

OBTENCIÓN DE VINAGRE A PARTIR DE SIROPE DE FRUCTOSA

VINEGAR PRODUCTION FROM FRUCTOSE SYRUP

Layanis Mesa^{1}, Nancy López², Lisbet Hastie² y Erenio González¹*

¹ Centro de Análisis de Procesos. Facultad de Química y Farmacia. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5 ½

² Departamento de Ingeniería Química. Facultad de Química y Farmacia. Universidad Central "Marta Abreu" de Las Villas. Carretera a Camajuaní km 5 ½

Recibido: Diciembre 20, 2013; Revisado: Marzo 1º, 2014; Aceptado: Marzo 18, 2014

RESUMEN

En este trabajo se realizó el estudio de las condiciones de obtención de vinagre a partir de sirope de fructosa respondiendo a los objetivos de diversificación de una empresa azucarera cubana. Se realizó la prefermentación con miel final como sustrato. En estas condiciones se logró una concentración de etanol del orden del 8%, lo que implica buena calidad del vino para la fermentación acética. Se aplicó un diseño experimental del tipo 2² para el análisis del comportamiento de los parámetros que influyen en la fermentación acética. El volumen del pie acético y la temperatura resultaron variables significativas en esta fermentación.

Palabras clave: vinagre, fructosa, fermentación acética.

ABSTRACT

In this work, the study of the conditions of vinegar production from fructose syrup was carried out, responding to the diversification objectives of Cuban sugary company. The pre-fermentation was made with molasses as substrate. The ethanol concentration reached under these conditions was 8% approximately, what implies good quality of the wine for acetic fermentation. An experimental design of the type 2² was applied for the analysis of the behavior of the parameters that influence in the acetic fermentation. The volume of the acetic foot and the temperature were significant variables in this fermentation.

Key words: vinegar, fructose, acetic fermentation.

Copyright © 2014. Este es un artículo de acceso abierto, lo que permite su uso ilimitado, distribución y reproducción en cualquier medio, siempre que la obra original sea debidamente citada.

* Autor para la correspondencia: Layanis Mesa, E-mail: leyanimg@uclv.edu.cu

1. INTRODUCCIÓN

El vinagre ha formado parte de la alimentación humana desde la antigüedad como condimento, conservador de alimentos y bases para remedios sencillos en hombres y animales.

El vinagre es esencialmente una solución diluida de ácido acético obtenido por fermentación, a la que se le agregan sales y extractos de otras materias. Estas sustancias adicionales, cuya naturaleza y cantidad exacta dependen sobre todo del ingrediente utilizado, dan al producto su cualidad distintiva. El azúcar es la base en la producción del vinagre. Cualquier solución diluida de un azúcar fermentable puede transformarse en vinagre en condiciones favorables. Muchos jugos de frutas se prestan para este fin si contienen en proporción apropiada azúcar y otras sustancias necesarias o deseables (Muller, P., 2005).

Todo vinagre se hace por dos procedimientos bioquímicos distintos y ambos son el resultado de la acción de microorganismos. El primer proceso es llevado a cabo por la acción de fermentos que transforman el azúcar en alcohol y en el gas dióxido de carbono, esta es la fermentación alcohólica. El segundo proceso resulta de la acción de un grupo amplio de aceto-bacterias que tienen el poder de combinar el oxígeno con el alcohol, para así formar ácido acético. Esta es la fermentación acética o acetificación (Pizarro, O., 2005).

Desde hace algunos años el Grupo Empresarial Azucarero (GEA) en Cuba, está sometido a un proceso de cambios y transformaciones cuyos objetivos fundamentales son acelerar el incremento de los ingresos netos generados y disminuir los costos de producción. No obstante a ello, la situación actual, no solo demanda que las empresas del sector azucarero sean más eficaces y eficientes, sino también que contribuyan a la diversificación de sus producciones.

En este sentido, una empresa productora de azúcar refino, da sus pasos para la diversificación de sus producciones teniendo interés marcado en la utilización, como materia prima, del sirope de fructuosa para obtener productos de alto valor agregado como vinos y vinagre. Considerando que en Cuba, toda la producción de vinagre se realiza usando la sacarosa como sustrato para la fermentación alcohólica, plantean que la utilización del sirope de fructuosa para la obtención de vinagre podría ser una alternativa interesante para introducir en el mercado un aderezo de sabor distinto con características organolépticas diferentes y con la ventaja de otorgar un valor agregado a un producto obtenido por dicha empresa.

