



EDUCACIÓN

SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTLA GUTIÉRREZ

**INFORME FINAL DE RESIDENCIA PROFESIONAL
EVALUAR LA CAPACIDAD DE AGENTES
CLARIFICANTES EN BEBIDAS FERMENTADAS DE
CARAMBOLA Y NANCE**

INGENIERÍA QUÍMICA

PRESENTA:

GÉNESIS LEÓN PINACHO

ING. JORGE ARMANDO GOMEZ SALINAS

TUXTLA GUTIÉRREZ, CHIAPAS

ENERO 2023

Agradecimientos

A Dios, por permitirme llegar a este punto de mi vida, guiarme en cada paso, por su infinita bondad al llenarme de tantas bendiciones y amor en el camino.

Al Instituto Tecnológico de México Campus Tuxtla Gutiérrez, por los años brindados a mi educación y formación profesional.

Gracias a mis asesores, el ING. Jorge Armando Gómez Salinas y la Mtra. María Laura Porraz Ruíz, por su apoyo, paciencia y los conocimientos que me brindaron durante mi tiempo en el desarrollo del proyecto.

A mi papá, porque a pesar de la distancia siempre estuvo en los momentos importantes de mi formación, por cuidar de mí y estar pendiente de mi bienestar.

Especialmente a mi mamá porque sin ella no podría, por estar siempre y animarme a nunca rendirme, porque ella es mi sostén, es la persona a la que recurro siempre que me siento que ya no puedo y darme el ejemplo de una mujer fuerte, valiente, amorosa y virtuosa.

Resumen

En el presente proyecto de investigación se desarrolló la elaboración de dos bebidas fermentadas en base a Carambola y Nance, utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, aplicando grenetina, bentonita, un clarificante comercial y la mezcla de grenetina con bentonita para su clarificación. Se resolvieron los principales problemas en el estudio, que fueron la acidez de los frutos tratados, además de la turbidez, misma que podría generar el rechazo del consumidor. Se estandarizó las condiciones del mosto. Se determinó cuál de los cuatro clarificantes de distinto origen actúa mejor en la etapa de clarificación en frutos de distinta especie, produciendo una bebida con un bajo nivel de turbidez y agradable a la vista. Se realizaron análisis fisicoquímicos (pH, grados brix, acidez total y volátil, grado alcohólico), análisis bacteriológico y pruebas organolépticas (color, aroma, sabor y apariencia) contando con panelistas. Se determinó la actividad clarificante usando pruebas espectrofotométricas para conocer si la actividad de los clarificantes en las bebidas fue satisfactoria.

Palabras clave: *Fermentación, Saccharomyces cerevisiae, Clarificación, Nanche, Carambola.*

Abstract

In the present research project, the elaboration of two fermented drinks based on Carambola and Nance was demonstrated, using the yeast *Saccharomyces cerevisiae*, applying gelatin, bentonite, a commercial clarifier and the mixture of gelatin with bentonite for clarification. The main problems in the study were resolved, which were the acidity of the treated fruits, in addition to turbidity, which could generate consumer rejection. The must conditions were standardized. It will be determined which of the four fining agents of different origin works best in the clarification stage in fruits of different species, producing a drink with a low level of turbidity and pleasing to the eye. Physicochemical analyzes (pH, brix degrees, total and volatile acidity, alcoholic strength), bacteriological analysis, and organoleptic tests (color, scent, flavor, and appearance) were performed with panelists. The fining activity will be determined using spectrophotometric tests to find out if the fining activity in the beverages was satisfactory.

Keywords: *Fermentation, Saccharomyces cerevisiae, Clarification, Nanche, Carambola.*

Índice

Agradecimientos	2
Resumen	3
Abstract.....	3
Introducción	9
Descripción del área del trabajo.....	10
Problemas a resolver	11
Objetivos.....	12
General.	12
Específicos.....	12
Justificación	13
Marco teórico	14
Carambola.....	14
Nance.....	14
Bebidas fermentadas.....	14
Levaduras vínicas	15
Saccharomyces cerevisiae.....	16
Condiciones que intervienen en la fermentación alcohólica.....	16
Temperatura	16
pH.....	17
Grados Brix.....	17
Clarificación de vinos.....	17
Clarificantes más usados en la industria enológica.....	18
Clarificantes minerales	18
Tierras clarificantes.....	18
Tierras activadas	18
Bentonita	18
Clarificantes orgánicos	19
Albúmina de huevo	19
Caseína	19
Ictiocola o cola de pescado.....	19
Grenetina.....	19
Metodología	20

Lugar de ejecución	20
Materia Prima	20
Material Biológico	20
Obtención y selección de la materia prima	20
Lavado y refrigeración de los frutos	21
Activación de la levadura “Semilleo”	21
Pelado y trozado	21
Pulpeado	21
Pesado y proceso de filtrado.....	21
Caracterización del fruto	21
Acondicionamiento del mosto	22
Regulación del pH.....	22
Proceso de esterilización	22
Inoculación de la levadura	22
Elaboración del reactor de fermentación	22
Pesado y proceso de filtrado.....	22
Caracterización del fruto	22
Acondicionamiento del mosto	23
Regulación del pH.....	23
Inoculación del reactor de fermentación	23
Proceso de fermentación.....	23
Segundo proceso de filtrado.....	23
Clarificación.....	23
Trasiego	24
Análisis fisicoquímicos.....	24
Determinación de pH	24
Determinación de solidos solubles.....	24
Determinación de acidez total.....	24
Determinación acidez volátil	25
Determinación de azucares reductores.....	26
Grado alcohólico.....	26
Resultados y discusión	28
Análisis fisicoquímico de la fruta.....	28
°Brix	29

Análisis de pH	31
Acidez total.....	33
Acidez volátil	35
Azúcares reductores.....	37
Grado alcohólico	39
Clarificación.....	40
Clarificación de carambola.....	40
Clarificación de Nance	42
Conclusión	44
Bibliografía.....	45
Anexos.....	47

Índice de Anexos

Anexo 1 Las funciones clave de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en la producción de bebidas fermentadas.	47
Anexo 2 Tabla sobre los principales clarificantes vínicos, por la claridad y brevedad de exposición.	48
Anexo 3 Tabla de determinación de pH en Mostos de Averrhoa carambola y <i>Byrsonima crassifolia</i> L. durante el proceso de fermentación.	49
Anexo 4 Tabla de determinación de Grados brix en Mostos de Averrhoa carambola y <i>Byrsonima crassifolia</i> L. durante el proceso de fermentación.	49
Anexo 5 Tabla de determinación de Acidez total en Mostos de Averrhoa carambola y <i>Byrsonima crassifolia</i> L. durante el proceso de fermentación.	50
Anexo 6 Tabla de determinación de Acidez volátil en Mostos de Averrhoa carambola y <i>Byrsonima crassifolia</i> L. durante el proceso de fermentación.	50
Anexo 7 Tabla de determinación de Azúcares reductores en Mostos de Averrhoa carambola y <i>Byrsonima crassifolia</i> L. durante el proceso de fermentación.	50
Anexo 8 ilustración de la Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> de Laboratorio de Microbiología ITTG.....	51
Anexo 9 Matrices semilla de carambola y nance después del proceso de esterilización	51
.....	51
Anexo 10 Mostos de Carambola y Nance en proceso de fermentación.....	52
Anexo 11 Mostos de Carambola en proceso de clarificación.....	52

Índice de Figuras

Figura 1 Evaluación de los °Brix respecto al tiempo Averrhoa carambola L.	29
Figura 2 Evaluación de los °Brix respecto al tiempo <i>Byrsonima crassifolia</i> L.	29
Figura 3 Comportamiento del pH de Averrhoa carambola L. respecto al tiempo	31
Figura 4 Comportamiento del pH de <i>Byrsonima crassifolia</i> L.....	31
Figura 5 Comportamiento de la acidez total de Averrhoa carambola L.	33
Figura 6 Comportamiento de la acidez total de <i>Byrsonima crassifolia</i> L.	33
Figura 7 Comportamiento de la acidez volátil de Averrhoa carambola L.....	35
Figura 8 Comportamiento de la acidez volátil de <i>Byrsonima crassifolia</i> L.	35
Figura 9 Azúcares reductores presentes en los tratamientos de Averrhoa carambola...37	

Figura 10 Azúcares reductores presentes en los tratamientos de <i>Byrsonima crassifolia</i> L.	37
Figura 11 Datos de la clarificación de la tercera corrida de <i>Averrhoa carambola</i> L. a 400 nm.....	40
Figura 12 Datos de la clarificación de la tercera corrida de <i>Averrhoa carambola</i> L. a 450 nm.....	40
Figura 13 Datos de la clarificación de la segunda corrida de a 400 nm de <i>Byrsonima crassifolia</i> L.....	42
Figura 14 Datos de la clarificación de la segunda corrida de a 450 nm de <i>Byrsonima crassifolia</i> L.....	42

Introducción

La fermentación es una de las técnicas ancestrales más usadas para conservar, producir o transformar alimentos y bebidas, no sólo en Mesoamérica sino en todo el mundo. Esta práctica consiste en la modificación de la estructura de las materias primas como frutas, cereales, vegetales o carnes, entre otras, mediante la acción de diversos microorganismos que, a través de reacciones metabólicas, principalmente de los azúcares de estos alimentos, permiten la formación de ácidos orgánicos. (Wacher Rodarte, 2014)

El proceso de fermentación ha sido una actividad tradicional en México y que ha sido utilizada desde tiempos prehispánicos para la conservación que trajo consigo una gran variedad de alimentos y bebidas que se producen de distintas fuentes.

En México, los traspatios son espacios que se encuentran junto al hogar de muchas familias en las zonas rurales. Consiste en sembrar especies de plantas frutales y hortalizas para la alimentación cotidiana. (Román E. et al, 2007)

Chiapas cuenta con una biodiversidad que permite el cultivo y producción de distintas especies frutales, que pueden llegar a ser exóticas en otras partes del país, ya que solo se producen en esta zona, muchos de estos frutos se encuentran en huertos de traspatio de distintas comunidades estas pueden constituirse como materia prima para el desarrollo de distintos subproductos como lo son las bebidas fermentadas, dando así un uso de aprovechamiento de esos sabores excéntricos y nuevos para muchas personas.

Actualmente el factor visual o la claridad son factores de importancia para el consumidor y sobre todo en bebidas o vinos, puesto que existen creencias en las que la turbidez indica un defecto en la calidad del producto.

Para la enología la clarificación es un paso de gran relevancia en donde se acelera la eliminación de partículas que causen el enturbiamiento del vino, mediante un proceso que de mejores resultados que la sedimentación.

