

Capacidad de producción de alcohol de levaduras vinícolas sobre un sustrato a base de panela

Capacity of alcohol production of wineries yeast on a panela based substrate

Duran O. Daniel; Trujillo N. Yanine y Mejía G. Kelwin

Grupo de Investigación en Ingeniería y Tecnología de Alimentos (GINTAL), Departamento de Alimentos, Facultad de Ingenierías y Arquitectura, Universidad de Pamplona, Ciudadela Universitaria, Pamplona, Norte de Santander, Colombia

Recibido 03 de Diciembre 2013; aceptado 25 de Febrero 2014

RESUMEN

*Actualmente en Colombia, el guarapo es una bebida autóctona netamente artesanal que se obtiene de la fermentación de sustratos ricos en azúcares fermentables, como la panela. Para la fermentación del guarapo se utiliza la zupia (sedimentos de anteriores producciones), de la cual no se tiene conocimiento del tipo de levadura fermentativa y su rendimiento en la producción de alcohol. El objetivo de este trabajo fue evaluar las propiedades fermentativas de levaduras vinícolas del género *Saccharomyces* spp., con el fin medir la capacidad individual en la producción de alcohol, la eficiencia del proceso y sus posibles repercusiones a nivel sensorial. Para ello, en un sustrato de panela a 10 °Brix, se estudiaron seis levaduras vinícolas, tomándose como referencia un guarapo comercial, elaborado a partir de una zupia de un establecimiento comercial. Se realizaron ensayos correspondientes a 1.5 litros por levadura vinícola, agregando una concentración de 5.100.000 UFC/ml y se incubaron a $25 \pm 0,2$ °C. Se realizó un seguimiento de la fermentación durante doce días y se analizaron parámetros como el pH, °Brix, contenido de alcohol y recuento en placa de UFC/ml. Asimismo, se realizó una prueba de aceptación sensorial a las bebidas obtenidas. Los resultados mostraron que las levaduras que produjeron mayor cantidad de alcohol fueron *Saccharomyces* c. de las variedades Uva, Rhone y Qua 23, con respecto a la levadura del guarapo. Los guarapos elaborados a partir de estas levaduras fueron mejor aceptados por el consumidor.*

*Autor a quien debe dirigirse la correspondencia. E-mail: danielduran@unipamplona.edu.co

Palabras clave: alcohol, fermentación, guarapo, levaduras, panela.

ABSTRACT

Currently in Colombia, the guarapo is a purely traditional beverage obtained by the fermentation of substrates rich in fermentable sugars such as panela. For the fermentation of guarapo the zupia is used (sediments from previous productions), of which there is no knowledge about the type of fermentative yeast and its yield in the production of alcohol. The aim of this study was to evaluate the fermentative properties of the wine yeasts of the genus *Saccharomyces* spp., with the purpose of measuring the individual ability to produce alcohol, the efficiency of the process and its potential impact on a sensory level. For this, in a panela substrate to 10 °Brix, six wine yeasts were studied, taking as a reference a commercial guarapo, made from a zupia from a commercial establishment. Corresponding trials were performed consisting of 1.5 liters by wine yeast, adding a concentration of 5.100.000 CFU/mL and incubated at 25 ± 0.2 °C. Monitoring of the fermentation was carried out for twelve days and parameters such as pH, ° Brix, alcohol content and plate count of CFU/mL were analyzed. Also, a sensory acceptance test was performed to the obtained beverages. The results showed that the yeast that produced more alcohol was *Saccharomyces* c. of the Uva, Rhone and Qua 23 varieties with respect to the guarapo yeast. The guarapos prepared from these yeasts were the best accepted by the consumer.

