

PRODUCCION DE VINO DE NARANJA DULCE (*Citrus sinensis* Osbeck) POR FERMENTACION INDUCIDA COMPARANDO DOS CEPAS DE *Saccharomyces cerevisiae*

INDUCED PRODUCTION OF SWEET ORANGE (*Citrus sinensis* Osbeck) WINE COMPARING TWO *Saccharomyces cerevisiae* STRAINS

Deisy Bedoya¹, Edith Gomez¹, Deivis Luján², Jairo Salcedo³

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la producción de vino de naranja dulce (*Citrus sinensis* Osbeck) mediante el proceso de fermentación de tres mostos con concentraciones iniciales de 16, 20 y 25 °brix; inducida con dos cepas de levadura *Saccharomyces cerevisiae* (Comercial Fleischmann y otra de la Colección española de cultivos tipo CECT referencia 1894). Después de la evaluación fisicoquímica del proceso de fermentación de cada ensayo mediante análisis de acidez, pH, alcohol, °brix y azúcares reductores, se realizó la evaluación organoléptica con el fin de seleccionar las muestras que presentaron mayor aceptabilidad entre los catadores. Los resultados arrojaron que las muestras con concentración de 20 y 25 °brix para las cepas comercial Fleischmann y CECT ref. 1894, respectivamente, presentaron las mejores características organolépticas.

Palabras clave: levadura, acidez, evaluación organoléptica.

ABSTRACT

The objective in this research was to evaluate the production of sweet orange wine through fermentation of three musts with 16, 20 and 25 °brix fermented with two *Saccharomyces cerevisiae* yeast strains (Commercial Fleischmann and a Spanish strain CECT reference 1894). After the physical-chemical evaluation of the process based on acidity, pH, alcohol, °brix, reduced sugar, and organoléptic evaluation was done. Samples with concentration of 20 and 25 °brix of Fleischmann and CECT ref.1894 strains, respectively, showed the best organoléptic characteristic.

Key words: yeast, acidity, organoleptic evaluation.

¹Estudiantes de Ingeniería de Alimentos. Universidad de Córdoba.

²Ingeniero de Alimentos. Profesor Asistente Departamento de Ingeniería de Alimentos. Universidad de Córdoba. Email: dlujan@sinu.unicordoba.edu.co

³Ingeniero Químico. Profesor Asistente. Departamento de Ingeniería de Alimentos. Universidad de Córdoba. Email: jsalcedo@sinu.unicordoba.edu.co

INTRODUCCION

Colombia presenta una dinámica importante en la producción de cítricos, especialmente en lo que se refiere a naranja dulce (*Citrus sinensis*), mandarina (*Citrus reticulata*) y lima limón (*Citrus X*) con una producción de 595196 Ton en el año 2000. En el departamento de Córdoba la naranja producida se comercializa en el mercado con transformación cero, con precios razonables para el productor (Agrocadenas, 2003). Durante los últimos años, los precios de la naranja dulce se han mantenido constantes y el índice de precios al productor superó el índice de precios al consumidor (Asofrucol *et al.*, 2002). Sumado a esto en épocas de cosecha, en el departamento de Córdoba la oferta de naranja aumenta debido a la llegada a la plaza de mercado de fruta proveniente del departamento de Bolívar y del eje cafetero, lo cual causa una baja en los precios y por consiguiente disminución en las utilidades de los productores de la región. Debido a esto surge la iniciativa de elaborar un producto a partir de naranja dulce como el vino que tenga valor agregado y permita ofrecer a los productores una alternativa de procesamiento de dicha fruta, con este fin se realizaron los ensayos utilizando tres concentraciones iniciales de azúcar y comparando dos cepas de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* para encontrar el tratamiento que permita obtener un producto con las mejores características organolépticas.

Este trabajo de investigación tiene como objetivo evaluar la producción de vino de naranja dulce (*Citrus sinensis* Osbeck) por fermentación inducida comparando dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae*.

