obtained when the must is sulfited and when commercial yeast is used.

PALABRAS CLAVE
KEY WORDS

Sidra tranquila, fermentación alcohólica,
sulfitado, cepa de levadura.
Artisan hard cider, alcoholic fermentation,
sulfiting, yeasts strain.

1. INTRODUCCIÓN

El manzano es un frutal de gran importancia a nivel mundial. En México se cultivan alrededor de 60,000 ha, destinándose aproximadamente 75 % de la producción al consumo en fresco y 75 % a la industria transformadora (FAO, 2004). El estado de Querétaro, ubicado en el centro del país, aporta 1 % de la producción total a nivel nacional, siendo los principales municipios productores Amealco, Cadereyta, Pinal de Amoles y San Joaquín. Prácticamente la totalidad de los huertos establecidos se encuentran bajo temporal (SAGARPA, 2004). En general, en el estado se comercializa menos de 50 % de la producción, y a precios relativamente bajos, debido principalmente a la mala calidad de la manzana producida.

Dentro de los factores que propician lo anterior, podemos citar la mala utilización de técnicas para el establecimiento y manejo de los huertos, y la presencia de accidentes climáticos como sequía, heladas y granizos que propician pérdidas importantes en la producción y que demeritan la calidad del producto. Finalmente la mala organización de los productores hace que éstos dependan de los precios del producto que los intermediarios aplican arbitrariamente y que generalmente son bajos.

Dentro de las alternativas para lograr un mejor aprovechamiento de la manzana de mesa y la manzana criolla, es la elaboración de productos derivados que no demanden fuertes inversiones por parte de los productores, que sean de fácil adaptación en la región y factibles de comercializarse en cualquier época del año. Uno de los productos que mejor se adecúa a estas necesidades es la sidra, bebida de bajo contenido alcohólico producto de la fermentación alcohólica del mosto de la manzana. (Coudray et al, 2003; Waserman et al, 2003).

La sidra se elabora en Europa mediante una mezcla balanceada de manzanas ácidas, dulces y amargas (Coudray et al., 2003; Chandon, 2003); la bebida obtenida se clasifica según su contenido de azúcar en seca, semiseca y dulce y, por su contenido de espuma, en tranquila y espumosa (Chandon, 2003).

Mediante la fermentación alcohólica, los azúcares presentes en el jugo de manzana, se transforman en alcohol y pequeñas cantidades de acetaldehído en medio anaerobio. Esta fermentación se lleva a cabo por diversos géneros de levaduras presentes en forma nativa en el mosto de manzana, tales como: *Saccharomyces*, *Kloeckera* y *Rhodotorula* (Laplace et al., 2001). Sin embargo, *Saccharomyces* es el género de mayor importancia, destacando las especies *S. cerevisiae* y *S. bayanus* que destacan por su resistencia a: la anaerobiosis, al sulfitado del mosto, a concentraciones elevadas de azúcar y de etanol, (Ribéreau-Gayon et al., 1999).

El uso de cepas seleccionadas de *Saccharomyces cerevisiae*, específicamente en la elaboración de vino, se realiza con el objetivo de tener un mayor control de la microflora durante la fermentación, asimismo, se sabe que un gran número de cepas realizan ciertos aromas y sabores, también se han llegado a utilizar en el caso de fermentaciones lentas o estancadas (Ribéreau-Gayon et al., 1999; Bisson, 1999)

Por su parte, el dióxido de azufre en la producción de

vinos y sidra ha sido utilizado desde antes del siglo XVII cuando su aplicación se realizaba en forma de velas de sulfuro. Se usó de manera extensiva en la industria sidrera inglesa hacia la mitad del siglo XX, para controlar la microflora de las manzanas y minimizar la oxidación de los componentes del jugo, y para prevenir cambios oxidativos durante el almacenamiento e infecciones secundarias, después de la fermentación. Solo la forma libre del SO_2 presenta actividad antimicrobiana (40 % del total agregado) y una pequeña porción de ésta (2 %), el llamado SO_2 molecular, puede realmente entrar en contacto con los microorganismos susceptibles e incapacitarlos. La proporción entre el sulfito molecular y los aniones de bisulfito es dependiente del pH (Jarvis y Lea, 2000).

