

ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE MANGO CON ENCAPSULADO DE GUANÁBANA

PREPARATION OF A FERMENTED MANGO-BASED DRINK WITH SOURSOP ENCAPSULATION

Alvarado-Gonzales, L.¹, Armas-Miguel, María J.¹, Jiménez-Vázquez, M. J.¹, Medina-Huerta, A. Y.¹, Salvador-Álvarez, M.¹, Espinoza-Castañeda C. A.¹, Bravo-Delgado H.R.^{1*}

¹Ingeniería en Procesos Bioalimentarios de la Universidad Tecnológica de Tehuacán. Prolongación de la 1 sur No. 1101, San Pablo Tepetzingo C.P. 75859, Tehuacán, Puebla, México. *rafael.bravo@uttehuacan.edu.mx

Resumen

La fermentación espontánea de cualquier líquido azucarado conduce a la obtención de una bebida fermentada. El mango es una fruta rica en antioxidantes y anticancerígenos al igual que la guanábana fruto cultivado en el suroeste de México. En el presente trabajo se elaboró una bebida alcohólica fermentada a base de mango con encapsulado de guanábana. Las formulaciones de desarrollaron mediante un diseño factorial 2^K teniendo como factores el sustrato (g) y la concentración de levadura (g/L, *Saccharomyces cerevisiae*, Red Start[®]). El mejor tratamiento el cual se utilizó 33.1 °Brix y 0.46 g/L de levadura, y se realizó una cinética de fermentación midiendo cada 6 h por un periodo de 72 h azúcares reductores, °Brix, etanol, densidad, acidez, pH, biomasa y cuantificación de acetaldehídos. Se obtuvo un producto con contenido de etanol de 13.55%, que de acuerdo a la NOM-142-SSA1/SCFI-2014 se encuentra bajo la clasificación como bebida de contenido alcohólico alto.

Palabras clave: Fermentación, Encapsulado, gelificación iónica interna, espectrofotometría

Abstract

Spontaneous fermentation of any sugary liquid leads to obtaining a fermented beverage. Mango is a fruit rich in antioxidants and anticancer agents, as is the soursop fruit grown in southwest Mexico. In the present work, a fermented mango alcoholic beverage with soursop encapsulation was prepared. The formulations were developed using a 2K factorial design having as factors the substrate (g) and the concentration of yeast (g / L, *Saccharomyces cerevisiae*, Red Start[®]). The best treatment which was used 33.1 ° Brix and 0.46 g / L yeast, and a fermentation kinetics was performed measuring every 6 h for a period of 72 h reducing sugars, ° Brix, ethanol, density, acidity, pH, biomass and quantification of acetaldehydes. A product with ethanol content of 13.55% was obtained, which according to NOM-142-SSA1 / SCFI-2014 is classified as a high alcoholic beverage

Keywords: Fermentation, encapsulation, internal ionic gelation, spectrophotometry.

1* Autor responsable

Recibido: Mayo 2019. Aceptado: Agosto 2019

Publicado como ARTÍCULO en la Revista Tecnológica Agroalimentaria 3(1): 34-41, 2019, ISSN 2395-8332

I. INTRODUCCIÓN

La NOM-142-SSA1-1995 define como una bebida alcohólica fermentada aquellas que son obtenidas por medio de la fermentación de materias primas de origen vegetal, con alto contenido de azúcares donde es muy importante para la fermentación, sirve como sustrato o bases para levaduras del género *Saccharomyces*, las cuales pueden obtener una graduación alcohólica de 2 a 55%.

Con este proceso solo se obtienen bebidas con un contenido máximo de alcohol equivalente a la tolerancia máxima del microorganismo.

La cantidad de azúcar o también llamado sustrato reacciona con el microorganismo por lo cual comienza la fermentación produciendo alcohol, donde el inóculo al no tener más sustrato dejará de producir alcohol fermentación logrando un grado de alcohol adecuado, en la que define qué tipo de bebida se cataloga.