MATERIALES Y METODOS

El desarrollo de esta investigación se llevó a cabo en la planta de tecnología de frutas del programa Ingeniería de Alimentos de la Universidad de Córdoba, sede Berástegui, municipio de Ciénaga de Oro, Departamento

de Córdoba, con una temperatura promedio de 29°C y 20 m.s.n.m.; situada geográficamente en las coordenadas 8° 40' 26'' de latitud Norte y 75° 46' 44'' de latitud Oeste con respecto al meridiano de Greenwich.

Para la ejecución del experimento se utilizó un diseño estadístico completamente al azar con estructura factorial de 2x3, donde un factor fueron las dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y el otro factor las tres concentraciones iniciales de azúcar para el mosto de fermentación; cada combinación de tratamiento se realizó por triplicado. Las variables dependientes evaluadas fueron; características organolépticas, pH final, acidez final, concentración de alcohol y concentración final de azúcar. La influencia de las variables independientes sobre las variables de respuesta se evaluó mediante un análisis de varianza.

Obtención del mosto

Para la extracción del zumo se utilizaron frutos de naranjas en un estado de madurez comercial, las cuales después de ser sometidas a un proceso de lavado y selección fueron escaldadas durante 10 minutos en agua a 90°C con el fin de inactivar las enzimas que pudieran alterar el zumo. El zumo fue obtenido utilizando un exprimidor de cítricos semi industrial, posteriormente se pasó a través de una malla para separar las semillas y proceder a la caracterización del mismo mediante análisis de acidez, pH, sólidos solubles y azúcares reductores. El zumo extraído pasó a un proceso de estandarización, el cual consistió en adicionar la cantidad de azúcar necesario para llevarlo a las concentraciones de 16, 20 y 25° brix; posteriormente, se adicionó metabisulfito potásico (0.15 g L⁻¹) (Arrázola, 1997) y se almacenó en recipientes plásticos previamente lavados y desinfectados donde una vez inoculada la levadura se inició el proceso de fermentación.

Fermentación

Para llevar a cabo el proceso de fermentación fue necesario realizar las siguientes etapas:

Adaptación de las cepas de *Saccharomyces cerevisiae*:

Cada una de las cepas utilizadas para inducir la fermentación fueron suspendidas en caldo nutritivo y en caldo BHI (brain, hearth, infusion) nincubadas a una temperaturas de 28 – 30 °C durante 48 horas y luego fueron cultivadas en agar malta y agar mosto a una temperatura de 28 – 30 °C durante 72 horas.

Evaluación de las características morfológicas:

Con el fin de determinar posibles diferencias morfológicas entre las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y detectar posible contaminación de las mismas se observaron las colonias de cada una de las cepas y se determinaron sus características morfológicas tanto macroscópica como microscópicamente.

Preparación del cultivo iniciador:

A partir de las colonias sembradas en agar malta, se realizó un repique (raspado de una caja de petri) en un volumen de mosto igual al 2% del volumen de cada fermentador (2 L) y 4 horas después se adicionó a cada fermentador su respectivo inóculo (Arrázola, 1997). Los fermentadores se introdujeron dentro de un recipiente con agua para mantener la temperatura constante durante la fermentación que tuvo una duración de 15 días. Después de la sedimentación de las levaduras y otras partículas enturbadoras (mucílagos, gomas, pectinas), el vino se transvasó a otro recipiente y terminado el proceso de fermentación este fue embotellado en envases de 750 ml de color verde y sellados con corchos nuevos para luego ser almacenados en la etapa de maduración a temperatura ambiente con el fin de permitir los cambios fisicoquímicos necesarios para la transformación de los componentes del vino así como aromas, sabores, olores y apariencia (Vogt et al., 1989).