La presente investigación busca obtener un subproducto de la carambola (*Averrhoa carambola L.*) y nance (*Byrsonima crassifolia L.*) dando uso a la sobreproducción de los frutos cultivados en la región mediante un proceso de fermentación con ayuda de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, para entregar un producto con un aspecto limpio y de buena calidad para el consumidor, utilizando distintos clarificantes como la grenetina, la bentonita, un clarificante comercial y una mezcla entre los dos primeros, mejorando también el proceso de clarificación para este tipo de bebidas.

Descripción del área del trabajo

El proyecto fue realizado en el Instituto Tecnológico de México, campus Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, ubicado en el KM 29020, Carr. Panamericana 1080, Bulevares. Específicamente en el Laboratorio de Microbiología, el cual tiene entre sus funciones la realización de prácticas de laboratorio en las diversas asignaturas de la licenciatura de ingeniería bioquímica. Asimismo, se encarga del cepario del instituto en donde se cultivan y reseman distintos microorganismos, en los que se pueden encontrar, levaduras, hongos, etc. Estos microorganismos son resemanados de acuerdo a un tiempo específico y/o demanda requerida por parte de los estudiantes o personal de la escuela con el objetivo de brindar aprendizaje, además de, proyectos de las licenciaturas, maestrías o doctorados que se tienen en el campus.

Problemas a resolver

En Chiapas la mayor parte de la producción de nance es de recolección por lo que su comercialización se limita a mercados regionales debido a la poca producción y a que es un producto perecedero, por otro lado, la producción de la carambola en México se ve limitada al poco conocimiento que existe de este fruto. Además de la necesidad de un área de cultivo muy extensa para su producción, misma que se ve limitada por la presencia de plagas que afectan el valor económico y buena perspectiva de su comercialización. La búsqueda de alternativas para darle un valor agregado a este fruto mediante la producción y elaboración de bebidas fermentadas.

El incremento de producción en determinadas temporadas del año en la carambola y el nance genera una acumulación de producto, por su alto costo en el mercado y su escaso consumo ya que, al ser de traspatio generalmente no se comercializan adecuadamente y/o no se logra controlar con el autoconsumo, por lo que no se aprovechan lo que hace que se desperdicien grandes cantidades, que bien se pueden aprovechar en la realización de un subproducto en este caso las bebidas fermentadas que cuenten con características óptimas para el consumo, además de centrarse en la aplicación de distintos clarificantes los cuales permitirán una disminución en el nivel de turbidez de cada tratamiento.

Objetivos

General.

Realizar un proceso de fermentación de frutos de carambola (*Averrhoa carambola L.*) y nance (*Byrsonima crassifolia L.*), para evaluar distintos agentes clarificantes y obtener productos más cristalinos.

Específicos.

- Estandarizar las condiciones óptimas del proceso para obtener productos fermentados de frutos de carambola y nance.
- Optimizar el proceso de clarificación en las bebidas fermentadas para obtener un producto más límpido y de mejor calidad
- Caracterizar el producto obtenido de la fermentación de estas frutas mediante análisis fisicoquímicos y microbiológicos.

Justificación

En México los huertos de traspatio son una práctica muy frecuente, en la que las familias aprovechan la producción obtenida para el autoconsumo o comercialización de los frutos recolectados, pero en ocasiones, existe una sobreproducción.

Chiapas cuenta con comunidades en donde el nanche y la carambola son frutas de traspatio muy comunes y con un nivel de producción alto. Este proyecto tiene como finalidad, dar un uso de aprovechamiento a esos frutos.

Además de realizar el análisis de parámetros fisicoquímicos que cumplan con la normatividad y arrojando con esto un producto obtenido en base a los frutos recolectados y mejorar el proceso de clarificación para conseguir un producto agradable a la vista.

Marco teórico

El estado de Chiapas se ha caracterizado por su extensa Biodiversidad y un clima que ha permitido el cultivo de varias especies de frutas y verduras, algunas muy comunes y otras consideradas exóticas.

Entre las frutas que se dan en el estado de Chiapas podemos encontrar, dos en particular, la carambola y el nance.

Carambola

Nombre común o vulgar: Carambola, Carambolo, Carambolos, Tamarindo chino, Tamarindo culí, Árbol del pepino, Carambolera, Carambolero

Nombre científico o latino: *Averrhoa carambola* L.

Familia botánica: Oxalidácea.

Origen: Parece que procede de Malasia (Camboya y Laos), aunque se ha introducido extensamente en regiones tropicales. Los países productores de esta fruta tropical son Malasia, Tailandia, Indonesia y Brasil (INFOJARDÍN, 2006)

El fruto es una baya carnosa de forma ovoide a elipsoidal variada, con cuatro a seis aristas longitudinales y redondeadas que lo dotan de una típica sección en forma de estrella, algunas veces modificada. La baya en estado maduro es jugosa, presenta un aroma agradable, exhibe un color naranja opaco y contiene de una a cinco semillas. En el tamaño final de los frutos de carambola se observa una alta variabilidad, resultado de la dispersión y número de frutos en el árbol (relación fuente– vertedero), el vigor de la planta, las condiciones de desarrollo y el carácter silvestre de variedad. (MALLINALLI, 2018)

Nance

Nombre común o vulgar: Nance, nanchi, nanche, nandzin, nance agrio.

Nombre científico o latino: *Byrsonima crassifolia* L.

Familia botánica: Malpighiaceae Juss

Origen: Es procedente de Mesoamérica. Se extiende desde las zonas tropicales de México, ambas vertientes desde Perú hasta Brasil. (Avilés-Peraza, 2015)

Su árbol mide de 4 a 8 metros de altura con la copa irregular; sus flores son de color amarillo anaranjado y miden de 1 a 1.5 cm; su fruto es una drupa globosa de aproximadamente 2 cm de diámetro, de color amarillo intenso, que contiene una semilla dura. (LAROUSSE, 2016)

Bebidas fermentadas

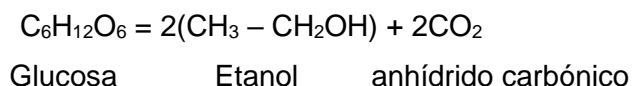
En tiempos prehistóricos, el alcohol se obtenía a través de la fermentación de azúcares presentes en ciertos productos por la acción de levaduras naturales. Las principales materias

primas utilizadas para preparar bebidas alcohólicas provienen de fuentes de azúcares tales como frutas ricas en azúcar y miel (fructosa y glucosa), grano malteado (maltosa), savia de árbol (sacarosa) y leche (lactosa). Por lo tanto, la variedad de bebidas alcohólicas en la prehistoria incluía vinos de frutas, hidromiel, cerveza y bebidas fermentadas hechas de productos lácteos. (Ferrari, Vinderola, & Weill, 2020)

Las fermentaciones son procesos metabólicos de las levaduras y de varias bacterias que transforman compuestos químicos orgánicos, principalmente azúcares, en otras sustancias orgánicas más simples como etanol, ácido láctico y ácido butírico. Los procesos de fermentación han sido usados por el hombre desde hace miles de años, con el fin de preservar los alimentos y para producir bebidas y comestibles con sabores, texturas y aromas específicos, como el yogur, quesos, kumis, chocolate, cerveza, vinos, panes y encurtidos. En los últimos siglos, mediante las fermentaciones se han desarrollado diversos antibióticos, medicamentos, ácidos y combustibles, entre otros productos industriales. (Federación Nacional de Cafeteros de Colombia, 2010)

La fermentación ha sido un proceso que el hombre ha utilizado desde tiempos muy ambiguos, que ha creado contribuciones a la ciencia y a la industria alimenticia, además de desarrollar medicamentos y ciertos antibióticos, todo esto se produce en base a diferentes tipos de azúcares los cuales desarrollan subproductos diferentes según la materia prima a utilizar.

Desde una perspectiva química se puede establecer una ecuación que Gay Lussac formulo en 1820.



Esto se explica como que los azúcares (glucosa y fructuosa) que el mosto contiene se descompone lo que forma alcohol etílico o etanol y anhídrido carbónico o comúnmente llamado gas carbónico.

Pasteur considerado el “padre de la enología” logró explicar que el proceso fermentativo no es más que un fenómeno bioquímico y se debe a un microorganismo, las levaduras, quienes en vez de tomar oxígeno directamente del aire, lo toman del azúcar que el mosto contenga, descomponiéndolas y con esto generando la fermentación, concluyendo que este proceso es la reacción de un proceso respiratorio anaerobio de un organismo unicelular conocido como levadura.

Levaduras vínicas

La levadura es un hongo microscópico que abundan en la naturaleza, entre sus funciones principales es la de descomponer de forma primaria la materia muerta en plantas y animales de

muchos ecosistemas, se alimentan del azúcar de la cual obtienen energía durante el proceso de fermentación, es por esta razón que las levaduras desde la antigüedad han sido utilizadas para obtener cerveza, pan y vino.

Existen cientos de especies de levaduras, y varias de ellas se relacionan con la elaboración principalmente de vino, ya que durante todo el proceso de fermentación que conlleva el vino estas levaduras están presentes y cada tipo de estos microorganismos aportan aspectos distintos y esto puede caracterizar un vino de otro.

Entre las levaduras más comunes por la utilidad que tiene para la fermentación es el género *Saccharomyces cerevisiae*, también algunas especies como lo son *S. pastorianus* y *S. paradoxus*.

Saccharomyces cerevisiae

S. cerevisiae es la levadura que predomina empleada para la producción de bebidas fermentadas, ya que desarrolla un papel vital en el proceso fermentativo de estas. (Anexo 1)

Saccharomyces cerevisiae, es una levadura que constituye el grupo de microorganismos más íntimamente asociado al progreso y bienestar de la humanidad. Es una levadura heterótrofa, que obtiene la energía a partir de la glucosa y tiene una elevada capacidad fermentativa (25). Puede aislarse con facilidad en plantas y tierra, así como del tracto gastrointestinal y genital humano. (Suárez-Machín, 2016)

La *S. cerevisiae* requiere un medio de crecimiento apropiado en cuanto a diferentes factores, para que esta pueda crecer y genere un proceso de fermentación favorable al nivel de etanol producido.

En cuanto a los requisitos de temperatura y pH para las fermentaciones alcohólicas, las levaduras prosperan en ambientes cálidos y ácidos y la mayoría de las cepas de *S. cerevisiae* crecen bien entre 20 y 30 °C y pH 4,5 y 6,5. Con respecto a los requisitos de oxígeno, aunque *S. cerevisiae* a veces se denomina anaerobio facultativo, esta levadura no puede crecer en condiciones estrictamente anaeróbicas. Esto se debe a que el oxígeno es absolutamente necesario como factor de crecimiento para la biosíntesis de ácidos grasos de membrana. (Walker & Stewart, 2016)

Condiciones que intervienen en la fermentación alcohólica.

