

EVALUACIÓN Y SELECCIÓN DE LEVADURA COMERCIAL PARA EL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA DE HIDROMIEL

EVALUATION AND SELECTION OF COMMERCIAL YEAST FOR THE ALCOHOL FERMENTATION PROCESS OF MEAD

¹ Johana Herrera,² Leinis León,³ Yusleivis Torres,
⁴ Natalia Cano,⁵ Adriana Herrera,⁶ Martha Cuenca*

^{1,2,3,4,5,6} Grupo de investigación: Nanomateriales e Ingeniería de Procesos Asistida por Computador NIPAC,
Programa de Ingeniería Química, Universidad de Cartagena, Colombia

Recibido: 15/04/2019 Aprobado 10/05/2019

RESUMEN

La fermentación alcohólica ha sido a lo largo de la historia fundamental para el desarrollo de bebidas alcohólicas tales como el vino, la cerveza y el hidromiel. Sus características fisicoquímicas y sensoriales son diferentes no sólo por el origen de las materias primas sino también por el tipo de microorganismo utilizado para llevar el proceso fermentativo. A nivel industrial, la *Saccharomyces cerevisiae* es la levadura comúnmente utilizada para la producción de bebidas alcohólicas. Sin embargo, en el caso del hidromiel, producto obtenido a partir de miel de abejas diluida y fermentada, comercialmente no hay disponibilidad de levaduras especializadas para este tipo de producto. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar la fermentación alcohólica para la obtención del hidromiel utilizando diferentes levaduras disponibles comercialmente. El proceso fermentativo fue realizado de acuerdo con la metodología de proceso estandarizado de hidromiel propuesto en la literatura (Quicazán, Cuenca, & Paz, 2018). De acuerdo con la disponibilidad para su adquisición, se evaluaron tres levaduras diferentes de la especie (*Saccharomyces cerevisiae*) de las marcas: A (Instant Success), B (Safcider), y C (Safoeno VR 44). Para la selección de la levadura se establecieron tres objetivos: grados Brix y concentración de etanol en porcentaje v/v al final de la fermentación, y una evaluación sensorial afectiva del producto final con 30 jueces no entrenados para evaluar la preferencia. Todas las fermentaciones se llevaron a cabo por duplicado a 25°C durante 408 horas partiendo de un mosto preparado a partir de miel de abejas diluida, con 24°Brix. La levadura B permitió obtener una bebida con 17,5% (v/v) de etanol y una preferencia general de 36,7%. Sin embargo, la bebida obtenida con la levadura C que contenía 10,95% (v/v) de etanol presentó la preferencia más alta por parte de los potenciales consumidores. Por lo tanto, teniendo en cuenta no sólo el contenido de etanol sino la preferencia por consumidores potenciales, se seleccionó la levadura C con el fin de desarrollar futuros estudios tendientes a abordar la producción de hidromiel enfocada al consumidor local colombiano.

Palabras clave: características organolépticas, etanol, fermentación alcohólica, hidromiel.

¹ jherrerat2@unicartagena.edu.co, orcid.org/0000-0002-3602-3218

² lleonl@unicartagena.edu.co, orcid.org/0000-0002-1256-7739

³ Ytorresm@unicartagena.edu.co, orcid.org/0000-0002-1168-1572

⁴ ytorresm2@unicartagena.edu.co, orcid.org/0000-0002-3488-5420

⁵ aherrerab2@unicartagena.edu.co, orcid.org/0000-0002-4355-3401

⁶ *Autor de Correspondencia: mcuencaq@unicartagena.edu.co, orcid.org/0000-0003-4243-7625