Keywords: alcohol, fermentation, guarapo, yeast, panela

INTRODUCCIÓN

La producción panelera se lleva a cabo en cerca de treinta países del mundo. Colombia ocupa el segundo lugar después de la India, con el 10% de la producción mundial, pero a nivel de consumo per cápita el país ocupa el primer lugar con un promedio de 32 Kg./año (Rodríguez, 2001, Mojica *et al.*, 2004). Esta actividad económica constituye una de las principales agroindustrias del sector agrícola, en la medida que vincula a cerca de 350.000 personas entre productores, trabajadores, comerciantes y otros actores, generando el equivalente a 120.000 empleos permanentes, ocupa 226.000 hectáreas en el cultivo de la caña, alimenta 20.000 trapiches como infraestructura para el procesamiento, contribuye con el 6,7% a la formación del PIB agrícola y representa cerca del 2,2% del gasto en alimentos de la población colombiana (Roa y Rodríguez, 2003). La producción de panela es una de las principales actividades agrícolas de la economía nacional,

entre otras razones por su participación significativa en el Producto Interno Bruto (PIB) agrícola, por la superficie dedicada al cultivo de la caña, la generación de empleo rural y su importancia en la dieta de los colombianos. En el país se estima que existen cerca de 70.000 unidades agrícolas que cultivan caña para la producción panelera y aproximadamente 15.000 trapiches en los que se elaboran panela y miel de caña (Henaó *et al.*, 1993). La panela tiene diferentes utilidades, como producto edulcorante, usada en muchas preparaciones culinarias, así como en la elaboración de bebidas alcohólicas destiladas y biocombustibles. El guarapo es una bebida de fabricación artesanal que se obtiene por el proceso de fermentación de los jugos ricos en carbohidratos (principalmente sacarosa), extraídos de la caña de azúcar (panela). Este producto no tiene regulación alguna para su fabricación en Colombia. La palabra guarapo, según el diccionario de la real academia

de la lengua es de origen quechua; otros investigadores atribuyen este vocablo a la castellanización del vocablo africano “guarapa” a su vez derivado de la palabra árabe jarabe, que significa jugo de caña de azúcar (Olarte *et al.*, 2007). El guarapo es una bebida fermentada que presenta una fermentación dinámica y sucesión de la comunidad levaduriforme, directamente relacionada con el aumento en la concentración de alcohol y variabilidad de compuestos orgánicos. Al inicio del proceso es posible detectar la mayor diversidad de levaduras, y a medida que el proceso avanza a las fases intermedia y final, aparecen levaduras que se caracterizan principalmente por su resistencia al alcohol y alto poder fermentativo como la especie *Saccharomyces cerevisiae*, siendo esta especie la que aporta propiedades organolépticas al producto final (Esteve *et al.*, 2000). La levadura *Sacharomyces cerevisiae* se ha convertido en los últimos años en un organismo seleccionado para su estudio por la biología celular y la genética: los conocimientos fundamentales que se conocen hoy día, permiten clarificar desde una nueva óptica la biología de este organismo y su adaptación al metabolismo fermentativo. Esta es la razón por la cual se han desarrollado numerosos progresos en el conocimiento de la fermentación alcohólica (Tarupí, 2011). Uno de los avances clave de la enología moderna es el reconocimiento de la importancia de la levadura como un agente imprescindible para la adecuada obtención de bebidas alcohólicas. De este reconocimiento nace, de manera inmediata, la necesidad de controlar las propiedades genéticas y metabólicas de las cepas empleadas para las fermentaciones enológicas, así

como la de desarrollar sistemas analíticos capaces de distinguir entre las diferentes cepas de levadura, tanto por las propias (o deseadas) como las contaminantes (Bruce *et al.*, 2001). La mayoría de las cepas de *S. cerevisiae* pueden producir cantidades de alcohol de hasta 16 % en fermentaciones suplementadas con sirope (adiciones de azúcar a intervalos), la levadura puede producir hasta 18% o más de alcohol; aunque se suele considerar que estas levaduras son fermentativas, también pueden crecer oxidativamente como parte de la comunidad del velo superficial, *S.beticus* (Bruce *et al.*, 2001, Gutiérrez *et al.*, 1997). En el estudio llevado a cabo por Dequin (2008), comparó sesenta y cinco diferentes levaduras *Saccharomyces cerevisiae* cuyas cepas fueron seleccionadas en función de su producción de alcohol mediante una simulación del proceso de vinificación de mostos de uva tinta, y del mismo modo se efectuaron pruebas con mostos blancos utilizando 60 levaduras diferentes, concluyendo que las actuales cepas de *S. cerevisiae* presentan unas diferencias mínimas en términos de rendimiento de la transformación de azúcares en alcohol.