Evaluación Organoléptica

El vino obtenido en cada ensayo fue evaluado organolépticamente utilizando una prueba

descriptiva para conocer la influencia de cada tratamiento en las características organolépticas del producto final (Anzaldúa, 1986). Para esta prueba se utilizaron 10 catadores semientrenados, los cuales analizaron cada una de las muestras correspondientes a los seis ensayos realizados con dos repeticiones cada una. El tipo de prueba descriptiva utilizada fue la de calificación con escala de puntos, la cual se realizó con el fin de conocer la influencia de cada tratamiento en las características organolépticas del producto final. También se realizó una prueba de medición del grado de satisfacción de las muestras elegidas en la prueba descriptiva; para ello se utilizaron 60 catadores no entrenados, los cuales fueron elegidos al azar entre trabajadores y estudiantes de la Universidad de Córdoba (Sede Berástegui). Estos datos fueron analizados a través de un análisis de frecuencia con Chi-cuadrado y gráficos que muestran la respuesta de los consumidores frente al producto.

La escala de preferencia que utilizada fue la siguiente:

- Preferencia 1 = Me gusta mucho.
- Preferencia 2 = Me gusta ligeramente.
- Preferencia 3 = Ni me gusta ni me disgusta.
- Preferencia 4 = Me disgusta ligeramente.
- Preferencia 5 = Me disgusta mucho.

Evaluación Físico-química

A la muestra seleccionada en esta prueba se le realizaron análisis de alcohol etílico de acuerdo al método de Winnick (citado por Lujan y Salcedo, 2004), metanol (Método A.O.A.C. 9.107/84.972.11/90), acidez total (Método A.O.A.C. 11.042/84.962.12/90), acidez volátil (Método A.O.A.C. 11.043/84.964.08/90), azúcares totales (Método A.O.A.C. 11.019/84), anhídrido sulfuroso total (Método AOAC. 20.131/84.940.20/90), y pH para determinar su cumplimiento con los requisitos fisicoquímicos establecido por la norma técnica colombiana ICONTEC 708 para vinos de frutas (ICONTEC, 1991).

RESULTADOS Y DISCUSION

Caracterización del zumo

En la tabla 1 se muestran los resultados de las características fisicoquímicas del zumo de naranja, el cual cumple con los parámetros

de la norma ICONTEC 2980 para mostos de frutas. La acidez total estuvo entre 3,5 a 10 y los °brix mayor de 6. Respecto al pH no existe patrón en la norma de mosto, pero sí en la de vinos (NTC 708), donde se referencia un pH entre 2,8 y 3,8.

Tabla 1. Análisis fisicoquímico del zumo de naranja dulce (*citrus sinensis*)

Parámetros	Resultados
Acidez total (g dm ⁻³ de ácido tartárico)	8.1
Sólidos solubles (°brix)	9.6
pH	4.04

Producción de alcohol y consumo de sustrato.

En la figura 1 se muestra la producción de alcohol y el consumo de sustrato de cada una de las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* estudiadas para la concentración inicial de

25 ° brix, en la cual se observa que durante el proceso de fermentación la velocidad de producción de alcohol de la cepa comercial es más alta (3.74 Alcohólico día⁻¹) con respecto a la cepa CECT 1894 (3.25 Alcohólico día⁻¹).

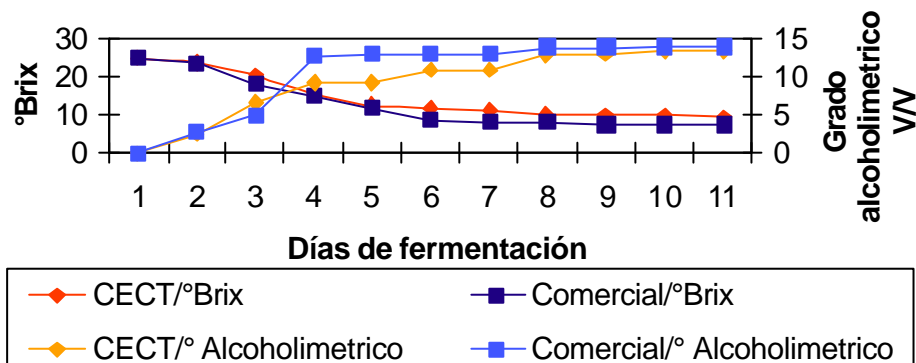


Figura 1. Producción de alcohol y consumo de sustrato (concentración inicial de 25 °brix)

En lo referente al consumo de sustrato se puede notar que la cepa comercial tiene una mayor velocidad de consumo de sustrato (3.6 °brix día⁻¹) mayor que la cepa CECT 1894 (3 °brix día⁻¹). De acuerdo con estos resultados, se puede decir que a una concentración inicial de 25 °brix la cepa con mayor velocidad de consumo de sustrato y producción de alcohol es la cepa comercial; este comportamiento permite afirmar que la cepa comercial se adapta con mayor facilidad a concentraciones altas de sustrato.