ABSTRACT

Throughout history, alcoholic fermentation has been fundamental to the development of alcoholic beverages such as wine, beer and mead. Their physicochemical and sensory characteristics are different not only because of the raw materials origin but also because of the type of microorganism used to carry out the fermentation process. *Saccharomyces cerevisiae* is the yeast commonly used to produce alcoholic beverages. However, in case of mead, a product obtained from diluted honey and fermented, specific yeasts are not commercially available. Therefore, the aim of this work was to evaluate the alcoholic fermentation for obtaining mead using different commercially available yeasts. The fermentation process was carried out according to the standardized mead process methodology proposed in the literature (Quicazán, Cuenca, & Paz, 2018). According to the availability for acquisition, three different yeasts of the species (*Saccharomyces cerevisiae*) of the brands: A (Instant Success), B (Safecider), and C (Safoeno VR 44). were evaluated. Three objectives were established to select yeast: Brix degrees behavior over time, final ethanol concentration in percentage v/v and an affective sensory evaluation of the final product with 30 non-trained panelists to evaluate their preference. All fermentations were carried out in duplicate at 25°C for 408 hours using a must prepared from diluted honey, with 24°Brix. From B yeast it was obtained a beverage with 18% (v/v) ethanol and a general preference of 36,7%. However, the C yeast beverage containing 11,3 per cent (v/v) ethanol showed the highest preference among potential consumers. Therefore, considering not only ethanol content but also preference from potential consumers. Thus C yeast was selected in order to develop future studies to address the production of mead focused on the local Colombian consumer.

Keywords: alcoholic fermentation, ethanol content, mead, organoleptic characteristics, yeast.



1. INTRODUCCIÓN

Colombia, al ser uno de los países más ricos en flora (Colciencias, 2016), tiene un gran potencial para convertirse en uno de los principales proveedores de productos de la miel de abejas en el mundo. La miel de abejas es utilizada en diversos procesos para obtener otros productos con mayor valor agregado como lo es el hidromiel (Montenegro & Ortega, 2012). El hidromiel es una bebida alcohólica tipo vino con concentración volumétrica de alcohol que varía del 8% al 18% (Mendes-Ferreira *et al.*, 2010), esto es logrado gracias a la fermentación de los azúcares presentes. El hidromiel es una opción para impactar de manera positiva los mercados nacionales en la industria de bebidas alcohólicas (Ramalhosa, Gomes, Pereira, Dias, & Estevinho, 2011) y las asociaciones de apicultores del país.

El uso de levaduras es un aspecto importante en los procesos de obtención de bebidas alcohólicas, debido a que estas se encargan de la transformación de los azúcares en etanol y dióxido de carbono; asimismo transforma otros compuestos como ATP

(Adenosín trifosfato), NADH/NAD⁺ (Nicotinamida adenina dinucleótido) y NADPH/NAP⁺ Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato), ácidos orgánicos, ésteres (responsables de olores y aromas) y otros alcoholes superiores en menos cantidad (Blanco Paz, 2016) La levadura es tan importante en el proceso fermentativo que una reciente investigación examinó la posibilidad de mejorar los procesos fermentativos incorporando biopolímeros, en los cuales la levadura es sometida a acondicionamientos, utilizando técnicas de inmovilización con el fin de mejorar el comportamiento de los parámetros que influyen (mosto de miel y temperatura del sistema), en las características sensoriales y fisicoquímicas del hidromiel (Martínez Hoyos, 2016).

Para la presente investigación se implementó la metodología de un proceso estandarizado de hidromiel propuesto en la literatura (Quicazán, Cuenca & Paz, 2018), en la cual se seleccionaron tres tipos de levaduras comerciales de la especie (*Saccharomyces cerevisiae*)

las cuales se denominaron A, B y C, correspondientes a las marcas Instant Success, Safcider y Safoeno VR44 respectivamente, con el fin de evaluar el comportamiento de las levaduras en el proceso fermentativo, teniendo en cuenta la disminución de los grados Brix, el contenido final de etanol y la preferencia general por parte de jueces no entrenados

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es un proceso biológico generado por una oxidación incompleta bajo condiciones anaerobias, es un proceso de transformación o descomposición química de hidratos de carbonos (por lo general azúcares: como la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.), en presencia de un microorganismo, bacteria o levadura para obtener como producto final alcohol en forma de etanol, dióxido de carbono (CO₂). Además se da la formación de otros compuestos orgánicos (El-Mansi, Bryce, Hartley, & Demain, 2012).