Algunos de los efectos que el sulfitado tiene sobre las características y la calidad, son los siguientes (Navarre y Navarre, 1998): retarda la maduración del vino o la sidra, ya sea inhibiendo las fermentaciones desacidificadoras o por sus propiedades antioxidantes; como consecuencia de lo anterior, se puede lograr un mayor grado alcohólico debido a la selección del medio fermentativo, buena conservación de ácidos orgánicos, una acidez volátil menor, una coloración más intensa, una mejor clarificación, conservar el perfume natural del mosto y no parece tener ningún efecto sobre el desarrollo del bouquet en vinos. Por otro lado, también el SO_2 remanente en la sidra, produce un mal gusto, y puede ser tóxico para el hombre. En grandes cantidades, puede formarse por reducción, ácido sulfuroso el cual presenta un olor a huevos podridos, que en combinación con etanol forma mercaptanos ($\text{C}_2\text{H}_5\text{HS}$), con olor a bota de agua sucia, o sudor.

La Norma Mexicana para bebidas alcohólicas, sidra natural y gasificada (NMX-V-011-NORMEX-2002), establece como límite máximo de sulfito total presente en el producto terminado, 150 mg/L.

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar el efecto de la cepa de levadura y el sulfitado sobre la calidad de la sidra tranquila obtenida artesanalmente.

2 MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material biológico

Se utilizaron manzanas del cv. 'Golden delicious' las cuales fueron obtenidas en la región productora de Saltillo, Coah. Como fuente de levadura se utilizaron las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* 71B y K1 (Lalleman, Ontario, Canadá) así como levadura *S. cerevisiae* para panificación obtenida del comercio marca La Nevada.

2.2 Metodología empleada

La manzana fue cosechada y almacenada a 3° C hasta su uso, se descorazonó, se le extrajo el jugo, el cual fue colocado en recipientes de vidrio de 1.5 L de capacidad para ser sulfitado (1.5 g SO_2 / 100L) y desfangado (en refrigeración a 1° C por 72 horas). Posteriormente, el mosto fue inoculado con levadura seca activada y puesto a fermentar a 20° C, hasta

obtener una sidra seca (menos de 4 g/L de azúcar residual). La activación de la levadura se realizó de la siguiente manera: se pesaron 0.5 g de levadura seca activa, por cada litro de mosto de manzana, se diluyó en 75 mL de mosto pasteurizado, el cual se mantuvo por 25 minutos de 35 a 40° C. Durante el proceso fermentativo se realizaron trasiegos y remontados. La fermentación fue controlada diariamente mediante el mantenimiento de la temperatura de fermentación (20 °C ± 1) y monitoreada a través de la determinación de sólidos solubles totales y densidad. La sidra obtenida se clarificó y se sulfitó nuevamente (dosis final de 3 g SO₂/100L). Al finalizar la fermentación, la sidra fue clarificada con grenetina a una dosis de 15 g/100L.

2.3 Diseño experimental

Se llevó a cabo un diseño experimental al azar en un arreglo factorial 4 x 2 con dos repeticiones, siendo los factores de estudio: la cepa de levadura (testigo, levadura *S. cerevisiae* comercial, *S. cerevisiae* 71B y *S. cerevisiae* K1) y el sulfitado (3 g/HL y sin sulfitar). La unidad experimental fue de un vitrolero de 1.5 L de capacidad.

2.4 Determinaciones

Densidad por Picnometría (CEE, 1990), sólidos solubles totales con un refractómetro manual marca Atago, acidez total por titulación directa con NaOH y fenolftaleína como indicador (CEE, 1990) expresada en gramos de ácido málico por litro de sidra, acidez volátil por el método de Duclaux-Gayon (CEE, 1990) expresada en gramos de ácido acético por litro, color, determinando los parámetros L*, a* y b* usando un colorímetro Minolta por el método CIE Lab. Sulfito Libre, combinado y total por iodometría (CEE, 1990): es un complemento a la determinación de acidez volátil, se obtiene la cantidad en mg/L. Azúcares reductores residuales totales por medio de una modificación al método de Fehling (CEE, 1990).

2.5 Análisis de los datos

Se llevó a cabo el análisis de varianza de Fisher y la prueba de medias de Tuckey- Kramer, utilizando el programa estadístico JMP versión 4.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Análisis de varianza de las variables consideradas

En la Tabla 1 podemos observar los valores F y la significancia estadística para los factores de estudio y la interacción. El tipo de levadura utilizada tuvo un efecto significativo para SST, acidez total, acidez volátil y azúcares residuales, por su parte el sulfitado no tuvo efecto significativo sobre las variables evaluadas, sin embargo, la interacción de ambos factores resultó significativa para: acidez volátil y azúcares residuales

3.2 Tipos de levadura

En la Tabla 2 se presentan las pruebas de medias para las variables evaluadas y las distintas levaduras empleadas. Se observa que todos los tratamientos de levadura incrementaron la acidez total de la sidra con respecto al valor inicial (4.01 g/L de ácido málico); los mejores tratamientos fueron la levadura 71B y la levadura comercial, cabe señalar que una de las características de la levadura 71B es su capacidad de disminuir la acidez total (Lallemand, 2005). En todos los tratamientos, además de la levadura inoculada, se encuentra presente la microflora nativa, lo que puede estar propiciando un incremento en la acidez probablemente hasta el valor del testigo y por su parte la 71B la disminuye; en lo referente a la levadura de pan puede estarse comportando igual que la cepa 71B.