Sagarpa, (2016) tiene a México como líder mundial de producción de mango y se especifica al estado de Puebla que se encuentra con un potencial de producción 4,197,997 hectáreas, ubicando a Puebla en el lugar 10 a nivel nacional. El Municipio de Coxcatlán se localiza en la parte sureste del estado de Puebla y es uno de los principales municipios que producen mango, siendo parte de ingresos y generación de trabajo para la población, el mango en muchas de las ocasiones no es aprovechado al 100% por lo general se presenta con un mal aspecto, menor calidad y esto se representa durante la distribución del producto. Investigaciones han demostrado que el mango (*Mangifera Indica*) aporta antioxidantes con actividad anticancerígenas, y esto se debe a la presencia de diversos compuestos fenólicos (CF) y provitaminas cuyo tipo y cantidad difiere por la variedad de mango y parte de la planta, su estado de madurez y su manejo pre y post cosecha son la presencia simultánea de estos compuestos con otras macromoléculas afecta seriamente su bioaccesibilidad y biodisponibilidad se ofrece y discute la información más reciente (revisión

sistemática) sobre el valor agroindustrial, funcional y nutricional del mango, uno de los frutos más consumidos y de mayor cultivo para consumo y exportación en México (Álvarez, 2015).

La caña de azúcar pertenece a la familia de las Gramíneas (*Gramineae*); de la especie *Saccharum officinarum*, se cultiva mucho en países tropicales y subtropicales de todo el mundo, La panela tiene un alto valor nutricional en la alimentación. El alto contenido de sales minerales de la panela representa un beneficio para el desarrollo del cuerpo. Este azúcar a diferencia del blanco, no es sometido a ningún refinado, centrifugado, depuración o cualquier otro tipo de procesado, por lo que conserva todas las vitaminas y minerales presentes en la caña de azúcar. Posee menos calorías que el azúcar blanco, ya que contiene de 310 a 350 calorías por 100 gramos frente a las 400 calorías del azúcar blanco. Además, presenta cantidades apreciables de diferentes vitaminas y minerales. Es por eso que debemos consumir este producto ya que es un producto natural y sano (Obando, 2010).

La guanábana ha sido utilizada ancestralmente en las zonas tropicales, debido a las diversas características y aplicaciones que se le han atribuido, pertenece a la familia de las *Annonáceas*, y se caracterizan por ser plantas leñosas de hojas enteras, sin estípulas, de flores hermafroditas y frutos por lo general en baya. El género de *Annona muricata* comprende unas 120 especies, la gran mayoría son originarias de las regiones tropicales de América, y en la actualidad se cultiva en la América tropical y subtropical, sudeste de Asia y en las islas Filipinas (Albornoz, 1997).

Su pulpa tiene un sabor bastante ácido, por lo que no suele consumirse fresca, sino en jugo, helados, cremoladas y confituras. La guanábana es astringente, colagoga (facilitan la expulsión de la bilis retenida en la vesícula biliar) y digestiva (González et al, 2018).

El concepto de encapsulación se ha fundamentado en la incorporación de una matriz

polimérica, la cual forma un ambiente capaz de controlar su interacción con el exterior. La técnica de microencapsulación ha sido descrita como un proceso en donde pequeñas partículas o gotas son rodeadas por recubrimientos homogéneos o heterogéneos integrado a la cápsula con varias aplicaciones, el significado de encapsulación es el empaquetado de materiales sólidos, líquidos o gaseosos mediante cápsulas que liberan su contenido de forma controlada bajo condiciones determinadas (Bryshila, et al. 2012).

El proceso de formación de gel se inicia a partir de una solución de sal de alginato y una fuente de calcio externa o interna desde donde el ion se funde hasta alcanzar la cadena polimérica, como consecuencia de esta unión se produce un reordenamiento estructural en el espacio resultando en un material sólido con las características de un gel. El grado de gelificación depende de la hidratación del alginato, la concentración del ion calcio y el contenido de los G-bloques (Bryshila, et al. 2012).