En la figura 2, se muestra la producción de alcohol y consumo de sustrato para cada una de las cepas utilizadas a una concentración inicial de azúcar de 20 °brix, donde se observa que hasta el cuarto día después del inicio de la fermentación la cepa CECT 1894 presentó mayor velocidad de producción de alcohol (3.47° alcohólicos día⁻¹) que la cepa comercial (2.4835° alcohólico día⁻¹); sin embargo, a partir del tercer día la cepa comercial empieza a producir mas alcohol obteniendo al final de la fermentación un porcentaje de alcohol mayor que la cepa CECT 1894.

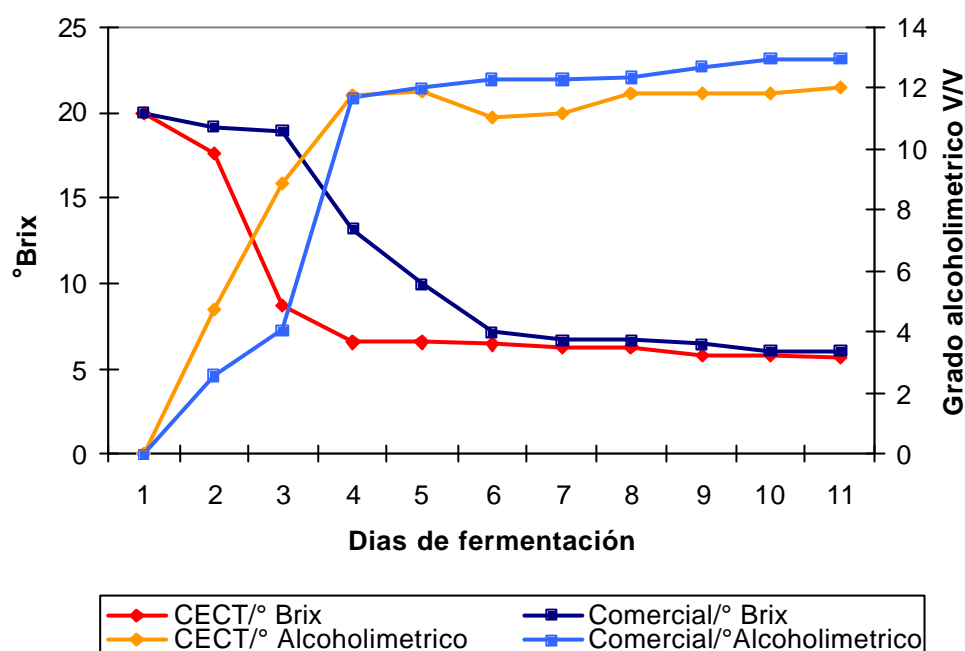


Figura 2. Producción de alcohol y consumo de sustrato (concentración inicial 20 ° brix)

En cuanto al consumo de sustrato podemos notar que inicialmente la cepa CECT 1894 consume en menor tiempo el sustrato ($3.53 \text{ }^\circ\text{brix día}^{-1}$) que la cepa comercial ($2.54 \text{ }^\circ\text{brix día}^{-1}$). Como se observa en la grafica al tercer día la cepa CECT 1894 alcanzó una concentración de azúcar de $7 \text{ }^\circ\text{brix}$, mientras que la cepa comercial tenía una concentración de azúcar de $18 \text{ }^\circ\text{brix}$, siendo esto una diferencia bastante significativa. Con base en estos datos, se puede afirmar que la cepa CECT 1894 se adapta en menor tiempo a la concentración inicial de azúcar de $20 \text{ }^\circ\text{brix}$ que la cepa comercial, produciendo una fermentación tumultuosa que se detiene al tercer día, para comenzar una etapa de fermentación más lenta. Mientras que la cepa comercial al adaptarse menos a esta concentración lleva a cabo una fermentación más lenta consiguiendo alcanzar un grado alcohólico mayor (Collado 2001).