Por lo que el objetivo general del trabajo es: Establecer las condiciones tecnológicas para la fermentación etanólica y acética a partir del sirope de fructosa.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Métodos analíticos

Determinación del grado alcohólico en fermento (NC 423, 2006)

Método Picnométrico

Se toman 100 ml de fermento, más 50 ml de agua destilada y ambos son adicionados a un balón, se calienta y se hace que la mezcla ebulle, a través de un condensador, se

recoge un volumen de 50 ml de destilado en un matraz de 100 ml y se enrasa con agua destilada.

Con este producto se procede a realizar los análisis de medición del grado alcohólico que consiste en realizar un conjunto de pesadas al picnómetro vacío, con agua destilada y hervida, y con el destilado. Entonces a través de la fórmula se obtiene la gravedad específica y con ese valor se busca en la tabla Determinación del alcohol en volumen y en peso por ciento, a 15 °C Donde se obtiene el valor del grado °GL

Todo el procedimiento se realizó a 15 °C pues a esa temperatura es a la que viene referido el valor del grado alcohólico.

$$S = 0,99913 (C - A)/(B - A)$$

S - Gravedad relativa

A – peso del picnómetro vacío

B – peso del picnómetro con el agua destilada y hervida

C – peso del picnómetro con el destilado

Determinación del grado de acidez

Se transfiere 5 ml de vinagre a un frasco cónico de 250 ml. Se añaden 100 ml de agua, se adicionan 2 o 3 gotas de la solución indicadora de fenolftaleína y se valoran con la solución de hidróxido de sodio 1 N. Se agita vigorosamente hasta la aparición del color rosado que permanecer estable 30 s.

$$\frac{gHac}{l_{disol}} = \frac{V_{NaOH} N_{NaOH} eq - gHac}{V_{muestra}}$$

Donde:

V_{NaOH} : Volumen gastado de hidróxido de sodio.

N_{NaOH} : Normalidad del hidróxido de sodio.

eq-gHAc: Equivalente en gramo de ácido acético.

$V_{muestra}$: Volumen de la muestra.

La determinación de grado Bx y pH se realizan utilizando los equipos correspondientes, polarímetro y pHmetro, respectivamente.

El conteo celular se realiza utilizando cámara de Neubauer.

Análisis estadístico

Para el estudio de la fermentación acética se aplicó un diseño experimental del tipo 2², donde las variables independientes fueron el % en volumen del pie acético y la temperatura de la fermentación. Los resultados fueron procesados usando el paquete estadístico STATGRAPHIC plus 4.1.

3. ANÁLISIS EXPERIMENTAL DE LAS CONDICIONES DE OBTENCIÓN DEL VINAGRE

Experimento inicial de la obtención de vinagre a partir del sirope de fructosa

En un estudio previo realizado en el departamento de Ingeniería Química (Suárez, L y Rodríguez, T., 2012) acerca de la fermentación alcohólica de fructosa, en los cuales se

comprobó que la velocidad de fermentación de la fructosa aumentaba cuando se utilizaba un prefermento con miel de caña (datos no mostrados), por tal motivo se continuó con el análisis de esta variante.

Primeramente, se prepara la miel final para la prefermentación. Se comienza con un Brix de 13° y se le añaden los nutrientes fosfato y sulfato de amonio en las proporciones establecidas para suministrar la fuente de nitrógeno necesaria para la correcta fermentación de los azúcares (Gálvez, 2000). La cepa de levadura (*Saccharomyce cerevisiae* Der CIEMAT 1701) utilizada es clasificada como de altos rendimientos de etanol. En vistas de que la fermentación de fructosa en etanol puede ser un proceso más lento, se decidió comenzar la fermentación con una alta carga de células. El conteo celular se hizo usando cámara de Neubauer.

La prefermentación tuvo una duración de 11 horas y el número de células final estuvo en el orden de $2,8 \cdot 10^9$ cel/mL.