Los beneficios de la técnica de gelificación iónica es la conservación del producto que se encuentra dentro.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Para determinar del mejor tratamiento se utilizó el software Minitab 17 statistical software, se estableció un diseño de experimento por superficie de respuesta de la cual se establecieron 12 tratamientos como se muestra en la tabla 1.

De cada tratamiento se tomaron 100 mL de mosto colocando en un matraz Erlenmeyer de 250 mL, se filtraron con papel filtro #40. El líquido filtrado fue centrifugado a 4500 rpm por 15 min en tubos de cónicos de 50 mL. Se usó el sobrenadante para la determinación de las siguientes pruebas.

Tabla 1. Diseño de experimentos usando un factorial 2^k

| Tratamientos | Inóculo | °Brix |
|--------------|---------|-------|
| 1 | 0.0386 | 22.5 |
| 2 | 0.25 | 22.5 |
| 3 | 0.1 | 15 |
| 4 | 0.46 | 22.5 |
| 5 | 0.25 | 33.1 |
| 6 | 0.4 | 15 |
| 7 | 0.4 | 30 |
| 8 | 0.4 | 22.5 |
| 9 | 0.1 | 30 |
| 10 | 0.037 | 22.5 |
| 11 | 0.25 | 11.89 |
| 12 | 0.25 | 33.1 |

Determinación de °Brix

°Brix de acuerdo a la NMX-F-103-1982, se utilizó el método del refractómetro utilizando un refractómetro (Marca: Atago) con escalas de 0-30 y de 30-60; se tomó una gota de cada muestra experimental y se colocó en la tapa del refractómetro, obteniendo el resultado de manera ocular.

Determinación de densidad

Para la determinación de densidad se realizó por medio del método gravimétrico de acuerdo a la NMX-V-032-S-1982. Para ello se utilizó una probeta de 100ml, se pesó en una balanza analítica (Ohaus Pioneer) se taro, se colocó la muestra tomando el peso de la muestra en gramos, mediante la ecuación 1 establecida por la norma.

$$\rho = \frac{m}{v} \quad \text{EC. (1)}$$

Bajo la norma NMX-F-317-S-1978 se determinó pH con el potenciómetro (HANNA instruments), realizando una calibración con buffer 4 y 7, tomando como referencia 10 mL de la muestra, sumergiendo en el electrodo hasta obtener la lectura.

Determinación de acidez

Se determinó acidez mediante la norma NMX-F-102-S-1978 por el método volumétrico, se colocó en un matraz Erlenmeyer 10 mL de muestra diluida en 5 g de agua destilada, adicionando 3 gotas de fenolftaleína procediendo a una titulación por mL de gasto de NAOH 0.01N calculando la cantidad de ácido cítrico mediante la ecuación 2.

$$\text{ácido cítrico} \frac{(v)(N)(peq)}{M} \quad \text{EC. (2)}$$

Cuantificación de azúcares reductores

La concentración de azúcares reductores se realizó utilizando el método espectrofotométrico propuesto por Miller (1959). Se preparó el reactivo DNS, disolviendo 0.8 g de NaOH en 10 mL de H₂O destilada, se agregó 15 g de tartrato de sodio-potasio tetra hidratado y 0.5 g de DNS (ácido-3,5-dinitrosalisílico), se mezcló y se aforó con H₂O destilada en un matraz aforado (Kymax®) de 50 mL y posteriormente se guardó en un frasco ámbar a 4°C para su posterior uso. Se realizó una curva de calibración usando 0.5 mL de un patrón de glucosa al 0.4% (Sigma Aldrich, USA) y 0.5 mL de reactivo DNS, se calentaron a ebullición durante 5 min, los tubos se enfriaron a chorro de agua y se dejaron reposar por 5 min a temperatura ambiente y se agregaron 5 mL de H₂O a cada tubo. La lectura se realizó en un espectrofotómetro (Thermo Scientific modelo Genesys 10S uv-vis) a 540 nm.