La figura 3 muestra la producción de alcohol y consumo de sustrato a una concentración inicial de $16 \text{ }^\circ\text{brix}$, en ésta podemos notar que durante el proceso de fermentación existe una diferencia significativa en la producción de alcohol entre las dos cepas de *Saccharomyces cerevisiae*, presentando una mayor velocidad la cepa CECT 1.894 ($3.68 \text{ }^\circ\text{alcohólico día}^{-1}$), mientras la cepa comercial presenta una velocidad de producción de $1.83 \text{ }^\circ\text{alcohólico día}^{-1}$.

En lo relacionado al consumo de sustrato podemos ver que la cepa CECT 1894 presenta una mayor velocidad de consumo de sustrato ($3.53 \text{ }^\circ\text{brix día}^{-1}$) que la cepa comercial ($2.54 \text{ }^\circ\text{brix día}^{-1}$). Se puede decir que a una concentración inicial de azúcar de $16 \text{ }^\circ\text{brix}$, la cepa CECT 1894 tiene mayor velocidad de producción de alcohol y consumo de sustrato que la cepa comercial, lo que permite confirmar que esta cepa se adapta con mayor facilidad a concentraciones bajas de sustrato ya que es inhibida parcialmente por altas concentraciones.

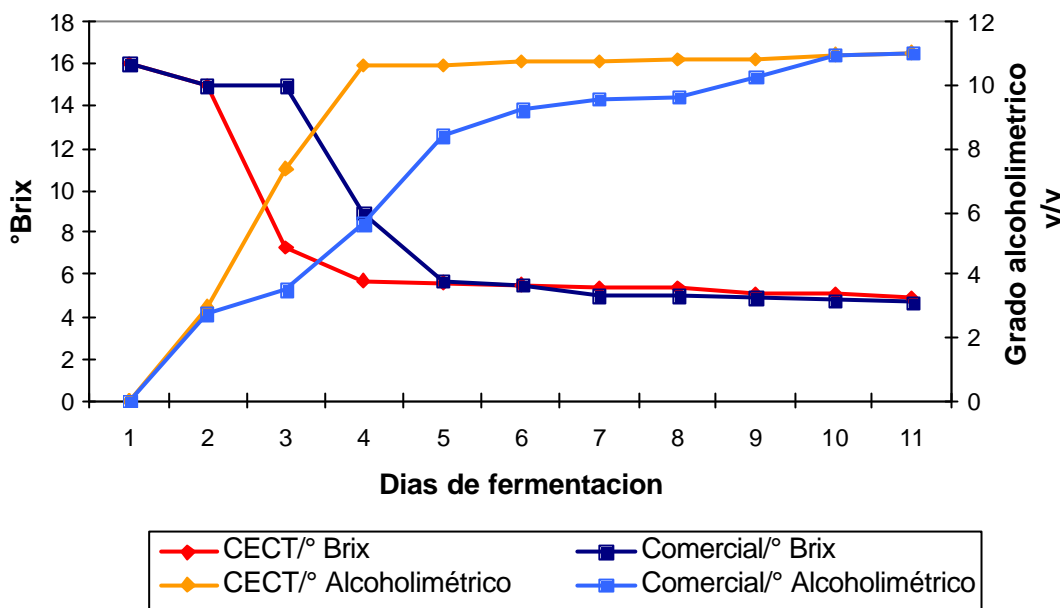


Figura 3. Producción de alcohol y consumo de sustrato a una concentración inicial de azúcar de 16 °brix