2.2. Hidromiel

El hidromiel es una bebida tipo vino, considerada la bebida de los dioses por ser la bebida alcohólica más antigua en el mundo; está compuesta por agua y miel de abejas fabricada a través de un proceso de fermentación, la cual tiene unas concentraciones de entre 8% al 18% v/v de alcohol según la normalidad colombiana. Durante la última década, investigadores han buscado mejorar los procesos de fermentación de hidromiel, implementando nuevas técnicas biotecnológicas (Šturd, Gemeiner, & Navratil, 2001).

2.3. Levadura

Las levaduras son organismos unicelulares que pertenecen al reino de los hongos, las cuales han sido usadas por el hombre desde hace muchos años para obtener productos mediante el proceso de fermentación, debido a su capacidad de descomponer carbohidratos tales como el azúcar bajo condiciones anaeróbicas (Carrillo & Audisio, 2007).

2.4. Grados Brix

Los grados Brix miden el porcentaje de sólidos disueltos en un líquido; se miden con diferentes instrumentos, dentro de los cuales, el más utilizado es el refractómetro. En este caso, se relacionan con el contenido de azúcares totales en el mosto durante la fermentación (Cuenca, Quicazán, & Blanco Paz, 2013).

2.5. Evaluación sensorial

Es un estudio de las propiedades organolépticas que son percibidas mediante los órganos de los sentidos; se evalúa el olor, sabor, la textura, aroma, entre otros parámetros. Estas características contribuyen a un conjunto de estímulos analizados por los órganos de los sentidos, los cuales son importantes a la hora de medir la calidad y aceptación de un producto. Los análisis sensoriales son reconocidos como una de las formas más importantes de asegurar la aceptación del producto por parte del consumidor (Manfugás, 2007).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Materiales

La miel de abejas proviene de la cooperativa Coopomiel (Carmen de Bolívar, Bolívar, Colombia). Como nutriente adicional se utilizó polen apícola deshidratado, proveniente del mercado local. Las levaduras comerciales se utilizaron como agente fermentador, las cuales fueron adquiridas en el mercado local. El agua utilizada era proveniente del acueducto de Cartagena y se utilizó un baño termostado para mantener la temperatura constante (Marca MVPower, USA).

3.2. Métodos

3.2.1. Ensayos de fermentación

Las fermentaciones se llevaron a temperatura constante de 25°C durante 408 horas utilizando mosto que contenía miel de abejas y agua, con 24 grados Brix iniciales. En todos los casos, se utilizó polen apícola como nutriente adicional. Las levaduras se dosificaron de acuerdo con las indicaciones de cada fabricante. Se utilizaron frascos de 40 ml de capacidad con un tapón de gasa estériles para llevar a cabo todos los ensayos de fermentación.

3.2.2. Seguimiento de grados Brix

Determinados durante todo el proceso fermentativo (408 horas), haciendo uso de un refractómetro como instrumento de medición, con el objetivo de evaluar el avance de la fermentación con respecto al tiempo.

3.2.3. Determinación del grado alcohólico

El grado alcohólico se determinó mediante destilación, teniendo en cuenta la densidad de la solución obtenida. Dicha curva es válida en el intervalo entre 2,5% a 20% v/v. La ecuación correspondiente a la curva de calibración se presenta en la ecuación (1), con un $R^2 = 0,9861$.

$$\% \text{etanol } (v/v) = -662,73 * \rho + 664,12 \quad (1)$$

Los grados alcohólicos son regulados bajo la NTC 708 de Icontec y el decreto 1686 de 2012 del Ministerio de Salud y Protección Social, estas entidades son las encargadas de la normatividad colombiana para bebidas alcohólicas. La graduación alcohólica mínima para bebidas tipo vino debe ser superior a 6 grados alcoholímetros medido a 20°C (Ministerio de Salud y Protección Social, 2012) (Icontec, 2000).