Temperatura

La temperatura en la que se lleva a cabo la fermentación alcohólica afecta directamente la evolución de la misma en distintos aspectos:

- La duración de la fermentación disminuye al aumentar la temperatura

- La población viable de la levadura disminuye a medida que disminuye la temperatura.

La temperatura de fermentación afecta también a la calidad del vino obtenido en el sentido en que los vinos elaborados a baja temperatura son más aromáticos y mejor valorados en el análisis organoléptico, pero en contraposición su fermentación puede ser incompleta. (Martínez, Martín, Víguera, & Domínguez, 1995)

pH

El pH óptimo en el cual se desarrollan mejor los microorganismos, está entre 4 y 5. Las levaduras tienen la ventaja de soportar, medios más ácidos, que otros microorganismos, lo que es aprovechado en los procesos industriales para mantener el medio controlado de bacterias que puedan competir por el sustrato (Suárez-Machín, 2016).

Grados Brix

El mosto para la fermentación debe estar con un ° Brix de 12 a 22, por el contrario, si su °Brix es muy bajo, se obtendrá un bajo rendimiento de grado alcohólico y si pasa de 22 la 28 fermentación no se dará, ya que la presión osmótica que se ejerce sobre las levaduras es grande y no permite que actúen, esta unidad se expresa en % p/v de sacarosa (Escudero, 2015)

Clarificación de vinos

La clarificación busca eliminar rápidamente materias que provocan turbidez en el vino, con el único objetivo de mejorar el aspecto visual para el consumidor.

La clarificación tiene como objeto eliminar la turbidez del vino formada por partículas visibles y/o que absorben o desvían la luz. Se producen reacciones de suspensiones, de partículas, de levaduras, de bacterias, de cristales, de restos vegetales, visibles al microscopio o a la vista, pero también de soluciones coloidales. (Blouin & Peynaud, 2006)

Esta práctica es llevada a cabo para separar y enviar al fondo las partículas en suspensión generadas en el proceso de fermentación que hacen que el vino tenga una apariencia turbia u opaca.

La clarificación puede llevarse a cabo de forma “espontánea” y sin añadir o recurrir alguna técnica, solo es cuestión de esperar un tiempo para que todas estas partículas caigan al fondo y al cambiar de recipiente (trasegando) se pase solo una parte del vino que ya esté claro separándolo de los sedimentos generados. Sin embargo, esto crea un inconveniente en cuanto al tiempo de espera, ya que en la industria no se puede esperar meses para poder entregar un producto y es por esto que se busca forzar la precipitación de partículas en suspensión y se recurre al uso de clarificantes de distinta índole.

Clarificantes más usados en la industria enológica

Los clarificantes son sustancias que pueden presentarse en estado sólido o líquido, que al entrar en contacto con el vino, ya sea por su grado de alcohol, los taninos o acidez presentes, permiten una floculación y permiten una sedimentación de partículas suspendidas en el vino.

Existen diversas opciones de la industria para la clarificación de bebidas, estos pueden derivar de distintos orígenes, pero por esto, generan una caracterización distinta en las bebidas y en el tiempo de clarificado.

En el anexo 2 se puede visualizar una tabla de los principales clarificantes vínicos.

Los clarificantes pueden clasificarse por su origen:

- Clarificantes minerales: Tierras clarificantes, tierras activadas, Bentonitas.
- Clarificantes orgánicos: Albúmina de huevo, caseína, ictiocola, grenetina.

Clarificantes minerales

Son clarificantes en los que su actividad es física o mecánica, aunque existen ciertos casos en los que, al ser agregados en agua, producen dispersiones coloidales.

Tierras clarificantes

Conocidas son las “tierras de España”, de Lebrija y Pozaldes que están formadas por silicatos y completamente exentas de caliza y de otros carbonatos, así como de minerales de hierro atacables por los ácidos. No desadifican los vinos ni les enriquecen en hierro. (Feduchy Mariño, 1955)

Tierras activadas

Son obtenidas por la acción de ácidos sobre diversas arcillas. (Feduchy Mariño, 1955)

Bentonita

Las bentonitas son clarificantes minerales naturales de la familia de las arcillas, silicatos de aluminio de tipo montmorillonita ricos en iones, Ca^{2+} , Mg^{+} y Na^{+} , dispersados en hojas microscópicas que se hinchan grandemente en presencia de agua. La dosis se debe fijar con cuidado, según cada bentonita, puesto que en exceso seca o decolora los vinos formando lías demasiado voluminosas. (Blouin & Peynaud, 2006)

En la industria enológica es muy común el uso de bentonita, la cual elimina proteínas actuando por interacción electrostática, preferentemente aquellas que presentan mayor carga electrostática positiva en el vino, es decir, las proteínas de mayor punto isoeléctrico (Olivero, R. E., Aguas M., Y., & Cury R., K., 2011, como se citó en Canals *et al.*, 1998)

Clarificantes orgánicos

Este tipo de clarificantes son de origen animal o vegetal y todos actúan por floculación.

Albúmina de huevo

Este clarificante coagula el vino por los taninos y alcohol presentes y se indica para vinos tintos y blancos por la baja exigencia de tanino y floculación.

Caseína

La caseína forma parte de la composición de la leche. Se utiliza especialmente en vinagrería; para la clarificación del vino debe ser desechada, por la serie de productos inútiles o perjudiciales que le incorpora. En presencia de ácido se coagula inmediatamente, lo que sucede en el vino por los ácidos en él contenidos, no siendo necesaria la presencia de tanino. (Feduchy Mariño, 1955)

Ictiocola o cola de pescado

Es un clarificante indicado para vinos muy finos por ser poco exigente en tanino para su coagulación y decolorar muy poco. (Feduchy Mariño, 1955)

Grenetina

Se obtiene mediante la extracción por cocción de sustancias colágenas de los huesos y cartílagos. El componente eficaz es la glutina, que, según la calidad de la gelatina, está en diferente proporción. El tanino presente en los vinos será el agente que provocará la coagulación de las gelatinas; pero la precipitación puede ser o no completa, influyendo en ella otros factores como lo son el pH del vino, su grado alcohólico y otros elementos de su composición (Feduchy Mariño, 1955)

Metodología

Lugar de ejecución

Este trabajo se realizó en el laboratorio de Microbiología del Instituto Tecnológico Nacional campus Tuxtla Gutiérrez.

Materia Prima

Para los experimentos preliminares y los definitivos, fue utilizado el jugo del fruto de carambola (*Averrhoa carambola*) y el fruto de Nanche (*Byrsonima crassifolia L.*), procedentes de jardines o patios de algunas casas de la ciudad de Tuxtla Gutiérrez y del municipio de La Concordia, en Chiapas. Debido que el nanche es una fruta de temporada, solo se encuentra entre los meses de abril y hasta finales de mayo o junio, por ello, este fruto se recolectó a finales de junio; en el caso de la carambola, tiene dos periodos de floración, el primero de abril a mayo y el segundo de septiembre a octubre, con picos de producción de agosto a octubre, este fruto se recolecto en los primeros días de junio y a finales de agosto.

Material Biológico.

La levadura seleccionada es la *Saccharomyces cerevisiae*, la cual fue entregada y reinoculada en tubos de 16x150. Las condiciones de cultivo fueron en agar YM, medio para cultivo y aislamiento de levaduras a una temperatura de $28 \pm 2^\circ\text{C}$, proporcionada por el cepario del Instituto Tecnológico de Tuxtla Gutiérrez.

Obtención y selección de la materia prima.

Las frutas fueron recolectadas de traspatio.

Se seleccionaron los frutos de carambola según los siguientes criterios:

- Tamaño uniforme.
- Longitud aproximada de 12 cm.
- Con un estado de madurez media, donde se logre ver un color amarillo en un 70%, opaco intenso.
- Se fueron separando los frutos rotos, mallugados o con un estado de madurez pasado.

Los frutos de nanche se seleccionaron de acuerdo a:

- El grado de madurez.
- Consistencia y aspecto
- Cambio de pigmentación
- Firmeza

Lavado y refrigeración de los frutos

Los frutos se lavaron de manera manual con agua purificada, se eliminó impurezas y materiales extraños para evitar contaminación externa.

Se dejaron en reposo para eliminar el exceso de agua. La fruta seca se pasó a bolsas plásticas de 1 kg para mantenerlas en refrigeración de 4 ± 2 °C para su conservación.

Activación de la levadura “Semilleo”

Se realizó un matraz semilla donde se preparó el mosto de la fruta a 30% v/v, con las condiciones necesarias para activar la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, para esto se empleó un tubo con la cepa y material estéril, se tomó una alícuota de 10 ml del mosto ya preparado y se vertió en el tubo de ensayo, con ayuda de una aza bacteriológica se agitó enérgicamente el tubo con la muestra, para desprender el inoculo y posteriormente se vació en el matraz semilla con la finalidad de que la levadura se adapte al mosto, una vez concluida la fase de adaptación, el matraz semilla se empleó para inocular el reactor de fermentación.

Pelado y trozado

El pelado y trozado de los frutos de la carambola se realizó con ayuda de un cuchillo de acero inoxidable con la finalidad de reducir el tamaño de la muestra y separar las semillas que contienen.

Pulpeado

La fruta troceada y separada de las semillas se colocó en la licuadora (Oster) durante 8 a 10 minutos, hasta obtener la pulpa a forma de una pasta.

En el caso del nance, se despulpó de manera manual, separando la semilla de la carne de la fruta y se llevó a la licuadora en intervalos de 5 minutos, hasta obtener una pasta homogénea.

Pesado y proceso de filtrado

Se pesó 96 g. de pulpa de cada fruto en una balanza semianalitica (69 Adam Highland). Solo la pulpa de carambola previamente pesada, se filtró con ayuda de un colador. En el caso del nance no se realizó el proceso de filtrado, ya que se pasó directamente la pulpa pesada, al matraz.

Caracterización del fruto

Se tomó una porción del jugo de la fruta, para verificar los °Brix, se utilizó un refractómetro manual (Atago N1) que cuenta con una escala de 0 a 40 grados brix y para comprobar el pH se usó un potenciómetro (Hanna Instruments).

Al conocer la caracterización fisicoquímica de cada fruto se tuvo una pre visualización para el acondicionamiento del mosto.