Cuantificación de etanol

De acuerdo con lo descrito por Oviedo *et al.*, (2009), se preparó una solución oxidante la cual consistió en una mezcla formada por 4.165 g de dicromato de potasio y 250 mL de ácido

sulfúrico y posteriormente se aforó con agua destilada a 1 L (solución b), se preparó una solución saturada de carbonato de potasio (reactivo grado técnico, solución c). En tubos de ensayo se adicionaron 4 mL de la solución b y 2 mL de la solución c, esto gota a gota hasta que finalizó el burbujeo (solución d).

En tubos de ensayo de 16 mL se agregaron 2 mL de la solución a (muestra clarificada) y 2 mL de la solución d, se calentaron en baño María a temperatura entre 80 y 90°C durante 20 min, después del tiempo transcurrido se enfriaron a chorro de agua fría. La lectura se realizó en un espectrofotómetro (Thermo Scientific modelo Genesys 10S uv-vis) a 440 nm.

Determinación de biomasa

La determinación de biomasa se realizó por medio de conteo en cámara de Neubauer en el cual se colocó una gota de cada muestra obtenida, previamente diluidas 1-100, posteriormente se observó en un microscopio (Marca: Motic), una vez enfocada la cuadrícula se realizó el conteo empezando por la cuadrícula del medio posteriormente se contaron las células de los cuadrantes de cada esquina y para concluir se realizó la suma de las células de todos los cuadrantes.

Elaboración del encapsulado

Para la elaboración del encapsulado se utilizó la técnica de gelificación iónica, que consiste en usar alginato de sodio y cloruro de sodio.

Debido a esto se llevó a cabo en utilizar el 1% de alginato de sodio de acuerdo a (Castillo *et al.*, 2017), debido a que esta concentración presentaba una firmeza eficaz logrando la consistencia adecuada para el producto ya que las capsulas se encuentran en la bebida alcohólica y por lo tanto se podían degradar al estar demasiado tiempo en la solución.

Determinación de acetaldehído

Se procedió a la determinación del metabolito tóxico presente en el producto final, de acuerdo a

la NOM-142-SSA1-1995 se realizó la destilación de la bebida alcohólica a base de mango la cual se toman 200 mL de la muestra y 40 mL de agua destilada agregando perlas de ebullición en un matraz bola de fondo plano, posteriormente se arma el equipo de destilación en la que consiste un refrigerante, codo, un matraz bolo de fondo plano y mangueras de látex. Inmediatamente se destila la muestra por lo tanto se tiene que obtener un rendimiento de 100 mL del destilado, se procede a la determinación de aldehydos de acuerdo con la NOM-142-SSA1-2995, donde se toman 100 ml del destilado a un matraz Erlenmeyer de 250 mL la cual se agrega 100 mL de agua destilada y 20 mL de bisulfito de sodio 0.005 N, dejando reposar 30 minutos agitándolo ocasionalmente durante ese periodo de tiempo. Consecutivamente se añadieron 25 mL de la solución de yodo al 0.05 N, se agitó y tituló con tiosulfato de sodio a 0.05 N, hasta obtener un color amarillo pálido, al obtener este color se adicionó la solución de almidón como indicador, se continuó con la titulación hasta obtener una decoloración total de color azul.

Se preparó un testigo, tomando 100 mL de agua destilada adicionando la misma cantidad de bisulfito de sodio 0.05 N, dejando reposar 30 min y se adicionó la solución de yodo. Se realizó la titulación con tiosulfato de sodio 0.05 N hasta obtener el color amarillo pálido, agregando la solución de almidón, se continuó la titulación hasta la obtención de la decoloración total de color azul.

De acuerdo a la NOM-142-SSA1-1995 se utilizó la ecuación 3 que se estipula para la determinación de aldehydos:

$$A = \frac{(v1-v2*N*22*100}{M} * \frac{100}{\% Alc.vol} \quad EC. (3)$$

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con el diseño de experimental se tomó la muestra más favorable de la producción de etanol como se puede observar en la tabla 2.