3.2.4. Pruebas sensoriales afectivas

Se realizó una prueba de preferencia en las instalaciones de la Universidad de Cartagena. Se evaluó el juicio de 30 panelistas no entrenados, consumidores regulares de bebidas alcohólicas y con edades entre 18 y 30 años, de género femenino y masculino.

Esta prueba permitió obtener la preferencia general de los panelistas no entrenados, así como también su preferencia en cuanto al olor, sabor y contenido de alcohol. Las muestras se presentaron numeradas aleatoriamente, a la misma temperatura y se varió el orden de presentación de estas para cada panelista.

3.2.5. Criterios para selección de la levadura

Con el fin de tener en cuenta parámetros de la fermentación, tales como grados Brix finales, contenido de etanol y preferencia por parte de consumidores potenciales, se construyó una función objetivo. Adicionalmente, para las características evaluadas, se

asignaron puntajes en la misma escala de 1 a 3, como se presenta en la Tabla 1.

TABLA 1

Puntaje asignado a las variables fisicoquímicas y organolépticas

Parámetro	Intervalo	Puntaje
Brix finales (Bx)	8 a 10	3
	Menor de 8	2
	Mayor de 10	1
Contenido volumétrico de etanol (E)	6 a 13	3
	Mayor a 13	2
	Menor a 6	1
Aceptación general y sabor (AG)	Mayor a 35%	3
	30 a 35%	2
	Menor a 30%	1
Aceptación de aroma y alcohol (AS)	Mayor a 35%	3
	30 a 35%	2
	Menor a 30%	1

La función objetivo a partir de las variables evaluadas y su puntaje, se presenta a través de la ecuación (2).

$$\text{Función objetivo} = 1 * Bx + 1 * E + 2 * AG + 1 * AS \quad (2)$$

4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

4.1 Seguimiento de la concentración del sustrato

Con los datos que resultaron de la experimentación, se realizó la gráfica que relaciona grados Brix con el tiempo de fermentación. En la Figura 1 se puede observar el seguimiento que se le dio al descenso de los grados Brix, a lo largo de la fermentación, para la obtención de los diferentes hidromieles como indicativo del avance del proceso fermentativo. Esta disminución se debe a la transformación de azúcares solubles a etanol y dióxido de carbono, principalmente. El comportamiento de los grados Brix es similar a datos reportados en investigaciones relacionadas con proceso de fermentación alcohólica (Lucero, 2015).

En la Figura 1, se presenta el comportamiento de los grados Brix a lo largo del tiempo para las

fermentaciones llevadas a cabo con las levaduras evaluadas. La tendencia de las tras fermentaciones es

similar, por lo cual no puede considerarse como único criterio para la selección de la levadura.

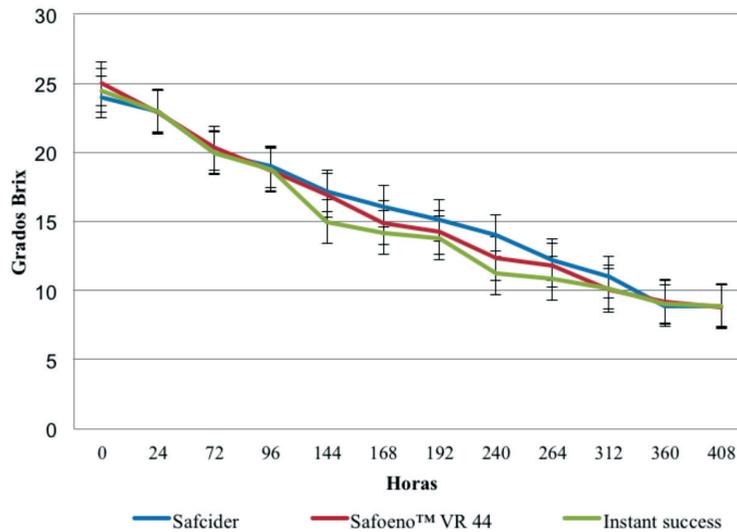


Fig. 1. Comportamiento de los grados Brix a lo largo de la fermentación para las tres levaduras.