Por lo que respecta a la acidez volátil, el mejor tratamiento sería aquel que presentara el menor valor en esta determinación, desde este punto de vista, las cepas 71B y K1 propician niveles de acidez volátil aceptables, 0.454 y 0.555 g ác. acético/L respectivamente, lo cual podría deberse a que ambas cepas presentan el efecto killer, el cual ejercen a través de la producción de metabisulfito, antiséptico, que en estos tratamientos puede estar controlando la microflora nativa (incluye levaduras y bacteria de daño) disminuyendo con esto los valores de acidez volátil. Cabe señalar que, un valor superior a 1 g/L de ácido acético ya es perceptible a gusto y al olfato (Herrero, 1999), como se presentó en el testigo: 1.977 g ác. acético/L.

En lo que se refiere a azúcares residuales, Bisson (1999) menciona que un contenido menor a 4g/L de azúcares residuales es adecuado para tener un vino estable, seco; en nuestro caso, vemos que, con excepción del tratamiento realizado con K1, las demás sidras no exceden ese contenido de azúcares. Este comportamiento de la cepa K1 puede explicarse por que esta cepa tiene un alto rendimiento azúcar/alcohol (16.7 a 17 g de azúcar por % de alcohol), mientras que en otras levaduras es de 20g, ocasionando que un aumento elevado en el contenido de alcohol detenga la fermentación aunque el contenido de azúcar permanezca alto.

Con respecto al contenido de sulfito total, los valores obtenidos por las distintas levaduras van de 79.6 a 135.6 mg/L, a este respecto, la norma mexicana (NMX-V-011-NORMEX-2002), establece 150 mg SO₂/L como límite máximo de sulfito total presente en el producto terminado. En ninguno de los tratamientos aplicados se exceden dichos valores, por su parte, Jarvis y Lea (2000) señalan que del sulfito total solo aquel que se encuentra en forma libre es el que ejerce su acción antiséptica, basándonos en lo anterior, sería nuestro mejor tratamiento aquel con menor contenido de sulfito total y mayor de sulfito libre, ello corresponde a los tratamientos con 71B, levadura comercial y K1.

3.3 Sulfitado

En la Tabla 3 se puede observar que el sulfitado no tiene un efecto significativo sobre ninguna de las variables consideradas.

3.4 Interacciones

En la Fig. 1 se presenta la grafica de interacción para azúcares residuales. Observamos que, para tres de nuestros tratamientos (71B, K-1 y testigo), se manifiesta un ligero incremento en los azúcares residuales cuando se sulfita el mosto, lo que no ocurre para el tratamiento con levadura comercial, en el cual los azúcares disminuyen casi a la mitad, esto puede deberse a que, para el caso de las levaduras K-1 y 71B, además del sulfito agregado, también producen sulfito y esto las inhibe a ellas mismas, no permitiendo una degradación completa de los azúcares presentes.

En la Fig. 2 se muestra el efecto de la interacción del sulfitado y la cepa de levadura sobre la acidez volátil. En general, se aprecia la misma tendencia que la en la Fig. 1, es decir, el efecto del sulfitado y levadura sobre azúcares residuales, sin embargo, aquí la disminución de la acidez volátil

es muy drástica para tratamiento sulfitado en comparación con el no sulfitado cuando se utiliza levadura comercial. En el testigo se mantiene el valor de acidez volátil probablemente porque la carga bacteriana sea muy grande y ni siquiera la dosis agregada de sulfito logró controlar el desarrollo de bacterias acéticas.

3.5 Monitoreo de la fermentación

En la Fig. 3 se muestra la evolución de la densidad y los SST (sólidos solubles totales) durante la fermentación en función del sulfitado, con el efecto de la levadura confundido. Como ya se hizo referencia anteriormente, el sulfitado no tuvo un efecto sobre la sidra tranquila obtenida, sin embargo, se puede observar que, al monitorear el curso de la fermentación, éste sí afecta la velocidad de la misma, reduciendo

Tabla 1 Valores F y significancia estadística de los factores de estudios y su interacción para densidad (DENS), sólidos solubles totales (SST), acidez titulable (AT), acidez volátil (AV), azúcares residuales (AR), sulfito libre (SO₂ L), sulfito combinado (SO₂ C) y sulfito total (SO₂ T).