Acondicionamiento del mosto

Calcular la cantidad de azúcar refinada para ajustar los 320 ml de mosto a 20 °Brix, para esto se realizó un jarabe con 224 ml de agua purificada y azúcar, con la finalidad de que el azúcar se disuelva completamente.

Diluir la pulpa con el jarabe preparado, obteniendo un volumen de 320 ml por cada unidad experimental.

Regulación del pH

Se agregó ± 0.3 g/ml de ácido cítrico para regular el pH mayor a 4 del mosto de los tratamientos con este pH. En el caso de los tratamientos con un pH menor a 3 se reguló agregando ± 0.2 g/ml de bicarbonato de sodio.

Proceso de esterilización

Una vez completada la caracterización del matraz semilla, se prepara para llevar a cabo el proceso de esterilización por vapor en el que se dará tratamiento 5 lb/in² por 5 min. Se reduce el tiempo de esterilización, puesto que, de no hacerlo, los azúcares presentes en el mosto tienden a caramelizarse.

Inoculación de la levadura

Se escoge una caja que muestre el mayor crecimiento de la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), esterilizar el área de inoculación, se tomaron tres azadas por cada unidad experimental tomando la mayor cantidad de inóculo posible y disolviéndolo en el matraz semilla. Se lleva a una agitadora mecánica a 80 rpm durante 24 hrs a una temperatura $28 \pm 2^\circ\text{C}$ y se introdujo a la incubadora para poder mantener su temperatura.

Elaboración del reactor de fermentación

Para realizar el reactor de fermentación se repite el procedimiento ya mencionado dando inicio con la preparación del fruto (pelado, troceado y pulpeado). A diferencia del matraz semilla para el reactor de fermentación el volumen empleado fue de 3200 ml a 30% v/v procurando que el medio tenga las condiciones necesarias para el desarrollo de la levadura.

Pesado y proceso de filtrado

Se pesan 960 g de pulpa de carambola y nanche

En el caso de la carambola se hizo un proceso de filtrado. En el caso del nanche no se realizó este proceso.

Caracterización del fruto

De la fruta que se utilizó, se recuperó un poco del jugo, para poder determinar los °Brix con ayuda de un refractómetro manual (Atago N1) y un potenciómetro (Hanna Instruments) para medir el pH de cada fruto.

Acondicionamiento del mosto

Agregar la cantidad de azúcar para lograr 20 °Brix al volumen total del mosto. Realizar un jarabe con azúcar y 2240 ml de agua purificada.

Diluir la pulpa en el jarabe preparado, obteniendo un volumen 3200 ml por cada reactor.

Se le agregó a cada reactor 0.25 g/L de fosfato diamónico (De cero a cervecero) para mantener activa la levadura.

Regulación del pH

Para regular el mosto con un pH menor a 3 se le fue agregado \pm 2 g/L de bicarbonato de sodio (Medimart) y en el caso del mosto con un pH mayor a 4 se le agregó \pm 3 g/L de ácido cítrico (ENSIGN).

Inoculación del reactor de fermentación

Después de elaborar el reactor de fermentación y transcurridas las 24 hrs de reposo del matraz semilla, esterilizar el área de trabajo, pasar el contenido del matraz semilla en donde la levadura ya está activa al reactor de fermentación y agitar hasta homogenizar la mezcla, colocar una toma de muestra.

Proceso de fermentación

Se realizaron muestreos cada 24 hrs, durante 10 días hasta obtener el parámetro de 10 °Brix. Las variables medidas por día fueron, pH, °Brix y acidez total. Al inicio y final del proceso fermentativo, se realizan análisis fisicoquímicos, acidez volátil y azúcares reductores. Al finalizar este proceso realizar el análisis de grado alcohólico y añadir 0,23 g/L de metabisulfito sódico (Mi granero) para detener la fase fermentativa.

Segundo proceso de filtrado

El fermentado se sometió a un proceso de filtrado, pasar por manta cielo para poder separar los sólidos más grandes que la bebida contenga, para darle un aspecto más brillante y con esto lograr disminuir la turbidez.

Clarificación

La clarificación en bebidas es un factor que permite entregar un producto de mejor calidad y aspecto para el consumidor, es por ello que se somete a un proceso por el cual se adicionan sustancias que permitan la eliminación del enturbiamiento del fermento mediante la sedimentación.

Se emplearon cuatro diferentes reactivos clarificantes, siguiendo los parámetros establecidos por la NOM-218-SSA1-2011, para la grenetina, bentonita, un clarificante comercial y una mezcla entre grenetina y bentonita.

Para llevar a cabo la activación de cada agente clarificante, tomar cuatro alícuotas de 250 ml del fermento. Se añadió 0.2 g/L de grenetina, 3 g/L de bentonita, 0.2 g/L de clarificante comercial y para la mezcla preparada de grenetina con bentonita se pesan por separado 0.2 g/L y 3 g/L, respectivamente. Disolver un agente clarificante por matraz.

Dejar reposar y realizar pruebas espectrofotométricas cada 24 horas a 400 y 450 nm a cada unidad experimental, con el objetivo de verificar el comportamiento de cada reactivo, esto hasta llegar al punto en que la absorbancia no tuviera cambios tan significativos.

Trasiego

Realizar el trasiego, mediante una decantación, separando los sólidos disueltos en el fermento, mediante acción de la gravedad, facilitando así su extracción.

Análisis fisicoquímicos

Determinación de pH

El pH es un parámetro de suma importancia ya que influye en aspectos organolépticos del mosto, puesto que si se tiene valores bajos de pH esto es mejor para la fermentación y conservación de los vinos.

Se determinó el pH de los reactores de fermentación, se le añadió una cantidad del fermento a un vaso de precipitado de 100 ml. Se utilizó un potenciómetro (Hanna Instruments) poner el electrodo limpio directamente en el jugo y capturando los datos por día.

Determinación de sólidos solubles

Esta determinación se basa en el índice de refracción de la luz cuando atraviesa un líquido como el mosto. En vinicultuta vulgarmente se expresa grado Brix (°Brix) como equivalente al % de sólidos solubles. Un °Brix se define como 1 g de sacarosa cada 100 g de solución

Calibrar el refractómetro a 0 con agua destilada. En el refractómetro limpio y seco, se colocan unas gotas de mosto, se cierra y se ve a través de la escala orientando el aparato hacia una fuente de luz y haciendo foco en la escala, mediante el ocular. (Nazralla *et al*, 2009)

Determinación de acidez total

Todos los vinos presentan una reacción ácida y esta puede determinar el sabor, color y la estabilidad microbiológica de la bebida, se refiere a la suma de todos los ácidos disueltos en la solución.

Esta técnica fue extraída del manual de técnicas analíticas para mostos y vinos.

Se titularon 10 ml de la pulpa y del jugo fermentado en un matraz Erlenmeyer de 125 ml con NaOH al 0.1N, hasta obtener un pH en un rango neutro y obteniendo la lectura con ayuda de un potenciómetro. (Nazralla *et al*, 2009)

La acidez total contenida en el fermento, se calcula con la siguiente expresión:

$$Acidez\ total = \frac{V * N * 0,41}{m} x 100$$

Donde:

V = volumen en mL de NaOH 0.1 N utilizado en la titulación.

N = Normalidad del NaOH.

0.41 = miliequivalentes del ácido predominante, en gramos.

m = Masa de la muestra en gramos.

Formula extraída de la NOM-V-15-S-1980.

Determinación acidez volátil

La acidez volátil es la porción de vinagre que el vino contiene. Es un subproducto producido por las levaduras durante la fermentación alcohólica. El ácido acético al ser volátil que se encuentra libre y en forma de sales, al encontrarse de forma libre estos ácidos son capaces de alcanzar concentraciones muy elevadas si consiguen una buena oxigenación lo que provoca que al someterse a temperaturas altas facilite su eliminación si esta libre y en cantidades no saturadas, por ello su denominación de acidez volátil.

Se utilizó el método de Duclaux, se pasaron 110 ml de vino a un matraz y se trasvaso a un balón de destilación. Se destiló un tiempo promedio de 40 minutos, obteniendo 75 ml de destilado. Con el destilado frío fueron adicionadas dos gotas de fenolftaleína y se tituló con NaOH N/10 (primera titulación). Al obtener un color rosa que se mantuviera por un minuto al menos, se le agregó una gota de SO₄H₂ para acidificar nuevamente la sustancia. Fueron añadidos 3 ml de almidón al 1%, para luego titular con una solución de iodo N/50 hasta obtener un color azul persistente por 1 minuto y se toman los datos de NaOH e Iodo gastado.

Para calcular la acidez volátil mediante la ecuación:

$$AV \left(\frac{g}{L} \right) = 0.0685 x \left(N - \frac{n}{5} \right)$$

Donde:

N= mL gastados de solución de NaOH N/10 (primera titulación).

n = mL gastados de solución de iodo N/50 (segunda titulación).

(Nazralla *et al*, 2009)

Determinación de azúcares reductores

Para la determinación de azúcares reductores en bebidas fermentadas se utilizó el método del Licor de Fehling Causse-Bonnas (FCB). El mismo utiliza las propiedades reductoras de los azúcares, capaces de reducir las soluciones cúpricas, mercúricas o bismútcas, en medio fuertemente alcalino y en caliente, debido a que poseen funciones aldehídicas o cetónicas libres. A temperatura de ebullición y en medio alcalino los azúcares reducen al cobre, que en el Licor FCB se encuentra en forma de complejo cupritartrato sódico-potásico. El Licor FCB está formado por sulfato de cobre, tartrato doble de sodio y potasio, hidróxido de sodio y ferrocianuro de potasio.

Utilizando 50 ml de vino, se neutralizan con NaOH 5N. A continuación, se ebulle hasta obtener una tercera parte del volumen total y el líquido se pasa a un matraz volumétrico de 100 ml al que se le añaden 5 ml de acetato de plomo hasta saturarlo, carbón activado y dos gotas de ácido acético glaciar. Se mezcla y debe reposar por 10 minutos, para luego aforarlo y filtrarlo con papel filtro. El líquido filtrado debe verse lo más transparente posible. Luego, se colocan 25 ml de reactivo Fehling en un matraz de 250 ml y añadiéndole 50 ml de agua destilada y se pone a en ebullición. Se titula con la muestra hasta tener un azul tenue, para después agregar 5 gotas azul de metileno y se mantiene en agitación para seguir titulado hasta ver un cambio de color a un rojo-ladrillo fuerte. Se capturan los datos de los ml gastados durante la titulación.