Por estas razones, y en vista que actualmente la fermentación del guarapo se utiliza la zupia, producto del cual no se tiene conocimiento sobre el tipo de levadura y el rendimiento en la producción de alcohol, el propósito de esta investigación fue evaluar las propiedades fermentativas de levaduras vinícolas del genero *Saccharomyces* spp. con el fin medir la capacidad individual en la producción de alcohol, la eficiencia del proceso y sus posibles repercusiones a nivel sensorial.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Cinco levaduras vinícolas fueron obtenidas del cepario de la Universidad de Pamplona, sede Pamplona (Norte de Santander-Colombia) y 2 de casas comerciales. Como muestra control, se adquirió zupia de un expendio comercial de guarapo. Las levaduras empleadas se detallan en la tabla 1.

Tabla 1
Descripción de levaduras ensayadas

| Ensayo No. | Descripción |
|------------|---|
| 1 | <i>Sacharomyces cerevisiae</i> N°7013 INRA, Narbone – fermivin |
| 2 | <i>Sacharomyces cerevisiae</i> N°7303 INRA, Narbone–fermirooge. |
| 3 | <i>Sacharomyces cerevisiae</i> Rv1 |
| 4 | <i>Sacharomyces cerevisiae</i> Rhone 2223 |
| 5 | <i>Sacharomyces cerevisiae</i> uva |
| 6 | <i>Sacharomyces cerevisiae</i> qua 23 |
| 7 | Guarapo comercial elaborado con Zupia (cuncho). |

Establecimiento de ensayos

Para la realización de los ensayos se empleó una solución homogénea acuosa de panela a 10°Brix, la cual fue llevada a ebullición durante 10 minutos con el fin de eliminar microflora proveniente de la panela. Se realizaron 14 ensayos, 2 para cada levadura, tomándose 1,5 litros de sustrato, el cual fue llevado a un recipiente aséptico (botellas PET). Posteriormente, fue inoculada cada levadura en una dosis de 5100.000 UFC/ml, de acuerdo a fichas técnicas para el uso de levadura vínica comercial. Una vez inoculada las levaduras en el sustrato a base de panela, se llevaron a la incubadora a temperatura de 25±2 °C en cámara, con temperatura controlada durante un tiempo de 12 días. Se realizó el seguimiento cuatro días sobre parámetro tales como sólidos solubles, graduación alcohólica, pH, color instrumental y recuento de levaduras.

Determinaciones analíticas

La determinación de sólidos solubles (°Brix), se realizó por refractometría según el método de la AOAC (932.12, 1990).

El porcentaje de alcohol, se determinó por aerometría mediante el uso del alcoholímetro, midiendo el contenido de alcohol en volumen, a la temperatura de 20 °C según guía técnica colombiana GTC 4.

La determinación del pH se realizó por potenciometría utilizando pH-metro marca METER, cg-840b (Schott), (AOAC 981.12/90).

El recuento de levaduras se realizó tomando una muestra de 1 ml de cada solución en fermentación, inoculando en placas de Petrifilm (levaduras y mohos), incubando a una temperatura de 25±2 °C según AOAC (997.02).

Aceptación sensorial

Los guarapos fueron evaluados sensorialmente a través de una escala hedónica, utilizando un panel de 30 jueces consumidores conformado por estudiantes de la Universidad de Pamplona. En el momento de la cata se realizó una capacitación y explicación de las pruebas, con el fin de obtener resultados uniformes. Los atributos evaluados fueron el dulzor, acidez, sensación de alcohol, color, sabor y olor a levadura.

Análisis de resultados

Los resultados obtenidos fueron analizados estadísticamente a través de la técnica del análisis de la varianza, y una significación del 0,05 con el fin de estimar las diferencias estadísticas ocasionadas por las levaduras y la aceptación sensorial.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contenido inicial de cultivos de levaduras

En la utilización de las levaduras se procedió a realizar un conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) de los contenedores originales de las levaduras, con el fin de adicionar la misma cantidad de levadura (UFC/ml) y así disminuir errores en los ensayos. En la tabla 2 se presentan los resultados obtenidos y la dosificación utilizada de cada levadura. Se puede apreciar que los recuentos iniciales son diferentes para cada levadura lo que implica que la cantidad en mililitros a utilizar son también diferentes.