FACTOR	DENS (g/mL)	SST (°Brix)	AT (g ac malico/L)	AV (g ac acético/L)	AR (g/L)	SO ₂ L (mg/L)	SO ₂ C (mg/L)	SO ₂ T (mg/L)
Levadura	3.373 NS	5.778 *	12.893 **	22.428 **	26.38 ***	0.463 NS	1.258 NS	0.825 NS
SO ₂	0.117 NS	0.000 NS	0.006 NS	2.738 NS	0.421 NS	0.037 NS	0.100 NS	0.107 NS
levadura x So ₂	0.122 NS	1.333 NS	2.878 NS	8.364 **	4.870 **	1.109 NS	0.161 NS	0.253 NS

Diferencia significativa a P=0.05 (*), 0.01 (**) y 0.001 (***), NS: No significativo

Tabla 2 Efecto de la levadura sobre las distintas variables consideradas

FACTOR	DENS (g/mL)	SST (° Brix)	AT (g ácido málico/L)	AV (g ácido acético/L)	AR (g/L)	SO ₂ L (mg/L)	SO ₂ C (mg/L)	SO ₂ T (mg/L)
Testigo	1.0012 b ¹	4.85 a	7.61 b	1.977 b	3.50 a	36.4 a	99.2 a	135.6 a
71B	0.9996 b	4.90 a	4.46 a	0.454 a	2.58 a	41.2 a	38.4 a	79.6 a
K1	0.9990 a	5.00 b	6.10 a b	0.555 a	7.12 b	45.6 a	51.2 a	96.8 a
Levadura comercial	1.0000 b	4.65 a	4.79 a	0.935 a b	3.46 a	30.8 a	50.4 a	81.2 a
DMS, Tukey-Kramer (P= 0.05)	0.0018	0.2571	1.9764	1.0666	1.6739	38.214	85.21	103.53

¹Letras distintas muestran diferencia estadística significativa. Para los detalles, ver Tabla 1.

Tabla 3 Efecto del sulfitado sobre las variables consideradas

FACTOR	DENS (g/mL)	SST (°Brix)	AT (g ac malico/L)	AV (g ac acético/l)	AR (g/L)	SO ₂ L (mg/L)	SO ₂ C (mg/L)	SO ₂ T (mg/L)
sin sulfitado	1.00 a ¹	4.85 a	5.75 a	1.10 a	4.04 a	37.6 a	56.0 a	93 a
Sulfitado	0.99 a	4.85 a	5.72 a	0.85 a	4.30 a	39.4 a	63.6 a	103 a
DMS Tukey-Kramer (P= 0.05)	0.001	0.19	1.704	0.84	2.26	19.11	48.15	55.11

Para los detalles, ver Tablas 1 y 2

aproximadamente 48 horas el tiempo de la fermentación. Lo anterior puede deberse a que el sulfitado eliminó la competencia debida a la microflora nativa, permitiendo un inicio más rápido de la fermentación.

En las Figs. 4, 5, 6 y 7 se muestra el monitoreo de la fermentación para cada uno de los tratamientos de levaduras y los dos niveles de sulfitado. Cuando no se inocula levadura (Fig. 4), la fermentación evoluciona lentamente, prolongándose por alrededor de diez días; además, se observa cómo el inicio de la fermentación (adaptación de levaduras al medio) toma alrededor de cinco días, lo que corresponde a la mitad tiempo total de fermentación, siendo aun más lenta cuando no se sulfito el mosto. Para el tratamiento con la cepa 71B (Fig. 5), vemos que, cuando se sulfito, el inicio de la fermentación es más lento que cuando no se agrega sulfito, esto puede ser explicado por un efecto inhibitorio temporal del sulfitado sobre la levadura que retarda el inicio de la fermentación. Es también notoria la disminución de más de 36 horas de la duración de la fermentación para ambos tratamientos de sulfitado.

Para la cepa K-1 (Figura 6), esperábamos un comportamiento similar al de la cepa 71B ya que ésta también produce sulfito, e incluso en cantidades mayores que la 71B (Lallemand, 2005), pero no se observa una diferenciación clara entre ambos tratamientos de sulfitado. Sin embargo, se aprecia un inicio rápido en la fermentación, es decir, una alta eficiencia por parte de las levaduras para adaptarse al medio. En la levadura comercial (Fig. 7), vemos que se disminuye la velocidad de fermentación incluso hasta casi por 72 horas para el tratamiento sulfitado.