Para la fermentación del sirope de fructosa, se prepara una solución a 15°Bx y se le adicionan también fosfato y sulfato de amonio en las proporciones establecidas. Se utiliza una relación de volumen de fermentación y prefermento de 1/10. Las muestras son esterilizadas en autoclave (121°C durante 20 minutos) para evitar contaminaciones microbianas. Los resultados se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de la fermentación del sirope de fructosa

<i>Bx inicial</i>	<i>Bx final</i>	<i>% alcohólico final (v/v)</i>	<i>pH final</i>
15	8,5	13	4,2

Productividad de la fermentación alcohólica: 2,12g/Lh

La fermentación tuvo un tiempo de duración de 48 horas, por lo que el tiempo de fermentación es más largo que cuando se utilizan otros sustratos como jugos y mieles. Este comportamiento coincide con lo reportado por otros autores al fermentar la fructosa, debido a la preferencia de la levadura por otros azúcares (Pizarro, O., 2005, Tesfaye V., et al. 2002).

Müller (2005) plantea que se puede obtener vinagre a partir de vinos con altas graduaciones alcohólicas, por este motivo se decidió utilizar este vino para la fermentación acética. Para ello se utilizó un pie acético obtenido de un vinagre casero. Para la fermentación acética se utilizó un 5 % de pie acético del volumen total, se le adicionó fosfato de amonio en una concentración de 1g/l, suministro continuo de aire y temperatura ambiente (30-32°C). La fermentación acética ocurrió en un tiempo de 40 horas y se obtuvo un porcentaje de acidez en el orden del 3 % y un nivel de etanol residual del 4 %. Los resultados de la fermentación acética pudieran estar dados por las altas concentraciones de etanol del vino, ya que la literatura plantea que a altas concentraciones el etanol puede causar un efecto inhibitorio de las bacterias, aunque existen propuestas tecnológicas que plantean que se puede realizar la fermentación acética a altas concentraciones de etanol (Pizarro, O., 2005).

De acuerdo a las características que debe tener el vinagre para el consumo humano, que son 5 % de acidez y menos del 1 % de etanol residual (de Ory I et al, 2002), se continuó

con el estudio del proceso y además, se tuvo en cuenta las características de la instalación de la planta de producción de vinagre en la empresa en la cual se prevé instalar la planta.

3.1. Acercamiento a las condiciones industriales desde el laboratorio de la obtención de vinagre a partir de sirope de fructosa

Fermentación alcohólica

De acuerdo a los resultados obtenidos se continuó con el estudio a escala de laboratorio pero de forma similar a como se haría en la instalación de la empresa interesada. En este caso se hace el mismo procedimiento que en el estudio anterior, pero los sustratos no se esterilizan. Se controla la posible contaminación microbiana por el análisis de pH. Además, se utiliza una menor concentración de carga de levadura. Los experimentos se hacen por duplicado.

En este caso, la prefermentación tuvo una duración de 20 horas y se alcanzó una concentración de células de levadura de $1,9 \times 10^8 \pm 0,1$ células/mL. El pH se mantuvo en el rango de 4,2 a 4,5.

En la tabla 2 se muestran los resultados de la fermentación del sirope de fructosa usando el prefermento descrito en el párrafo anterior.

Tabla 2. Resultados de la fermentación alcohólica del sirope de fructosa usando las materias primas sin esterilizar

<i>Experimento</i>	<i>Bx inicial</i>	<i>Bx final</i>	<i>pH inicial</i>	<i>pH final</i>	<i>% alcohólico final</i>	<i>N cél/mL</i>
1	15	6,5±0,049	4,33	2,41±0,065	8,4±0,41	1,28±0,08*10 ⁸

Como se observa, los resultados en cuanto a los valores del % alcohólico de esta fermentación son inferiores a los obtenidos en el experimento anterior. Las causas pueden ser debidas al uso de una menor concentración de levaduras en la prefermentación. También, el pH en el transcurso de la fermentación llega a niveles cercanos a 2, el cual no es el óptimo para el desarrollo de la levadura (4,5-6), esto evidencia que el sirope de fructosa tiene poca capacidad buffer. Este comportamiento de pH es similar al proceso de fermentación de jugos azucarados debido a que estos sustratos tienen menor capacidad buffer que las mieles de caña (Otero, M., 2002). No obstante, se obtienen resultados en cuanto a concentraciones alcohólicas en la fermentación que pueden ser usados para la obtención de vinagre.