4.2 Determinación del grado Alcohólico

Los datos de densidad obtenidos para cada marca de levadura se evaluaron en la ecuación 1 y se reportan en la Tabla 2.

TABLA 2
Porcentajes de alcohol obtenidos

Levadura	Densidad (g/ml)	% Alcohol (V/V)
A	0,9757	17,5
B	0,9856	10,95
C	0,9875	9,64

4.3 Pruebas sensoriales y de preferencia

Después de la evaluación sensorial realizada, se determinaron los porcentajes de preferencia general, en cuanto al olor, sabor y percepción de contenido de alcohol, los cuales se presentan en las Figuras 2, 3, 4 y 5.

En la en la Figura 2 se presenta el porcentaje de preferencias con respecto a la percepción general de la muestra, en este caso se observa que la muestra C obtuvo mayor apreciación por parte del público (40%).

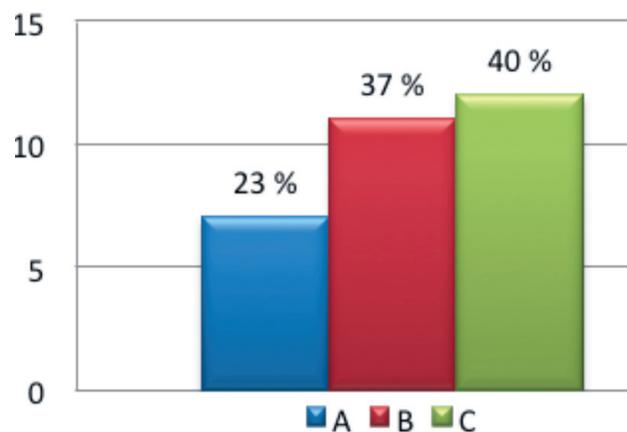


Fig. 2. Preferencia general

En la en las figuras 3 y 4 se presenta el porcentaje de personas que prefirieron cada una de las muestras basados en el aroma y sabor. En ellas se observa que, la población estudiantil de la Universidad de Cartagena, en la muestra A tuvo mayor grado de preferencia (40%), con respecto a las muestras B y C en cuanto al aroma. Referente al sabor, la muestra C tuvo mayor preferencia (43,3%) con respecto a las demás.