Comportamiento de la acidez durante el proceso de fermentación

En la figura 4, se muestra el comportamiento de la acidez durante el proceso de fermentación para cada uno de los tratamientos dados. Se puede observar que para todos los ensayos se da un aumento de acidez entre el segundo y tercer día debido a la formación de productos secundarios ácidos durante la fermentación alcohólica, y como la acidez total es la suma de todos los ácidos presentes en el vino, ésta

aumenta aunque al cuarto día disminuye. Según Suárez (2003), esta disminución se da como consecuencia de la fermentación maloláctica, en la cual el ácido málico se convierte en ácido láctico y ácido carbónico; de esta transformación resulta una pérdida en la acidez fija, ya que el ácido málico contiene dos funciones ácidas mientras que el ácido láctico contiene una sola, es decir, una parte de la acidez del vino se transforma en gas carbónico el cual se desprende y desaparece.

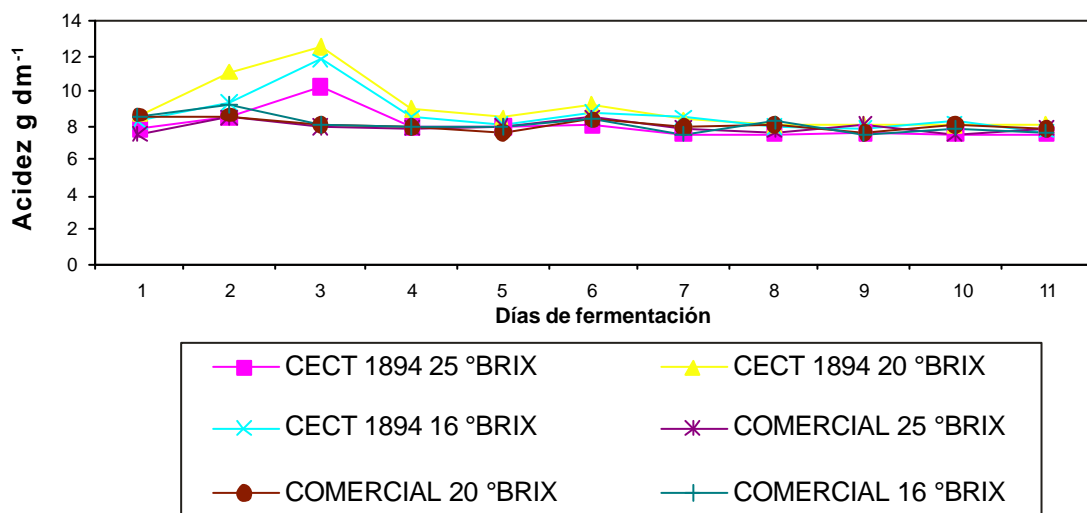


Figura 4. Comportamiento de la acidez durante el proceso de fermentación para cada tratamiento

En la figura 4 se puede notar que la cepa CECT 1894 alcanza una acidez más alta que la cepa comercial, lo cual está relacionado con la producción de alcohol y consumo de sustrato que presenta dicha levadura durante el proceso de fermentación. El análisis de varianza detectó diferencias significativas ($P < 0.05$) entre los tratamientos. Esto lo confirma la prueba de comparación de Tukey para las cepas y concentraciones, la cual muestra que el efecto de las concentraciones de azúcares influye significativamente en el comportamiento de las cepas.

Evaluación de las características organolépticas de cada ensayo

Prueba descriptiva: En la evaluación de las características organolépticas de cada ensayo se analizaron características de limpieza,

color, aroma y sabor utilizando una escala de 4 puntos, donde los puntos 1 y 2 están asociados a características muy malas y malas respectivamente y los puntos 3 y 4 están asociados a características buenas y muy buenas respectivamente.

En la figura 5 se puede visualizar, que al correlacionar los datos obtenidos en la evaluación organoléptica (prueba descriptiva), las muestras CECT 25 y SCC 20 que corresponden a los tratamientos cepa CECT 1894/25 °brix y cepa comercial/20 °brix, respectivamente; están asociadas a características de aroma y sabor agradable, por lo que es necesario someterla a una prueba de medición del grado de satisfacción para definir cuál de los dos productos presenta mayor aceptabilidad en los consumidores.