Tabla 2. Diseño experimental para la elaboración de la bebida fermentada.

| Tratamientos | Inoculo | °Brix iniciales | °Brix Finales | °Brix Consumidos | Muestra | ABS | mg/mL | -1 | mg/mL | AR | finales | AR | Consumidos | °GL |
|--------------|---------|--------------------|------------------|---------------------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|---------|----|------------|-----|
| 1 | 0.0386 | 22.5 | 15.3 | 7.2 | 4.220 | 5.01609 | 50.1609 | 49.7241 | 0.4368 | 2.75656 | | | | |
| 2 | 0.25 | 22.5 | 12 | 10.5 | 3.887 | 4.63333 | 46.3333 | 45.7701 | 0.5632 | 3.16607 | | | | |
| 3 | 0.1 | 15 | 1 | 14 | 0.266 | 0.36391 | 3.6391 | 2.3609 | 1.2782 | 2.25656 | | | | |
| 4 | 0.25 | 22.5 | 9 | 13.5 | 4.332 | 5.14483 | 51.4483 | 47.7126 | 3.7357 | 4.7283 | | | | |
| 5 | 0.46 | 33.1 | 21 | 12.1 | 4.190 | 4.98161 | 49.8161 | 42.4368 | 7.3793 | 9.03019 | | | | |
| 6 | 0.4 | 15 | 1 | 14 | 2.811 | 3.39655 | 33.9655 | 5.6364 | 28.3291 | 4.38868 | | | | |
| 7 | 0.4 | 30 | 20 | 10 | 3.833 | 4.57126 | 45.7126 | 45.2184 | 0.4942 | 9.29434 | | | | |
| 8 | 0.4 | 22.5 | 18 | 4.5 | 4.233 | 5.03103 | 50.3103 | 50.3103 | 0 | 8.01132 | | | | |
| 9 | 0.1 | 30 | 20 | 10 | 3.968 | 4.72644 | 47.2644 | 43.2529 | 4.0115 | 9.52075 | | | | |
| 10 | 0.037 | 22.5 | 13 | 9.5 | 4.167 | 4.95517 | 49.5517 | 48.9195 | 0.6322 | 5.55849 | | | | |
| 11 | 0.25 | 11.89 | 0 | 11.89 | 3.412 | 4.08736 | 40.8736 | 38.4483 | 2.4253 | 4.31321 | | | | |
| 12 | 0.25 | 33.1 | 27 | 6.1 | 4.211 | 5.00575 | 50.0575 | 41.5747 | 8.4828 | 8.27547 | | | | |

De acuerdo a los resultados de la tabla 2, se seleccionó el tratamiento 5, debido a que fue el que el produjo mayor cantidad de etanol (9.03%) y tuvo mayor consumo de sustrato (7.38%), lo cual hace que la fermentación sea más redituable (ver figura 1).

El proceso de fermentación es una reacción exotérmica (25,5 kcal) y permite obtener como máximo 0,51 kg de alcohol por kg de azúcar fermentado, el resto se libera como dióxido de carbono, aunque la concentración de alcohol en la disolución no puede superar los valores (12-15%), debido a que son tóxicos para las levaduras (Romero, 2010).

El tratamiento 5 presentó una velocidad de crecimiento específico (μ) de 0.196 h^{-1} y un tiempo de duplicación (td) de 2.32 h^{-1} (ver tabla 3). De acuerdo a estudios realizados por Valdés *et al.*, 2015, la producción de etanol utilizando levadura *S. cerevisiae* se reportaron valores de 50.5 g/L a las 24 horas de la fermentación. Nuestros datos reportan 13.556 g/L de etanol que es menor a lo reportado por Valdés *et al.* (2014), debido a que se utilizó un sustrato diferente como es el mango, sin embargo, es una buena alternativa para la producción de etanol debido al bajo precio que tiene el mango en esta región.