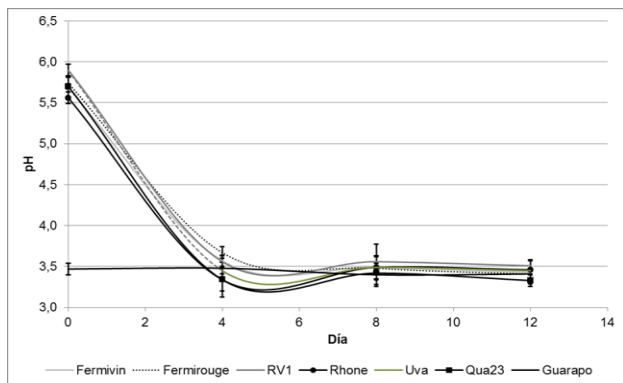
Tabla 2
Contenido inicial de levaduras de UFC/ml

| Levadura | Recuento inicial | Inoculo final | ml Adicionado |
|------------|------------------|---------------|---------------|
| Fermivin | 23 | 5100,000 | 150,00 |
| Fermirouge | 10 | 5100,000 | 173,68 |
| RV1 | 11 | 5100,000 | 157,145 |
| Rhone | 5 | 5100,000 | 330,01 |
| Uva | 9 | 5100,000 | 194,123 |
| Qua23 | 6 | 5100,000 | 300,00 |
| Guarapo | 4 | 5100,000 | 150,70 |

La dosificación utilizada fue de 5100.000 UFC, ya que son especificaciones del productor (ficha técnica) de una de las levaduras comerciales como es la Fermivin. En este sentido se puede ver que la levadura de mayor concentración fue la Fermivin y la de menor concentración fue la levadura de variedad Rhone.

Evolución de los parámetros químicos durante la fermentación

En la figura 1 se muestra la evolución del pH durante la fermentación alcohólica con las diferentes levaduras. En ella se puede observar que una vez realizado los inóculos los pH de las soluciones oscilan entre 5,5 y 6,0 de pH, produciéndose un rápido descenso durante los primeros 4 días y manteniéndose en valores promedios de 3,5 a lo largo de la fermentación. Es importante observar, que el inóculo del guarapo hace descender desde el primer momento el pH a 3,5 manteniéndose durante toda la fermentación.



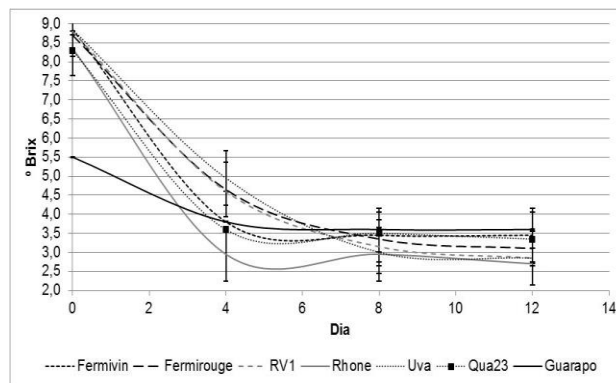
n = 14. Media ± desviación típica. *p* – valor < 0,05

Figura 1. Evolución del pH durante la fermentación

Al realizar el análisis estadístico, ANOVA se pudo constatar que para cada levadura, existen diferencias significativas en el pH en cuanto a los días de fermentación, excepto para la levadura proveniente del guarapo, en la cual, no se presentaron tales diferencias. Al realizar este mismo análisis con respecto a las levaduras, los resultados mostraron que se presentaron diferencias estadísticamente significativas, lo cual indica que cada levadura es independiente en la

modificación del pH de la solución en la cual fueron inoculadas.