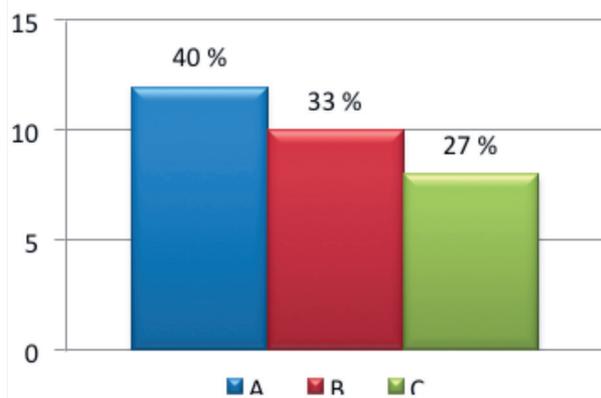


Fig. 3. Preferencias con respecto al aroma

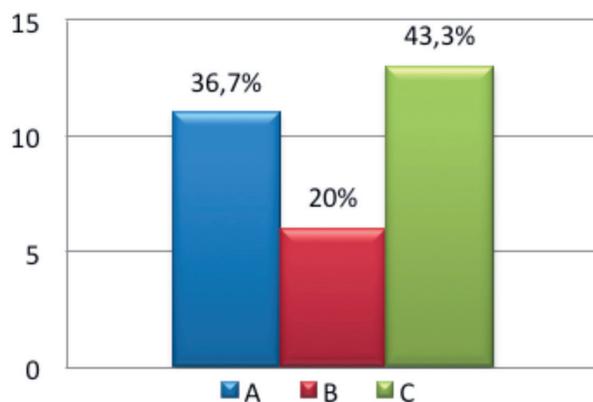


Fig. 4. Preferencias con respecto al sabor

Adicionalmente, se encontró que otro atributo importante para los consumidores, en el caso del hidromiel, es el alcohol percibido, la muestra con mayor aceptación (A) presentó el contenido más bajo de alcohol (9,9%), comparado con las muestras B y C que obtuvieron 17,5% y 10,95% respectivamente, como se muestra en la Figura 5.

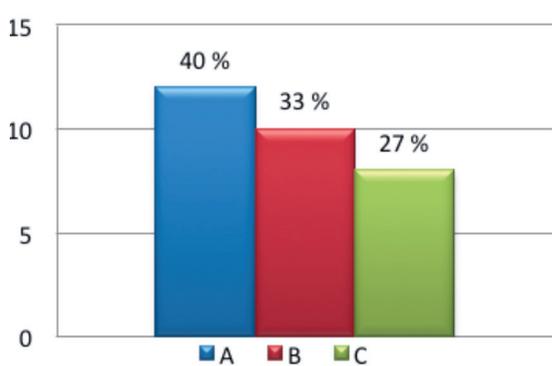


Fig. 5. Preferencias con respecto al alcohol percibido

4.4 Cálculo de la función objetivo

En la Tabla 3, se presentan los resultados obtenidos para la función objetivo evaluada para cada una de las levaduras, donde al hacer la ponderación de las variables consideradas, se seleccionó la levadura C, es decir Safoeno VR 44, la cual obtuvo el valor más alto para la función objetivo evaluada.

TABLA 3

Valor de la función objetivo para las levaduras evaluadas

Levadura	Valor Función objetivo
A	14
B	15
C	17

5. CONCLUSIONES

En la fermentación alcohólica de hidromiel, podemos encontrar características fisicoquímicas y sensoriales que están directamente relacionadas, tanto con las materias primas utilizadas, como con los microorganismos que tienen acción en el proceso y el tiempo de fermentación. Los potenciales consumidores pueden contribuir en la selección de productos, aportando conocimiento de los gustos locales. La adjudicación de puntajes a cada variable de interés, así como también la construcción de una función objetivo, permitió seleccionar el microorganismo más adecuado para satisfacer el gusto de los potenciales consumidores locales, permitiendo tener en cuenta el contenido final de etanol, los grados Brix finales y la preferencia por parte de los panelistas no entrenados. Por lo tanto, se determinó que la marca de levadura que mejor se adaptó a las condiciones establecidas fue la Safoeno VR44, que basado en los criterios de selección antes mencionados obtuvo 17 puntos de 21 posibles. El porcentaje volumétrico de alcohol medido para esta marca de levadura fue de 10,95 %v/v y la concentración final de sustrato medida como grados Brix fue de 8,8. Adicionalmente, mediante la evaluación sensorial obtuvo alta preferencia su sabor. Estos resultados permitirán utilizar esta levadura

para futuras fermentaciones, teniendo en cuenta parámetros clave para el proceso fermentativo, así como también parámetros sensoriales relacionados con los gustos particulares de los consumidores locales.

6. AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado por la Vicerrectoría de Investigaciones de la Universidad de Cartagena (Acta 140 de 2018).