Para obtener el valor se utiliza la expresión:

$$AR \left(\frac{g}{L} \right) = 0.041 \times \frac{1000}{N} \times \frac{11}{10} \times \frac{1}{D}$$
$$AR \left(\frac{g}{L} \right) = \frac{45.1}{N} \times \frac{1}{D}$$

Donde:

0.041 representa los gramos de azúcar invertidos contenidos en 8.2 mL de licor (solución azúcar invertido 5g/L) que reaccionan con 15 mL de licos de Fehling.

N = Volumen del filtrado consumido en la titulación.

11/10 = Dilución realizada por el acetato de plomo.

D= Dilución del filtrado.

(Nazrala *et al*, 2009)

Grado alcohólico

Mediante una destilación simple, con ayuda de un equipo de destilación Corning, en el que se añaden 100 ml del fermento neutralizada con una solución de NaOH 5N. Pasa a ebullición

hasta obtener la tercera parte del volumen inicial, el destilado se recolecta y afora a 100 ml con agua destilada, el grado alcohólico es determinado a través de alcoholimetría método extraído de la Asociación Oficial de Químicos Analíticos (AOAC, 1998) Método 957.03; 26.1.08 en donde el contenido alcohólico es el porcentaje de etanol, en volumen, que se obtiene a una temperatura de 15 °C en el producto a analizar.

Resultados y discusión

Análisis fisicoquímico de la fruta

Para el análisis de resultados, se estableció lo siguiente:

C: Corrida experimental de carambola

N: Corrida experimental de nanche

En el proyecto se llevó a cabo el análisis por triplicado de cada unidad experimental.

Se realizó el análisis fisicoquímico de cada fruto, los cuales arrojaron los siguientes resultados:

Tratamiento	°Brix	pH	Acidez total (g/L)
C1	7	3.3	2.78
C2	9	2.3	2.93
C3	9.4	2.6	3.38
\bar{x}	8.5	2.7	3.03
CV	1,29	0,51	0,31

Tabla 1 Parámetros Fisicoquímicos de pH, °Brix, y acidez total para los frutos de *Averrhoa carambola* por tratamiento

Tratamiento	°Brix	pH	Acidez total (g/L)
N1	8	4.4	2.63
N2	16	3.8	2.18
N3	11.4	4.4	2.03
\bar{x}	11,8	4,2	2,28
CV	4,01	0,35	0,31

Tabla 2 Parámetros Fisicoquímicos de pH, °Brix, y acidez total para los frutos de *Byrsonima crassifolia* por tratamiento

Los autores Muñoz L. y Gonzales G. (2014) sugieren que la carambola debe cumplir con un parámetro de 5 a 13 °Brix y un pH de 2 a 5, mientras que Maldonado M. et al (2020) considera que el nanche debe contar con un parámetro de 8 a 11 °Bx y con un pH de 3.5 a 4.3

°Brix

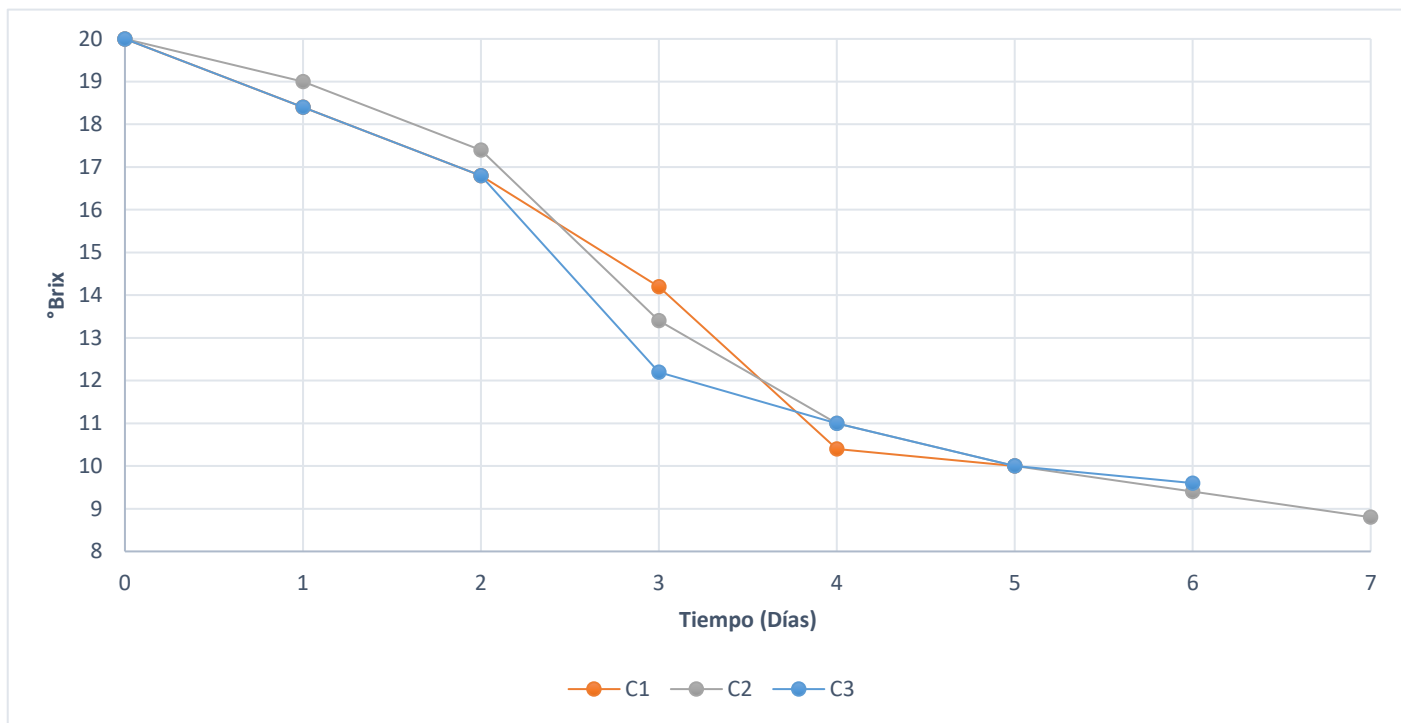


Figura 1 Evaluación de los °Brix respecto al tiempo *Averrhoa carambola L.*

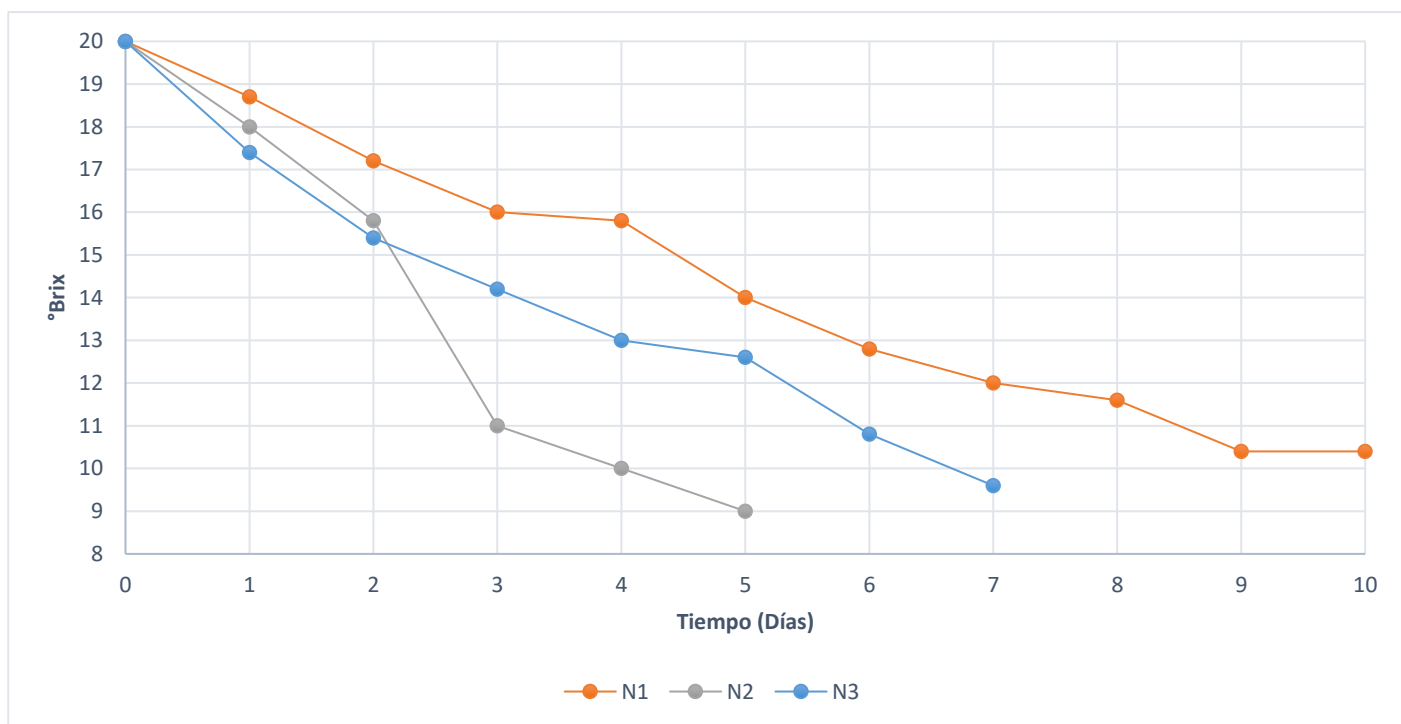


Figura 2 Evaluación de los °Brix respecto al tiempo *Byrsonima crassifolia L.*

En las gráficas, se presentan los datos obtenidos respecto a los grados Brix (Anexo) de cada fruto. Se observa la disminución de los °Brix con el tiempo transcurrido de fermentación, ajustados a 20 °Brix inicial.

Se estableció el parámetro de 20 °Brix para cada uno de los tratamientos, puesto que el autor Escudero D. afirma que para la elaboración de bebidas alcohólicas deben estar en un rango de grados brix entre los 16 y 22. Partiendo de los °Brix con los que presenta la fruta tratada, esto se menciona ya que el comportamiento de la levadura influyó de distinta manera en cada una de las frutas empleadas.

Tabla 3 Análisis de los mejores resultados de los grados brix entre experimentos.

Experimento	Días	Suma	Promedio	S	Varianza
C1	5	89,8	14,9666667	4,16157022	17,3186667
N2	5	83,8	13,9666667	4,58766462	21,0466667

Se observó a partir de los gráficos que C1 y N2 transformaron en mayor cantidad los azúcares presentes en alcohol, ambos en 5 días transcurridos de fermentación (Tabla 3).