En cuanto a los resultados de los °Brix que se presentan en la figura 2, se puede observar que las soluciones inoculadas con las diferentes levaduras comienzan con unos °Brix entre 8,0 y 9,0 con excepción de la levadura del guarapo que comienza con valores de 5,5. Esto se debe a la cantidad de inóculo adicionado a cada solución para igualar las mismas UFC/ml adicionado en cada solución de sustrato (tabla 1). Como se puede observar en la figura 2, los sólidos totales en los primeros cuatro días desciende de forma rápida, para posteriormente, mantenerse en valores entre 2,5 y 3,5 hasta el final de la fermentación.

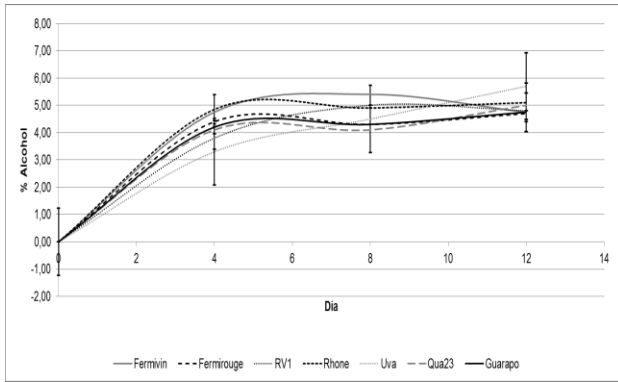


n = 14. Media ± desviación típica. *p* – valor < 0,05

Figura 2. Evolución de los grados Brix durante la fermentación

El análisis estadístico de la varianza señala que el día de fermentación es una variable que influye significativamente, en la variación de los sólidos solubles, para cada levadura.

Los resultados del porcentaje del alcohol producido durante la fermentación se muestran en la figura 3. En ella se observa que durante los primeros cuatro días se genera la mayor cantidad de alcohol en los diferentes ensayos con las levaduras utilizadas. Posteriormente, el grado alcohólico fluctúa sobre los 4,0 grados, llegando al final del proceso en esta misma graduación, con la diferencia que la levadura S. C, variedad Uva alcanzó valores de alcohol cercanos a 6,0 en el día doceavo de fermentación.

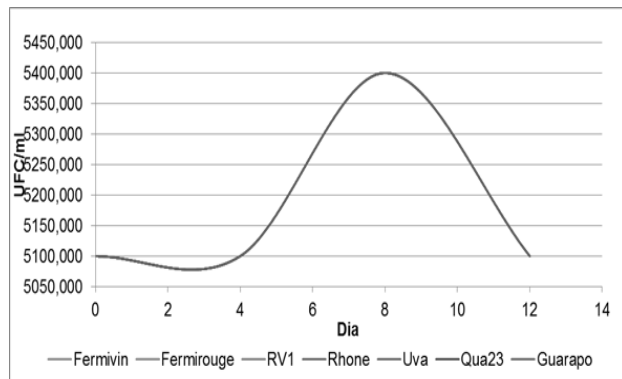


n = 14. Media ± desviación típica. p -valor < 0,05
 Figura 3. Evolución de los grados alcoholímetros durante la fermentación

El análisis estadístico de los grados alcolimetricos indico que para cada levadura con respecto a los días de análisis se presentaron diferencias significativas, siendo la variedad Uva, Rhone y Qua23 las que más se obtuvo alcohol.

Evolución de las levaduras durante la fermentación

En la figura 4 se presenta el conteo de levaduras durante la fermentación en los doce días analizados. En ellas se puede observar, para todas las levaduras ensayadas, un comportamiento ideal de una levadura, en donde se solapan las siete levaduras, destacándose tres fases de una curva de crecimiento. Durante los primeros cuatro días se observa la fase de adaptación, para seguir hasta el octavo día con la fase de crecimiento exponencial y, finalizando al día doce, con la fase de lisis celular.



n = 14. Media ± desviación típica.

Figura 4. Evolución del recuento de levaduras durante la fermentación

Es importante destacar que el comportamiento de todas las levaduras fue el mismo, debido a que se inoculo en cada ensayo las mismas UFC/ml de la levadura respectiva. El ANOVA mostro que existen diferencias significativas para cada levadura con respecto a los días de análisis, en lo que se refiere a las UFC., mientras que entre levaduras no se presentaron tales diferencias.