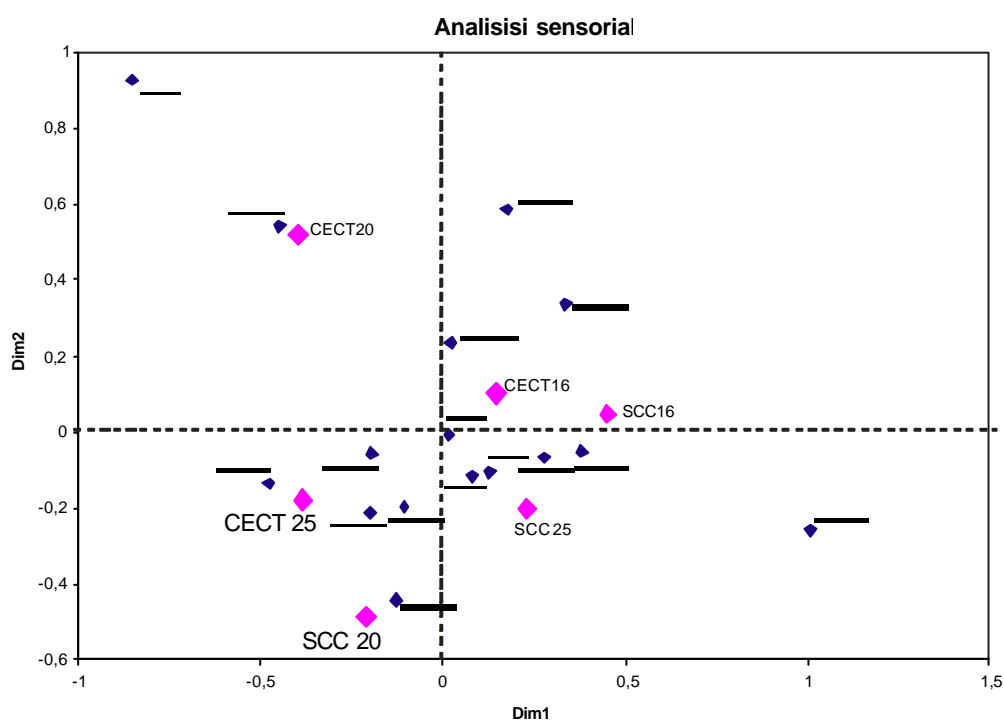


Figura 5. Resultados del análisis de correspondencias múltiples para la relación producto-características

Prueba de medición del grado de satisfacción.

En la figura 6 se observan los resultados obtenidos en la encuesta para los vinos seleccionados.

Según estos resultados el producto de mayor

aceptabilidad fue el vino cepa CECT 1894/25 °brix ya que gustó a un número mayor de personas. Cabe notar que los catadores en los cuales tuvo aceptación este producto comentaron que presenta características organolépticas parecidas a los vinos comerciales que ellos habían probado antes.