Análisis de pH

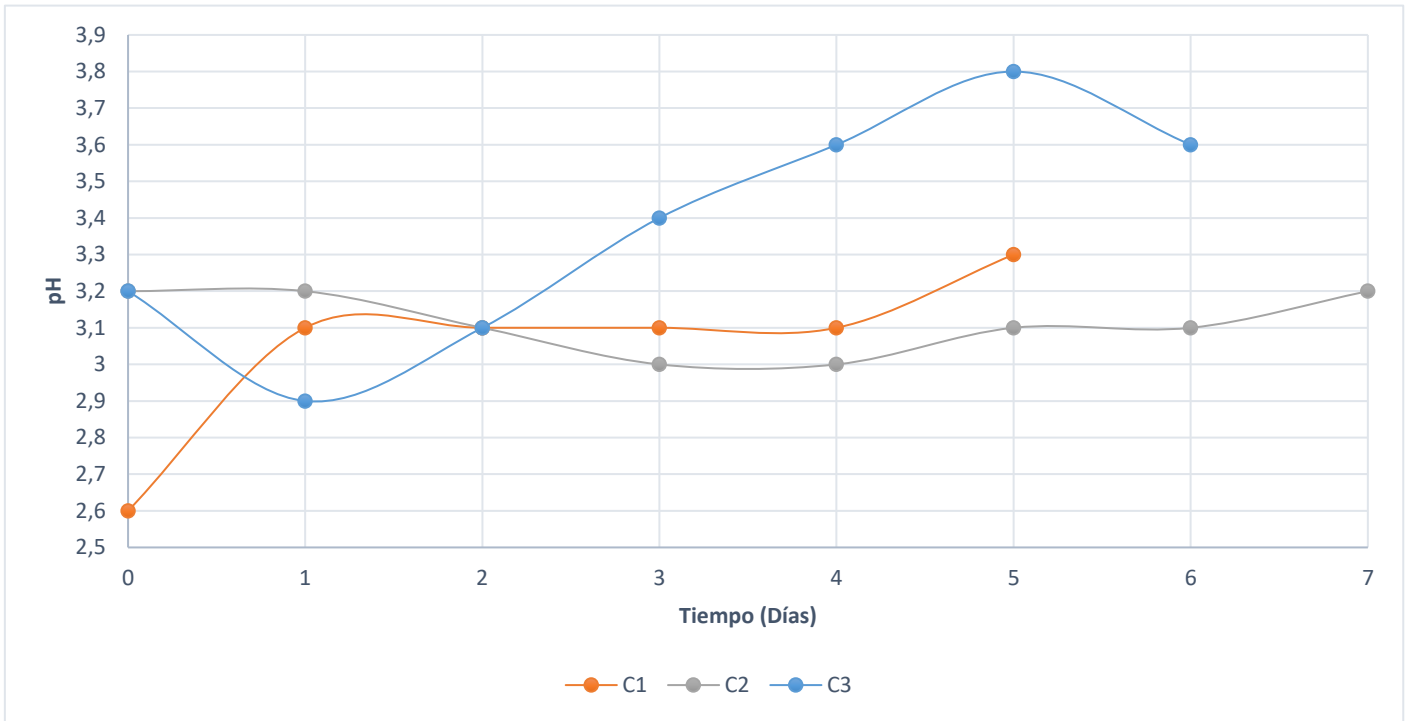


Figura 3 Comportamiento del pH de *Averrhoa carambola L.* respecto al tiempo

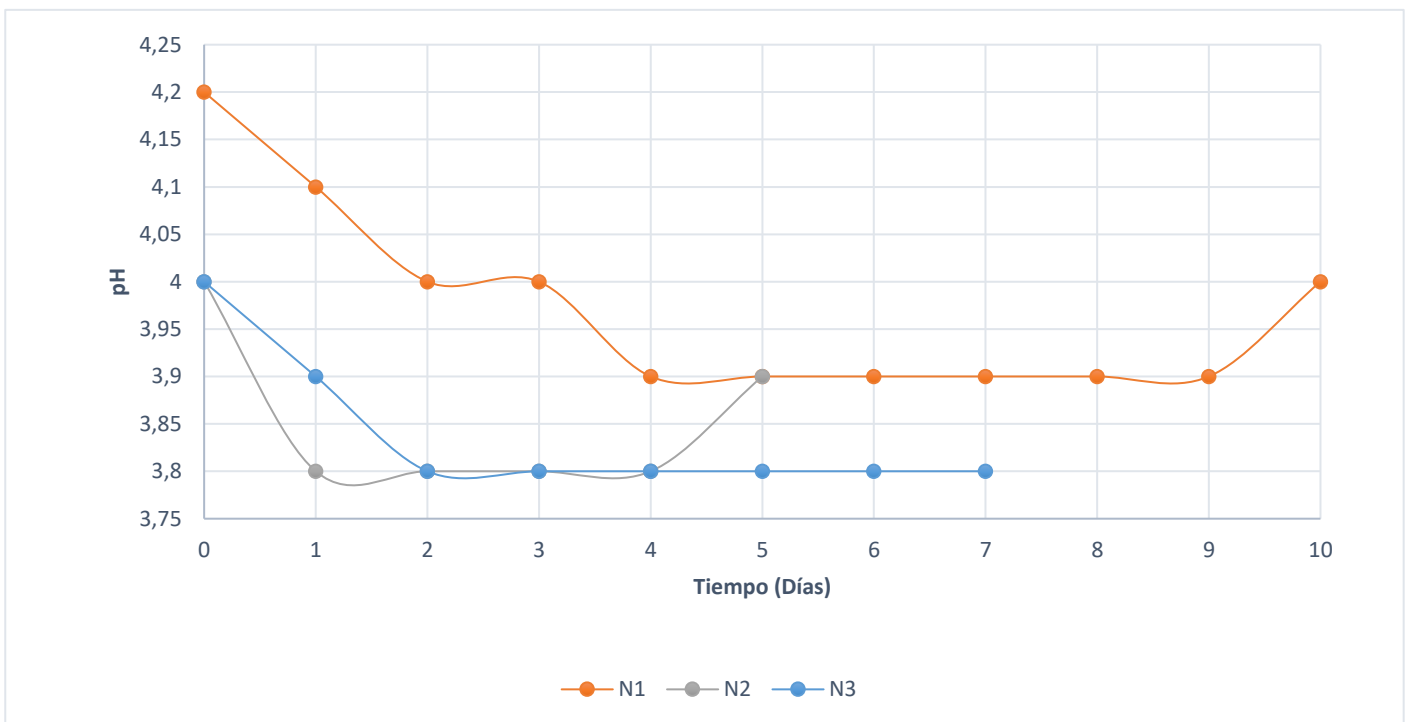


Figura 4 Comportamiento del pH de *Byrsonima crassifolia L.*

En este caso se tuvieron dificultades en cuanto al acondicionamiento del mosto, ya que se debía tomar en cuenta el grado de madurez y de acidez o basicidad de los frutos, con la finalidad de influir positivamente en la calidad y rendimiento del proceso.

La autora Escudero D. (2015) afirma que el pH óptimo para el crecimiento de las levaduras en la fermentación alcohólica oscila en el rango de 3 y 5

Tabla 4 Mejores resultados de la medición del pH durante la fermentación

Experimento	Días	Suma	Promedio	S	Varianza
C2	7	24,9	3,1125000	0,0834523	0,00696429
N3	7	26,9	3,84285714	0,07867958	0,00619048

En la tabla 4 se presentan los experimentos que disminuyeron su pH gradualmente rápido en comparación conforme el tiempo de fermentación aumento.

Los frutos de carambola presentaron con grado de acidez alto, con valores de 2.3 a 3.3 de pH, por esta razón fue necesario añadir al reactor de fermentación una cantidad de bicarbonato de sodio para adecuar el pH y cumplir con el parámetro preestablecido. En el caso del nanche tuvieron un pH que no entraba en el parámetro y se le agregó una cantidad de ácido cítrico al reactor de fermentación

De acuerdo con la Norma Mexicana NOM-199-SCFI-2017, establece que el pH mínimo es 3.0 para vinos saludables, con se puede inferir que los tratamientos cuentan con el cumplimiento del parámetro establecido desde el principio y hasta el final de la fermentación.