Esta concentración de etanol es la comúnmente usada en las vinagreras cubanas, la cual no es alcanzada por la fermentación en sí, sino que el vino se rectifica con aguardiente o alcohol para alcanzar esta concentración. En este caso es meritorio destacar que bajo las condiciones de este estudio usando sirope de fructosa se alcanzó la concentración de etanol requerida sin necesidad rectificar, lo cual significa menos gastos de materia prima en el proceso de obtención de vinagre a partir de sirope de fructosa.

También es necesario señalar que incorporando la etapa de prefermentación con miel, se crea el pie de levadura y en el proceso habría menos gastos de levadura. En los

procesos instalados en Cuba, no se hace esta etapa y se añade continuamente levadura a las fermentaciones, lo cual provoca mayores gastos de materia prima y posiblemente sea la causa de la demora en la fermentación alcohólica (7 u 8 días).

Fermentación acética

Para la fermentación acética se utilizaron los vinos obtenidos de la fermentación alcohólica del sirope de fructosa, los cuales tienen un % alcohólico promedio de $8,4 \pm 0,41$.

Para el estudio de la fermentación acética se usó el mismo pie acético casero utilizado en el experimento anterior. Se estudiaron, en este caso, la influencia de dos factores, la temperatura de fermentación y volumen de pie acético. Para ello se utilizó un diseño experimental factorial completo del tipo 2^2 .

Los volúmenes de fermentación fueron de 200 mL. Se midieron como parámetros respuestas el % de acidez y % de etanol residual. En la tabla 3 se muestra las variables y niveles del diseño, así como los resultados.

Tabla 3. Resultados experimentales del diseño 2^2 aplicado al estudio de la fermentación acética a las 40 horas

<i>Experimento</i>	<i>Variables independientes</i>		<i>Parámetros respuestas</i>	
	<i>X₁ Pie de vinagre, % (v/v)</i>	<i>X₂ Temperatura, °C</i>	<i>Acidez, %</i>	<i>Etanol residual, %</i>
1	10	40	3,12±0,03	5,76±0,05
2	10	33	3,36±0,04	4,20±0,04
3	5	40	2,62±0,05	4,81±0,05
4	5	33	2,16±0,03	5,76±0,03

Como se observa en la tabla 3 los valores de acidez no son los requeridos para el vinagre. No obstante, se señala que se obtienen valores por encima de 3 % superior al obtenido en el experimento descrito en el acápite 3 y en menor tiempo de fermentación. Los resultados indican que el pie acético no se encontraba en óptimas condiciones debido a que fue obtenido de forma casera.

Se realiza el análisis estadístico de la influencia de las variables y los resultados se muestran en la tabla 4

Tabla 4. ANOVA para los parámetros respuestas % de acidez y % de etanol residual para un 95% de confianza

<i>Variables</i>	<i>Acidez, %</i>		<i>Etanol residual, %</i>	
	<i>F-ratio</i>	<i>P-value</i>	<i>F-ratio</i>	<i>P-value</i>
X ₁ Volumen de pie acético	31713,00	0,0000	1323,00	0,0000
X ₂ temperatura	552,27	0,0002	1281,33	0,0000
X ₁ X ₂	5577,00	0,0000	21336,33	0,0000
R ²	99%		99%	

Como se observa en la tabla 4 para los dos parámetros respuestas las 2 variables estudiadas resultaron significativas.

Para el caso del % de acidez el modelo estadístico que describe el comportamiento está representado en la ecuación 1.

$$\text{Acidez, \%} = 2,83 + 0,42X_1 + 0,05X_2 - 0,17X_1X_2 \quad (1)$$

La temperatura y el volumen de inóculo influyen de forma positiva, o sea, aumenta el % de acidez a medida que aumentan los niveles de estas variables en el rango estudiado, pero teniendo en cuenta que la interacción de las variables también es significativa y con mayor significación que la temperatura, se debe realizar un análisis en este sentido. La interacción resulta significativa con signo negativo, lo cual indica que cuando se usa un mayor volumen de pie acético (X_1) se debe usar el nivel inferior de temperatura estudiado en este caso, y viceversa.

Este rango de temperatura fue escogido debido a que la gran mayoría de la literatura plantea que la fermentación acética debe hacerse en un rango entre 28 y 33°C, pero en otra vinagrera existente en el país, que tiene una tecnología similar a la que se pretende instalar en la empresa utiliza una temperatura en el intervalo de 40-42°C, por este motivo el intervalo de temperatura escogido para analizar fue de 33 a 40°C. No obstante, según las condiciones de la instalación de la empresa, la fermentación acética se realizará a temperatura ambiente, por lo que los autores se inclinan por utilizar en estudios posteriores la temperatura de 33°C cercana a la temperatura ambiente de nuestro país.