Características fisicoquímicas y contenido levaduras de los guarapos obtenidos

En referencia a las características químicas y de conteo de levaduras, la tabla 3 muestra los resultados. En ella se puede observar que los valores de pH son similares en cada ensayo de cada levadura, mientras que en los grados Brix, las levaduras de variedad Rhone, Uva y Rv1, son las que presentan menor cantidad de solidos totales, pero las que presentan mayores valores de graduación alcohólica. De otra parte, el conteo de levaduras (UFC/ml) fue muy similar al en la bebida final obtenida.

Tabla 3
 Parámetros finales de las bebidas obtenidas

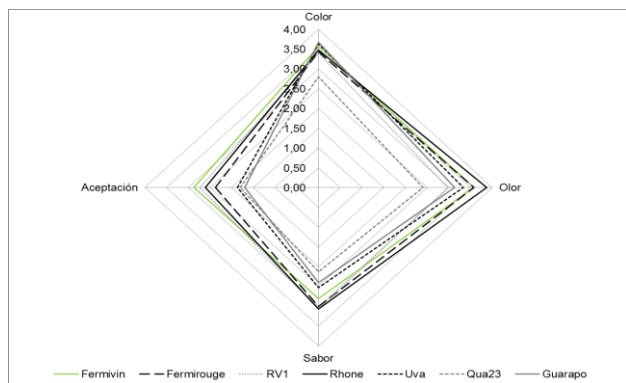
| Ensayo | pH | Brix | % alcohol | UFC/ml |
|----------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| Fermivin | 3,43±0,14 | 3,45±0,71 | 4,75±0,71 | 5100,000 |
| Fermirouge | 3,41±0,000 | 3,10±0,00 | 4,70±0,00 | 5100,000 |
| RV1 | 3,51±0,07 | 2,85±0,71 | 4,80±0,00 | 5100,000 |
| Rhone | 3,46±0,00 | 2,70±0,00 | 5,10±1,41 | 5100,000 |
| Uva | 3,45±0,00 | 2,85±0,71 | 5,70±1,41 | 5100,000 |
| Qua23 | 3,33 ±0,07 | 3,35 ± 0,71 | 5,00±0,00 | 5100,000 |
| Guarapo | 3,41±0,07 | 3,60±0,00 | 4,75±0,71 | 5100,000 |
| p-valor | 0,000 | 0,000 | 0,000 | 0,999 |

n = 2. Media ± desviación típica. p -valor < 0,05

El análisis estadístico a las variables químicas mostro que existen diferencias significativas para cada variable con respecto a las levaduras, mientras que en el conteo de levaduras final no se presentó estas diferencias significativas.

Aceptación sensorial de las bebidas elaboradas con las diferentes levaduras

Los resultados obtenidos y promediados de 30 consumidores durante la prueba sensorial de las bebidas elaboradas con las diferentes levaduras se muestran en la figura 5.



n = 30

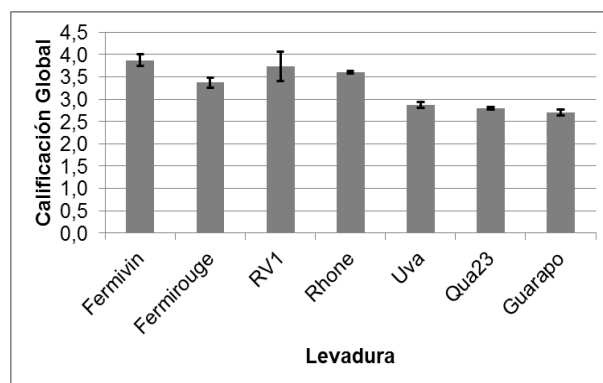
Figura 5. Aceptación sensorial de las bebidas elaboradas

La evolución analizada desde los tres atributos esenciales color, olor y sabor y una nota de aceptación general, son en esencia lo que compone la prueba sensorial realizada.