Acidez total

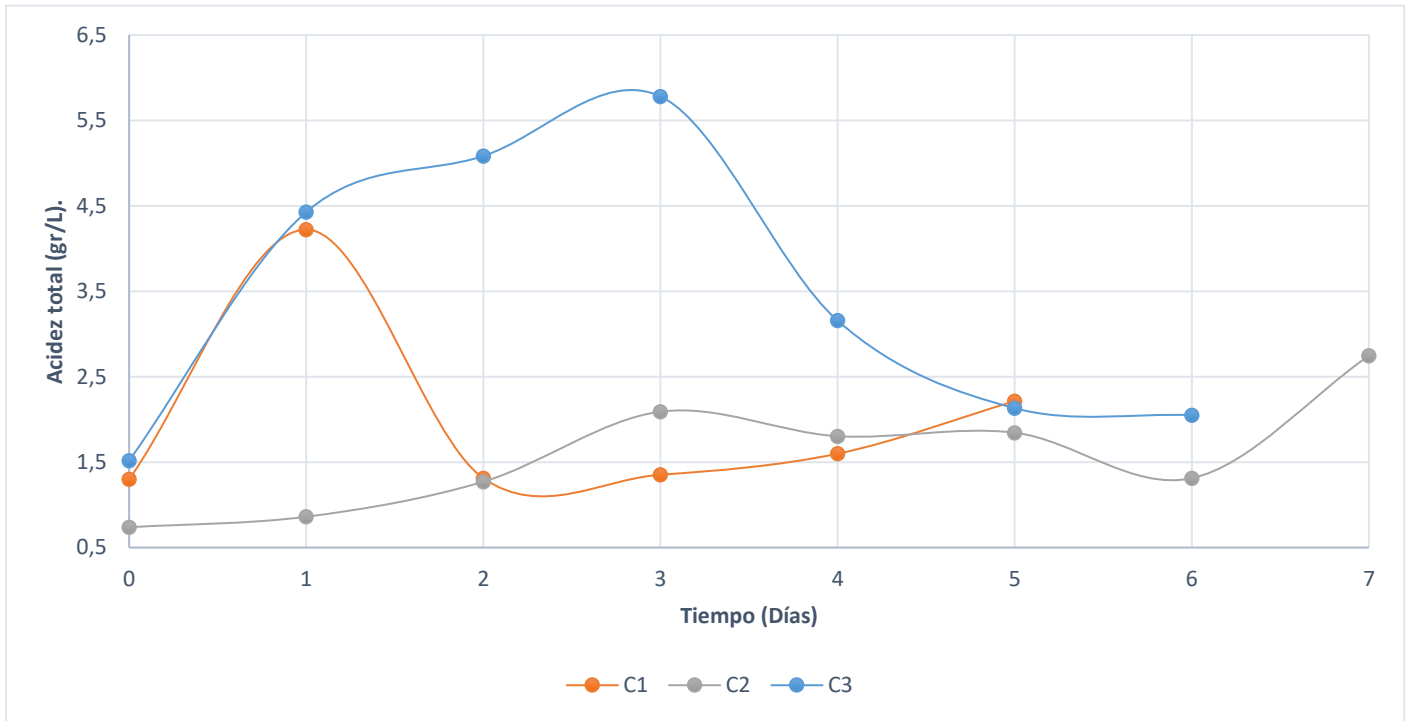


Figura 5 Comportamiento de la acidez total de *Averrhoa carambola L.*

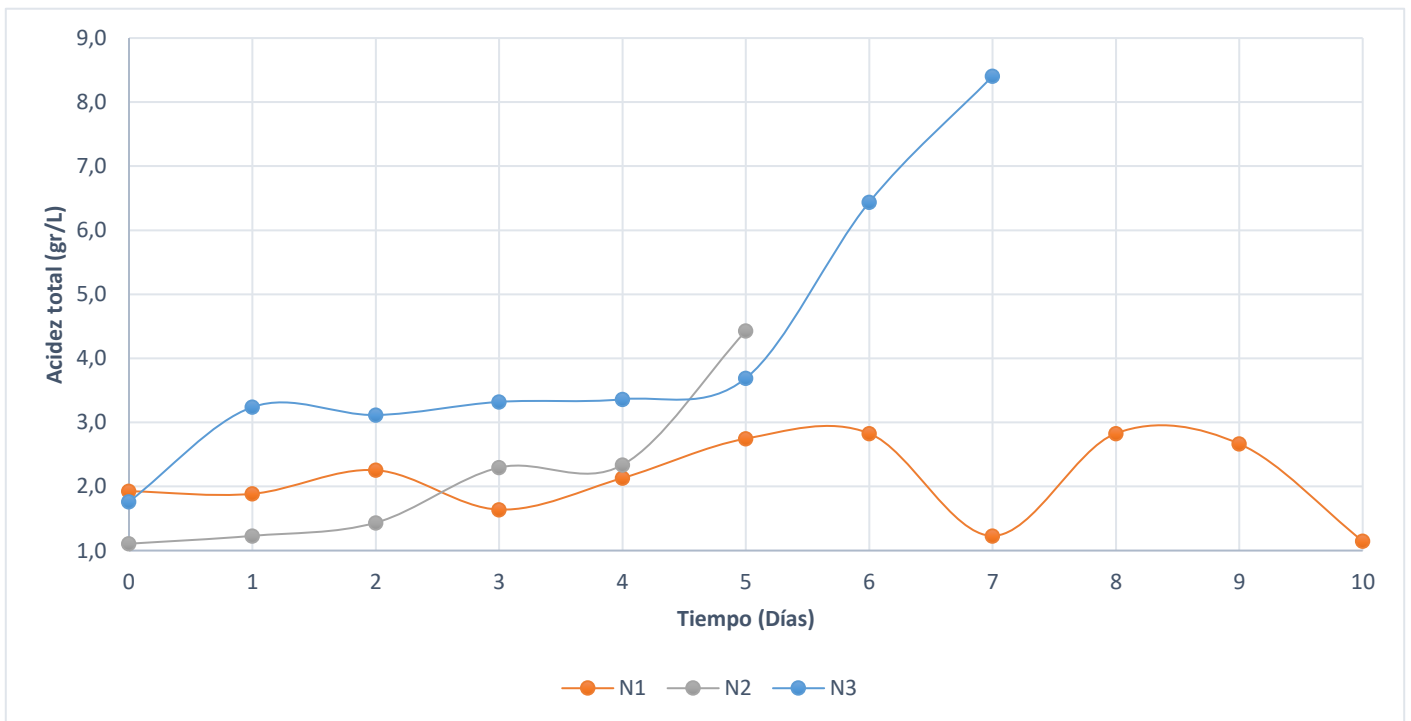


Figura 6 Comportamiento de la acidez total de *Byrsonima crassifolia L.*

En las figuras 5 y 6 se representan los valores obtenidos de la concentración de ácidos disueltos en g/L de cada fruta, respecto al tiempo en días.

Tabla 5 Mejores resultados conforme la acidez total.

Experimento	Días	Suma	Promedio	S	Varianza
C3	6	24,2	3,4571429	1,66619041	2,77619048
N3	7	33,3	4,1625	2,14272023	4,59125

En la tabla 5 se muestran los resultados que se considera que fueron los que mejores en la acidez total.

Acidez volátil

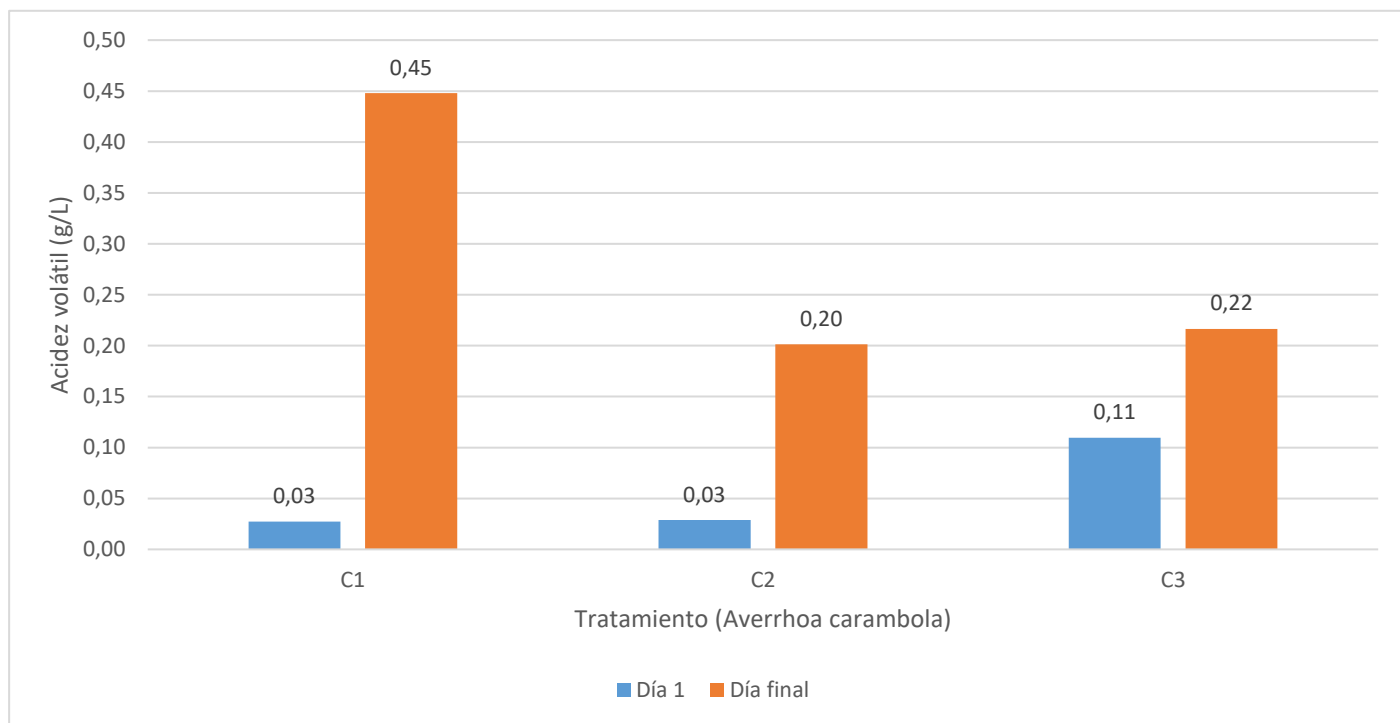


Figura 7 Comportamiento de la acidez volátil de Averrhoa carambola L.

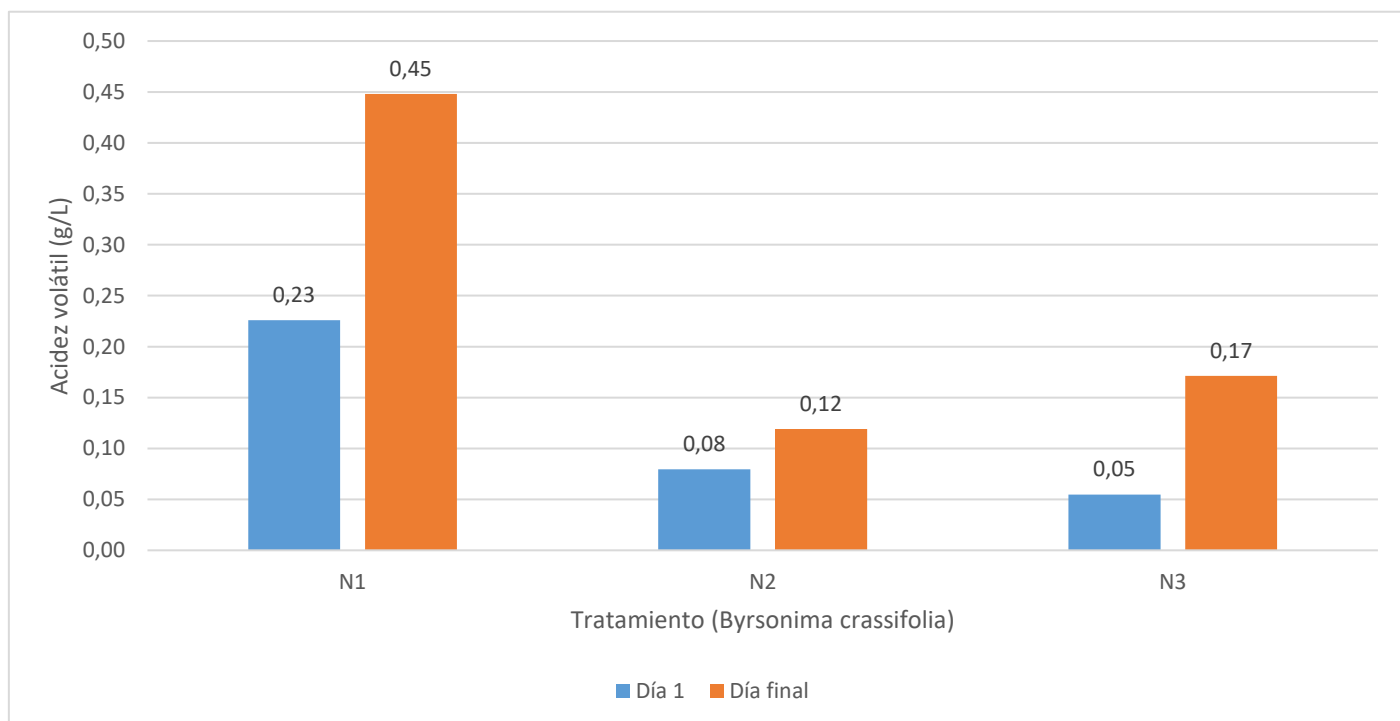


Figura 8 Comportamiento de la acidez volátil de Byrsonima crassifolia L.