REFERENCIAS

- Blanco Paz, A. J. (2016). Modelamiento cinético de la fermentación alcohólica de miel de abejas a diferentes escalas de producción. Tesis de maestría en ingeniería química. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Recuperado de: <http://bdigital.unal.edu.co/56557/1/1026562340.2017.pdf>
- Carrillo L. & Audisio M. C. (2007). *Manual de microbiología de alimentos*. Asociación Cooperadora UNJU, Recuperado de: <http://www.unsa.edu.ar/biblio/repositorio/malim2007/>
- Colciencias. (2016). Colombia, el segundo país más biodiverso del mundo. Colciencias. Recuperado de: https://www.colciencias.gov.co/sala_de_prensa/colombia-el-segundo-pais-mas-biodiverso-del-mundo
- Cuenca, M., Quicazán, M. C., & Blanco Paz, A. J. (2013). Desarrollo de un modelo productivo de bebidas fermentadas de miel para generar valor en la cadena apícola colombiana. Colciencias. Recuperado de: <http://repositorio.colciencias.gov.co/handle/11146/2368>
- El-Mansi, E. M. T., Bryce, C., Hartley, B., & Demain, A. (2012). *Fermentation Microbiology and Biotechnology*. London: CRC Press.
- Icontec. (2000). NTC 708:2000. Bebidas alcohólicas. Vinos de frutas. Bogotá: Icontec.
- Lucero, P. D. (2015). Efecto del uso de levaduras y concentración de °Brix en las características fisicoquímicas y sensoriales de vino de fresa con miel. Tesis de grado en de ingeniero en agroindustria alimentaria. Escuela Agrícola Panamericana. Recuperado de: <https://bdigital.zamorano.edu/bitstream/11036/4636/1/AGI-2015-025.pdf>
- Manfugás, J. E. (2007). Evaluación sensorial de los alimentos. Ciudad de la Habana: Editorial Universitaria. Recuperado de: <https://s47003acac0f1f7a3.jimcontent.com/download/version/1463707242/module/8586131883/name/LIBRO%20ANALISIS%20SENSORIAL-1%20MANFUGAS.pdf>
- Martínez Hoyos, A. M. (2016). Evaluación del proceso fermentativo utilizando células libres e inmovilizadas para obtener una bebida alcohólica tipo vino a partir de miel. Tesis de maestría, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá. Recuperado de: <http://bdigital.unal.edu.co/54884/7/Andr%C3%A9sMauricioMart%C3%ADnezHoyos.2016.pdf>
- Mendes-Ferreira, A., Cosme, F., Barbosa, C., Falco, V., Inês, A., & Mendes-Faia, A. (2010). Optimization of honey-must preparation and alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* for mead production. *International Journal of Food Microbiology*, 144(1), 193-198. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2010.09.016>
- Ministerio de Salud y Protección Social. (2012). Decreto 1686 del 2012. Por el cual se establece el reglamento técnico sobre los requisitos sanitarios que se deben cumplir para la fabricación, elaboración, hidratación, envase, almacenamiento, distribución, transporte, comercialización, expendio, exportación e importación de bebidas alcohólicas destinadas para consumo humano. Recuperado de: [www.invima.gov.co › decreto-no-1686-9-ago-de-2012-pdf](http://www.invima.gov.co/decreto-no-1686-9-ago-de-2012-pdf)
- Montenegro, G., & Ortega, X. (2012). Innovación y valor agregado en los productos apícolas diferenciación y nuevos usos industriales (Informe). Agrimundo: Recuperado de: <http://www.agrimundo.gob.cl/wp-content/uploads/Informe-Apicultura-VF220120132.pdf>
- Ramalhosa, E., Gomes, T., Pereira, P., Dias, T., & Estevinho, M. (2011). Mead Production: Tradition Versus Modernity. En R. Jackson (Ed.). *Food and Nutrition Research. Speciality Wines*. (1st ed., Vol. 63). Recuperado de: <https://pdfs.semanticscholar.org/8b0c/95810d50ef98709943f138afdb432640f378.pdf>
- Šturd, E., Gemeiner, P., & Navratil, M. (2001). Batch and continuous mead production with pectate immobilised, ethanol-tolerant yeast. *Biotechnology Letters*, 23(12), 977-982. DOI: 10.1023/A:1010571208324
- Quicazán, M. C., Cuenca, M. M., & Paz, A. B. (2018). *Producción de hidromiel en el contexto de la apicultura en Colombia*. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia.