En la Fig. 8 se aprecia la evolución de la densidad y SST en la fermentación de los distintos tratamientos de levadura con el efecto del sulfitado confundido, aquí observamos dos tendencias, la primera consiste en una fermentación larga para los testigos y la levadura comercial, y la segunda es una fermentación corta para las cepas seleccionadas. En la Fig. 9 se presenta tanto la disminución de la densidad como de los SST, en los distintos tratamientos de levadura pero solo para los tratamientos sin sulfitar, se conserva la misma tendencia que cuando se presenta el efecto del sulfitado confundido (Fig. 8), sin embargo en los tratamientos sulfitados (Fig. 10), observamos un desplazamiento en el tratamiento con levadura comercial que se comportó incluso mejor que las cepas seleccionadas logrando fermentaciones más rápidas.

En el análisis de color, Figura 11, lo más relevante son los valores que arrojan las sidras elaborada con la cepa 71B, tanto el tratamiento sulfitado como el no sulfitado, los cuales no hablan de una sidra con tonalidades muy oscuras, café rojizas. Solo se presentan los resultados de los parámetros a^* y b^* ya que L^* y c^* (luminosidad) no dio resultados claros.

4. CONCLUSIONES

La cepa de levadura influye significativamente sobre los SST, los azúcares residuales y la acidez volátil después de la fermentación. Por el contrario, el sulfitado no afecta las características químicas de la sidra tranquila; sin embargo, si modifica la velocidad de la fermentación diferencialmente, en

función de la cepa de levadura. Los azúcares residuales y la acidez volátil disminuyen significativamente cuando el mosto se sulfito y se utiliza la levadura comercial.

Las mejores características químicas de la sidra tranquila se obtuvieron utilizando la levadura 71B (con y sin sulfitado) y la levadura comercial con sulfitado. La sidra tranquila obtenida con la cepa 71B, con y sin sulfitado, mostró valores de "a" y "b" elevados, que corresponden a una tonalidad café rojiza, visualmente indeseable.

5. BIBLIOGRAFÍA

- BISSON, L. F. Stuck and Sluggish Fermentations. *American Journal of Enology and Viticulture*, v. 50, n. 1, p.107-119, 1999.
- CHANDON, J. A. *Faites votre cidre*. Ed D'utovie. Francia 2003. 40p.
- CEE. *Analyses des mouts et vins*. En *Journal Officiel des Communautés Européenne*. Francia, 1990, 193p.
- COUDRAY, M., TEURTRIE, J., VICO, J. *Le cidre*. Ediciones Jean- Paul Gisserot. Francia. 2003. 32 p.
- HERRERO, M., CUESTA, I., GARCIA, L.A. Y DIAZ, M. Changes in organic acids during malolactic fermentation at different temperatures in yeast-fermented apple juice. *Journal of the Institute of Brewing*. v. 3, n. 105, p.191-195. 1999.
- JARVIS, B., LEA, A. G. H. Sulphite binding in ciders. *International Journal of Food Science and Technology*. v.35, p. 113- 127, 2000.
- LAPLACE, J. M.; JACQUET, A.; TRAVERS, I.; SIMON, J. P.; AUFRAY, Y. Incidence of Land and Physicochemical Composition of Apples on Qualitative and Quantitative Development of Microbial Flora During Cider Fermentations. v 107, n.4, p. 227-234 2001.
- NAVARRE, J-P. Y NAVARRE, C. *Manuel d'oenologie*. Editorial Lavoisier. Londres, París, Nueva York. 1998. 354 p.
- SECRETARIA DE ECONOMIA. NMX-V-011-NORMEX-2002, bebidas alcoholicas, sidra natural, sidra, sidra gasificada, especificaciones. Catálogo de normas mexicanas, secretaría de economía. México, 2003.
- RIBEREAU-GAYON, P., DUBORDIEU, D., DONÈCHE, B., AND LONVAUD A. *Hand Book of Enology*. Volume 1. The Microbiology of Wine and Vinification. John Wiley & Sons, LTD. Canadá. 1999. 454 p.
- WASERMAN, H., PASTOUREAU, M., PRÉAUD, M., KY, T., DROUARD, F. *Valeurs Diététiques & Médicinales*. En Buren, R. y Lochenal, L. (Ed). *La Pomme. Histoire symbolique & cuisine*. París 1998, p. 466- 471.
- Páginas de internet:
www.faostat.org
www.siap.sagarpa.gob.mx
www.lallemand.com