En referencia al color se puede observar que la levadura del guarapo genera una mayor aceptación, siendo la levadura Qua23, de las ensayadas, la que menor aceptación obtuvo, mientras que para las otras levaduras el color fue muy similar. Al observar el atributo del olor se puede apreciar que el más aceptado por los consumidores fue el de la levadura Rhone, seguido por fermirooge, fermivin, guarapo, Rv1 y Uva. Asimismo, se puede observar que la calificación fue

muy variada para cada ensayo con cada levadura. Al analizar el sabor, el ensayo elaborado con la levadura Rhone fue el mejor calificado junto con fermirooge y el Rv1, seguido por fermivin, Uva, Guarapo y finalmente Qua23. Al realizar el análisis estadístico de la varianza se pudo comprobar que para cada atributo medido en la evaluación sensorial, existen diferencias estadísticamente significativas entre cada levadura.

En la aceptación global (figura 6) el ensayo elaborado con la levadura fermivin fue el que mejor aceptación obtuvo, seguido por Rv1, Rhone, fermirooge, uva, Qua23, mientras que el guarapo fue el menor aceptado. En este sentido se puede observar que los evaluadores calificaron mejor que el guarapo los ensayos realizados con las levaduras utilizadas generando una expectativa en la utilización de estas levaduras en la elaboración de guarapo.



n=30

Figura 6. Calificación global de los guarapos

CONCLUSIONES

Las levaduras utilizadas en la fermentación del sustrato a base de panela durante la evolución de la fermentación trabajan en forma independiente proporcionando cambios variantes en todos los parámetros químicos, mostrando que en la fermentación alcohólica las levaduras utilizadas consumen más sacarosa en comparación con la

levadura del guarapo. La bebida elaborada con la levadura de variedad Rhone presentó una mejor aceptación en los atributos del olor y sabor, tuvo una calificación promedio en el color; mientras que en la apreciación global, los consumidores indicaron que la bebida elaborada con la levadura de variedad fermivin fue la mejor calificada y la bebida del guarapo la menor aceptada.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bruce W.Z.; Kennth C.F.; Barry H.G.; Fred S.N. Análisis y producción de vino, Editorial Acribia, S.A. Zaragoza (España), capítulo 18. (2000). Microbiología de la elaboración del vino. 292-297.
- Dequin, S. Managing alcohol excess in wines: A new challenge for wine yeasts.. Proceedings from Entretiens Scientiques Lallemand (2008).
- Esteve-Zarzoso, B.; Gostíncar, A.; Bobet, R.; Uruburu, F. y Querol, A. Selection and molecular characterization of wine yeasts isolated from the El Penedè' area (Spain). (2000). Food Microbiol. 17, 553-562
- Gutiérrez, A. R.; López, R. y Santamaría, P. Levadura autóctona de la C.O.Ca Rioja. Proceso de selección y evaluación en bodega. (1997). Vitic./Enol. Profesional. 51, 36-43
- Henao, C.; Moreno, R. del P. y Olarte, G. La panela: una agroindustria que se consolida. Fedepanela. (1993).
- Mojica, A.Y.; Paredes, J. El cultivo de la caña panelera y la agroindustria panelera en el departamento de Santander, Centro Regional de Estudios Económicos. Banco de la República. Bucaramanga. (2004).
- Olarte M.F; Martínez J.D.; Acosta P.J.; Garzón M.A. Determinación de los niveles de etanol, metanol y acetaldehído en el guarapo elaborado en los municipios de Cundinamarca. (2007). Rev Col Gastroenterol. 22 (2). 97-103.
- Rodríguez, G. La Agroindustria Panelera en Colombia. CORPOICA. Documento de Trabajo. (2001).
- Roa, Z. y Rodríguez, G. Evaluación de la producción de panela como estrategia de diversificación en la generación de ingresos en áreas rurales de América Latina. CORPOICA-FAO, Colombia. 2003.
- Tarupí R.J.; Campués T.J. Obtención de alcohol a partir de jugo de caña, cachaza y melaza, mediante la incorporación de dos niveles de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*), Facultad de Ingeniería en Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Escuela de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Técnica del norte, (2011). 19-58.