Tabla 3. Resultados de los parámetros cinéticos

| Parámetros cinéticos | Unidades | |
|----------------------|------------|-----------------------------------|
| μ | 0.1959 | h^{-1} |
| K_s | 0.01480106 | g/L |
| td | 2.3232981 | g/L^{-1} |
| $Y_{x/s}$ | 1585956.42 | Cel/gS |
| $Y_{x/p}$ | 4831808.79 | Cel/gP |
| $Y_{p/s}$ | 1.37345491 | $^{\circ}\text{GL/g de sustrato}$ |
| P_f | 13.556 | g/L |

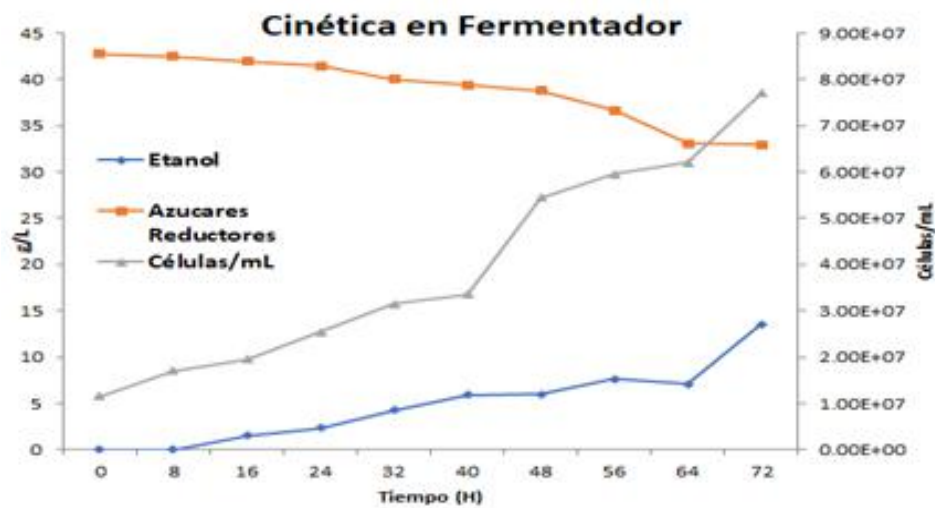


Figura 1. Representación gráfica de la cinética de la fermentación.

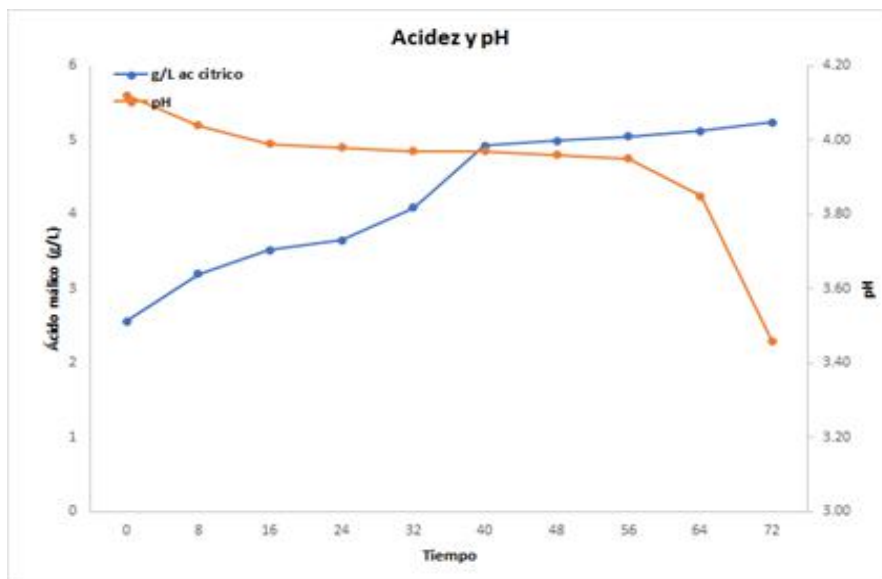


Figura 2. Gráfica de la cinética de acidez y pH del producto fermentado

En la figura 1, se observa el comportamiento de la acidez y pH durante la fermentación. Se observa un comportamiento típico de una fermentación, donde aumenta la acidez y el pH disminuye durante el proceso de fermentación.