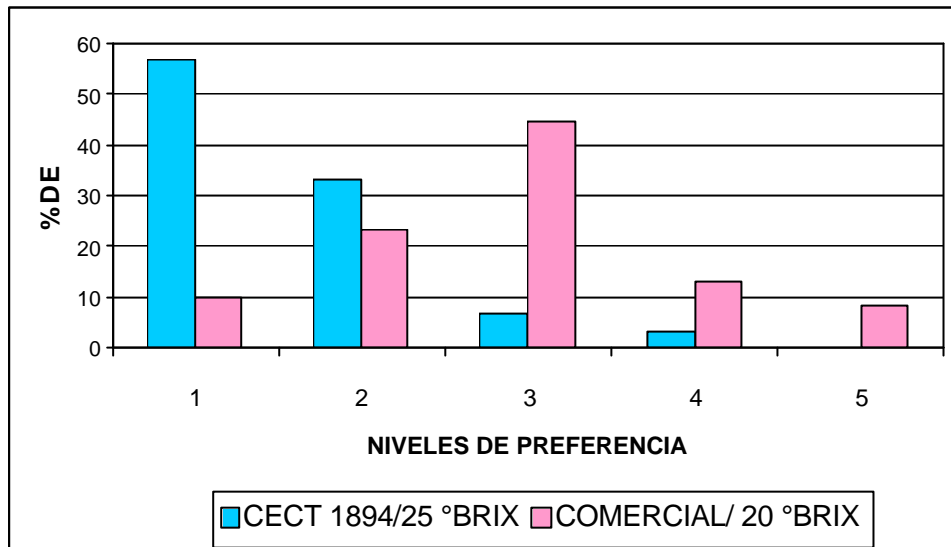


Figura 6. Efecto del grado de aceptación de las dos cepas de *S. cerevisiae* sobre grado de satisfacción del vino de naranja dulce

Análisis fisicoquímico del vino seleccionado

Los resultados del análisis fisicoquímico del vino seleccionado se muestran en la tabla 2. Los resultados del análisis fisicoquímico del vino seleccionado, mostraron que el

producto final escogido cumple con la mayoría de los requisitos fisicoquímicos exigidos por la norma NTC 708 para vino de frutas, a excepción del pH que se encuentran un poco por encima de los parámetros establecidos, el cual corresponde a 3.8.

Tabla 2. Análisis fisicoquímico del vino seleccionado

Tipo de análisis	Resultados
Contenido de alcohol en °alcoholimétricos	13.5
Acidez total expresada en ácido tartárico en g dm ⁻³	7.3
Acidez volátil expresada como ácido acético en g dm ⁻³	0.4
Metanol en mg dm ⁻³	150
Azucres totales previa inversión expresado como glucosa en g dm ⁻³	48
Anhídrido sulfuroso total en mg dm ⁻³	150
pH	4.03

CONCLUSIONES

- El análisis fisicoquímico realizado al zumo de naranja dulce muestra que este tiene un contenido de azúcares muy bajo para ser utilizado en la elaboración de vino; por lo cual, es necesario aumentar el contenido de azúcar mediante el proceso de chaptalización (corrección del mosto).
- La cepa comercial Fleischmann tiene mayor velocidad de consumo de sustrato y producción de alcohol a concentraciones altas (25 °brix), mientras que la cepa CECT 1894 se adapta a concentraciones bajas de azúcar (16 y 20 °brix).
- A través de los resultados obtenidos en la prueba de medición del grado de satisfacción se pudo determinar que la muestra obtenida a partir de una concentración inicial de 25 °brix utilizando la cepa CECT 1894 presentó las mejores características organolépticas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desea expresar sus agradecimientos al Dr. Federico Uruburu (Q.E.P.D) y la Comisión Española de Cultivos Tipo CECT de la Universidad de Valencia (España) por el valioso aporte de la cepa liofilizada.

BIBLIOGRAFIA

- Agrocadenas. 2003. Observatorio Agrocadenas Colombia. Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural. <http://www.agrocadenas.gov.co> [Accedido: 6-11-2003]
- Anzaldúa, M. 1986. La Evaluación Sensorial de los Alimentos, Teoría y Práctica. Acribia, Zaragoza, 300p.
- Arrázola G. 1997. Agroindustrialización del corozo (*Bactris minor*). Revista Temas Agrarios 4(2):58-64
- Asofrucol; Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural y Fondo Nacional de Fomento Hortícola. 2002. Acuerdo de competitividad de la cadena productiva de los cítricos. Asofrucol, Bogotá, 100p.
- Collado, Q. 2001. Levaduras y la fermentación alcohólica. <http://www.verema.com> [Accedido: 6-15-2003]
- ICONTEC (Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación). 1991. Bebidas alcohólicas. Vino de frutas, ICONTEC (NTC 708), 6p.
- Lujan, D. y Salcedo, J. 2004. Manual de Laboratorio para Biotecnología Alimentaria. Universidad de Córdoba, Montería, p14-17
- Suárez, J. 2003. Sensory profile of wine after malolactic fermentation. <http://www.percepnet.com> [Accedido: 6-19-2003]
- Vogt, E.; Jacob, L.; Lemperle, E. y Weiss, E. 1989. El vino: obtención, elaboración y análisis. Acribia, Zaragoza, 239p.