En el caso del parámetro respuesta % de etanol residual, el modelo estadístico se representa en la ecuación 2.

$$\text{Etanol residual, \%} = 5,12 - 0,15X_1 + 0,15X_2 + 0,63X_1X_2 \quad (2)$$

Según la ecuación 2 cuando se utiliza un menor volumen de pie acético (5 %) se obtiene mayor etanol residual, lo cual no es beneficioso para el proceso de obtención de vinagre, donde el % de etanol residual debe ser inferior al 1 % v/v. Cuando se utiliza mayor temperatura también se obtiene mayor etanol residual, lo cual pudiera estar explicado por la desnaturalización de las proteínas presentes en las estructuras celulares de las bacterias acéticas y eso provoca un enlentecimiento de su metabolismo y su capacidad de oxidar el etanol para convertirlo en ácido acético (Bortolini, F., 2001).

De acuerdo a los resultados obtenidos, se decide realizar un nuevo experimento bajo las siguientes condiciones: Temperatura ambiente promedio de 32°C, aireación constante y volumen de pie acético del 20 % v/v.

Los resultados obtenidos a las 24 horas de fermentación acética fueron: 3,6 % de acidez y etanol residual 3,8 %.

Este resultado tuvo un comportamiento superior en cuanto a acidez y % de etanol residual en comparación con los obtenidos con la aplicación del diseño experimental, lo cual evidencia los resultados obtenidos y discutidos. En este caso se utilizó la temperatura ambiente, la cual coincide con el nivel inferior de la estudiada y se utilizó un pie acético del 20 % superior al mayor nivel del empleado en el diseño experimental. Aunque los resultados aún no fueron los adecuados para la obtención de vinagre, lo cual se considera que está vinculado a la calidad del pie acético que no era la más

adecuada, estos resultados muestran la factibilidad técnica de la obtención de vinagre a partir de sirope de fructosa.

4. CONCLUSIONES

En la fermentación alcohólica del jarabe de fructosa se logran concentraciones alcohólicas en el orden del 8% en un período de 48 horas. Los vinos obtenidos son adecuados para la fermentación acética.

Los mayores porcentos de acidez en la fermentación acética se alcanzan cuando se emplea una temperatura de 33°C y un volumen de pie acético del 20%, demostrándose que ambas variables tienen influencia significativa sobre la acidez.

REFERENCIAS

1. Bortolini, F. 2001. Comportamiento de la fermentación alcohólica y acética de zumos de kiwi (*Actinidia deliciosa*); composición de mostos y métodos de fermentación acética. Resources, Conservation and Recycling, 3: 1532-37
2. de Ory, I., Romero, L. y Cantero, D. 2002. Optimum starting- up protocol of a pilot scale acetifier for vinegar production. Applied Microbiol. Biotechnol 143: 198-206
3. Gálvez, L (2000). Manual de los derivados de la caña de azúcar”. GEPLACEA. México
4. Muller Macías, P. A. 2005. Elaboración de vinagre a partir de vino de Arándano [Online]. Chile: Universidad Austral de Chile. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fam958e/doc/fam958e.pdf>
5. Norma cubana 423. 2006: Bebidas no alcohólicas—Determinación de la acidez valorable.
6. Otero, M. 2002. Las mieles finales de caña. Composición, propiedades y usos. Monografía. Editorial ICIDCA
7. Pizarro Casner, O. A. 2005. Obtención de Condiciones de Elaboración de Vinagre de Arándanos (*Vaccinium corymbosum*) Utilizando Torta de Prensa [Online]. Valdivia – Chile: Universidad Austral de Chile. Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2005/fap695o/doc/fap695o>
8. Suárez, L. y Rodríguez, T. 2012. Estudio experimental preliminar para la obtención de vinagre a partir de fructuosa. Proyecto de Curso, Universidad Central "Martha Abreu" de Las Villas.
9. Tesfaye, W., Morales, M., García-Parrilla, M. Y. y Troncoso, A. 2002. Wine Vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. Biotechnology and Bioengineering 42: 53-60