Tabla 4: Resultados de la determinación de aldehídos

| Resultados De la muestra | Límite máximo NOM-142-SSA1 -1995 | Otras bebidas (Molina, 2007) |
|--------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| 27.15 mg/ml | 40 mg/100 ml | 70 mg/ml |

La tabla 4 muestra los resultados de la presencia de aldehídos en la bebida alcohólica, donde la cantidad de aldehídos es de 27.15 mg/mL que es menor a lo establecido por la NOM-142-SSA1-1995 que marca como máximo 70 mg de aldehídos de (Molina, 2007). El producto cumple con los límites permisibles de la norma, lo cual evita daños a la salud como deshidratación, insuficiencia renal, vómito, náuseas e irritación en el esófago y estómago.

IV. CONCLUSIONES

Se obtuvo una bebida fermentada a base de mango con encapsulado de guanábana con 13.5 °GL. El mejor tratamiento optimizado para la fermentación fue de 33 °Brix y 4.6 g de inóculo/L, de acuerdo a la metodología de superficie de respuesta. La bebida obtenida tiene 27.15 mg/mL de aldehídos presentes, siendo segura para su consumo con base a la NOM-142-SSA1 -1995. De acuerdo a cada uno de los valores obtenidos en las diferentes pruebas realizadas se asegura que es un producto apto para su consumo aprovechando los recursos de la región.

V. REFERENCIAS

Albornoz, A. (1997). "La guanábana: revolución en la medicina natural". Medicina tradicional Herbaria.

<http://www.agrytec.com/agrícola/index.php>.htm.

- Almazán-Del Olmo, O., Cabello-Balbin, A. (1988). Historia de la levadura. Ed. Universidad Nacional de Quilmes, Cuba.
- Romero-Salvador, Arturo. (2010). Aprovechamiento de la biomasa como fuente de energía alternativa a los combustibles fósiles. Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales Real Academia de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 104, 15.
- Bryshila Lupo P., González Azón, C., Maestro Garriga, A. (2012). Microencapsulación con alginato en alimentos. *Revista Venezolana de ciencia y Tecnología de Alimentos* (3), 131-151.
- Castillo, S. L., Alvarado, J. M., Baez, J.G., Macías, E., Ramírez-Baca, P., Candelas-Cadillo, M. G., Gallardo, C. T. (2017). Diseño de microcápsulas de alginato con matriz prebiótica de aloe vera para la encapsulación de *Lactobacillus plantarum*. *Investigación y Diseño en Ciencias y Tecnología de Alimentos*, 2, 6.
- Hitesh, Jagani, Karteek., Hebbar, Sagar, S., Gang, P., Vasanth, Raj., Raghu Chandrashekhar, H. and Venkata, Rao. (2010). "An Overview of Fermenter and the Design Considerations to Enhance Its Productivity". *Pharmacologyonline* 1: 261-301.
- NOM-142-SSA1/SCFI-2014, Bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial. (2014).
- Obando, Paulina. (2010). La panela, valor nutricional y su importancia en la gastronomía. Universidad técnica del norte facultad ciencias de la salud tecnología en gastronomía, 1, 14.
- Pelegrine D, Silva F, Gasparetto C. (2002). Rheological Behavior of Pineapple and Mango Pulps. *Lebensm Wiss Technol.* 35:645-8.

- Leiva González, Segundo, Gayoso Bazán, Guillermo, & Chang Chávez, Luis. (2018). *Annona muricata* L. "guanábana" (Annonaceae), una fruta utilizada como alimento en el Perú prehispánico. *Arnaldoa*, 25(1), 127-140.
- Valdés, A., Bruno, D., Mota., Cristóbal, N. (2015). Cinética para la producción de bioetanol usando levadura *Sacharomyces cerevisiae*. Guadalajara: ICIDCA.