En las figuras 7 y 8 se presentan los resultados obtenidos en base a la acidez volátil conforme el tiempo en días.

Se observa en el grafico 7 que para el tratamiento C1 a lo largo de la maduración de la carambola durante la fermentación los ácidos implicados en el proceso fermentativo presentaron un aumento de 0.42 g/L, incrementando de 0.03 a 0.45 g/L durante los 5 días en los que se desarrolló el proceso de fermentación. Para el tratamiento C2 y C3 la concentración final obtuvieron valores cercanos de 0.20 y 0.22 respectivamente, sin embargo, el tratamiento C1 y C2 comparten el valor inicial (0.03 g/L) a diferencia de C3 que mostró el mayor dato inicial con 0.11 g/L.

Por el contrario, en el grafico 8 se visualiza que N1 contó con el valor inicial más alto con 0.23 g/L, pero al igual que C1 obtuvo un valor final de 0.45 g/L y al observar ambos gráficos, se denota que N2 y N3 cuentan con concentraciones finales más bajas (0.12 y 0.17 g/L) en comparación de C2 y C3.

Azúcares reductores

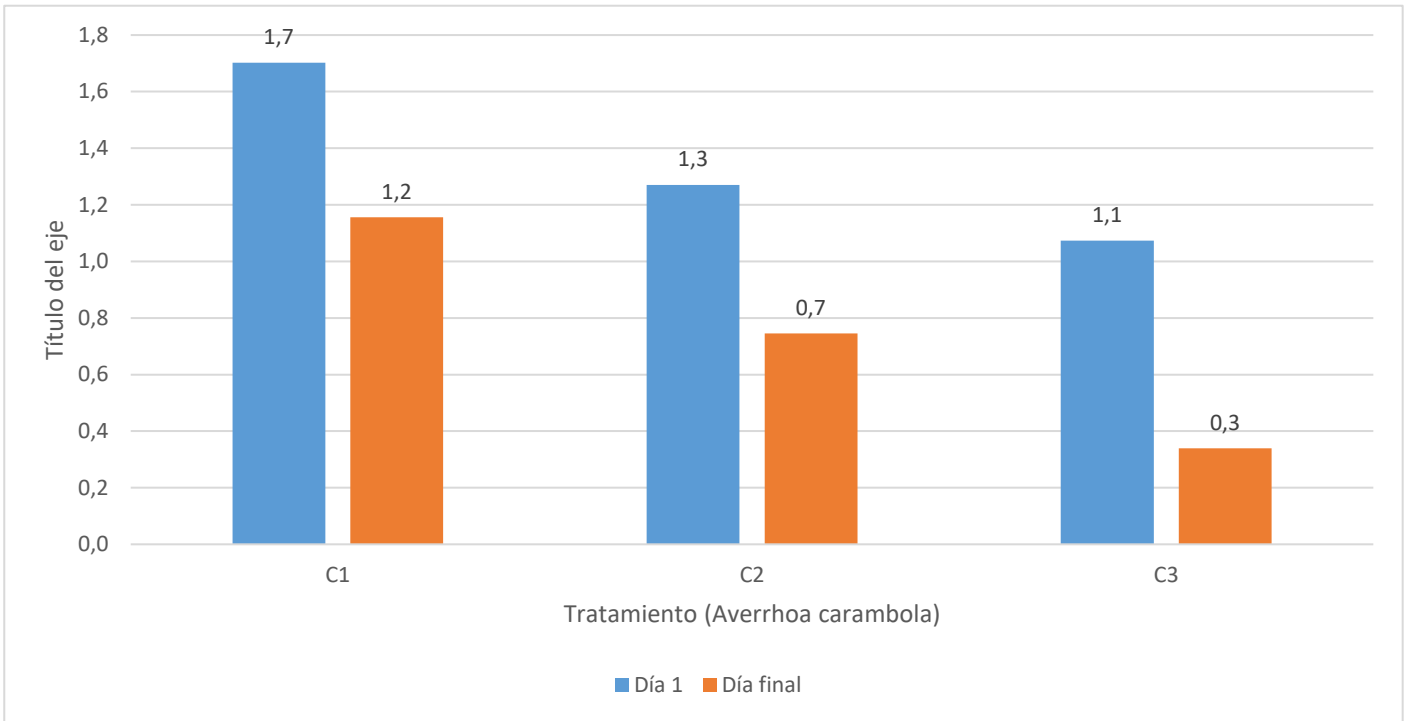


Figura 9 Azúcares reductores presentes en los tratamientos de Averrhoa carambola

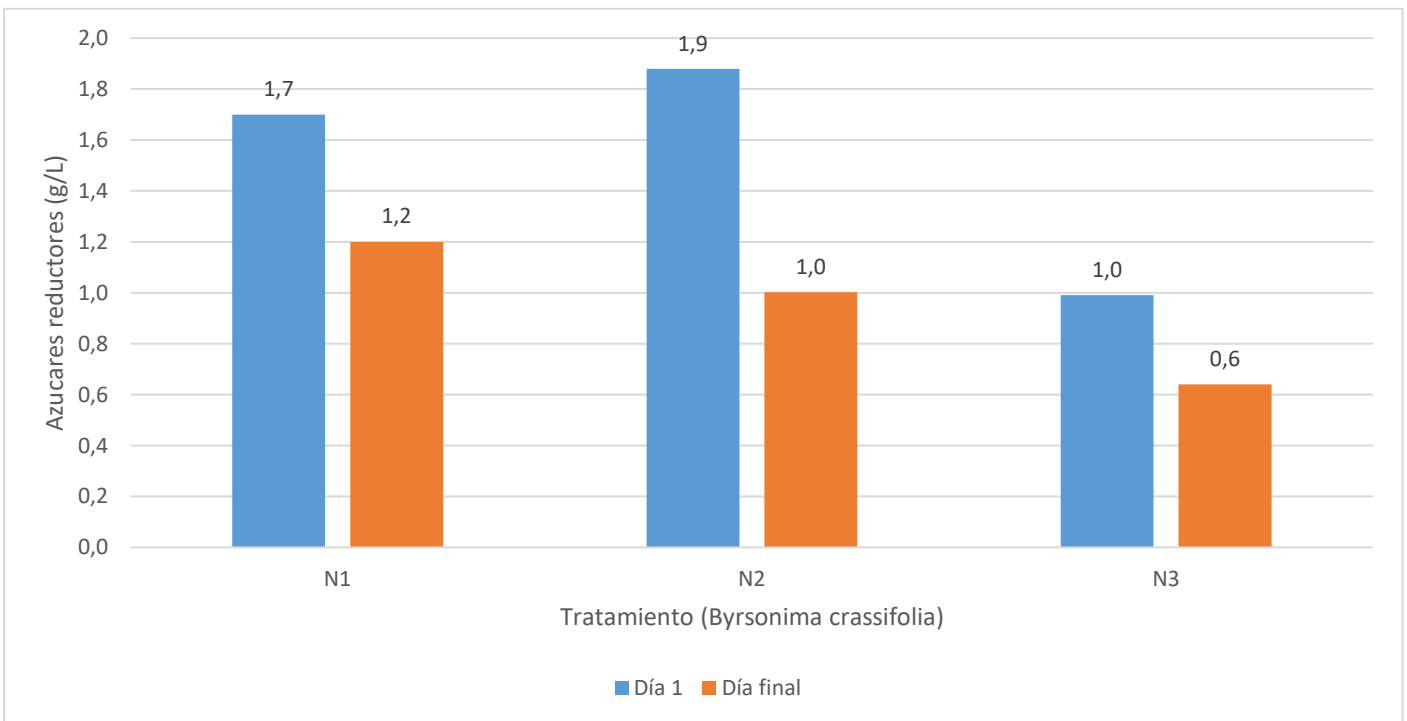


Figura 10 Azúcares reductores presentes en los tratamientos de Byrsonima crassifolia L.

Los gráficos 9 y 10 muestran los resultados obtenidos, apreciando que en ambos casos el tratamiento 1 consiguió los mismos valores tanto de inicio como final (1,7 y 1,2 g/L). Siendo N2 el tratamiento con el valor más alto en el día 1 (1.9 g/L) y para el día final C1 y N1.

Se puede notar que el C1, C2 y C3 es el que cuenta con los valores más bajos de azúcar y esto se debe a que la carambola como se ha mencionado con anterioridad, tiende a tener un nivel de acidez mucho más alto y con esto un nivel de azúcar menor.

En ambos casos se puede inferir que la levadura tuvo una adaptación correcta lo que permitió que ésta consumiera los azúcares necesarios y con esto poder tener un proceso fermentativo satisfactorio. Sin embargo, en donde se tuvo una mejor respuesta en N2, ya que se cuenta con un decremento de 0.9 g/L lo que demuestra que hubo una respuesta un poco más rápida en comparación con C3 que mostró 0.8 g/L de decrecimiento, teniendo estos dos como los tratamientos con mayor respuesta.

Grado alcohólico

Tabla 6 Grado alcohólico de los mostos de *Averrhoa carambola* y *Brysonia crassifolia*L.

Experimento	°Alcohólico GL.	Experimento	°Alcohólico GL.
C1	10	N1	12
C2	10	N2	10
C3	10	N3	10

Al finalizar el proceso de fermentación se obtuvo el grado alcohólico de cada tratamiento, en la tabla 2 se demuestra que los tratamientos de carambola tuvieron un porcentaje igual para los tres casos, en cambio en N1 se tuvo dos grados más altos que en los demás tratamientos.

De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017 se tiene que estos reactores cumplen con la normatividad y rango permitido de producción y distribución.

Se puede concluir que en todos los casos se tuvo un proceso de fermentación bastante satisfactorio y se contó con resultados favorables y aceptables en cuanto al °Alcohólico.

Clarificación

Clarificación de carambola

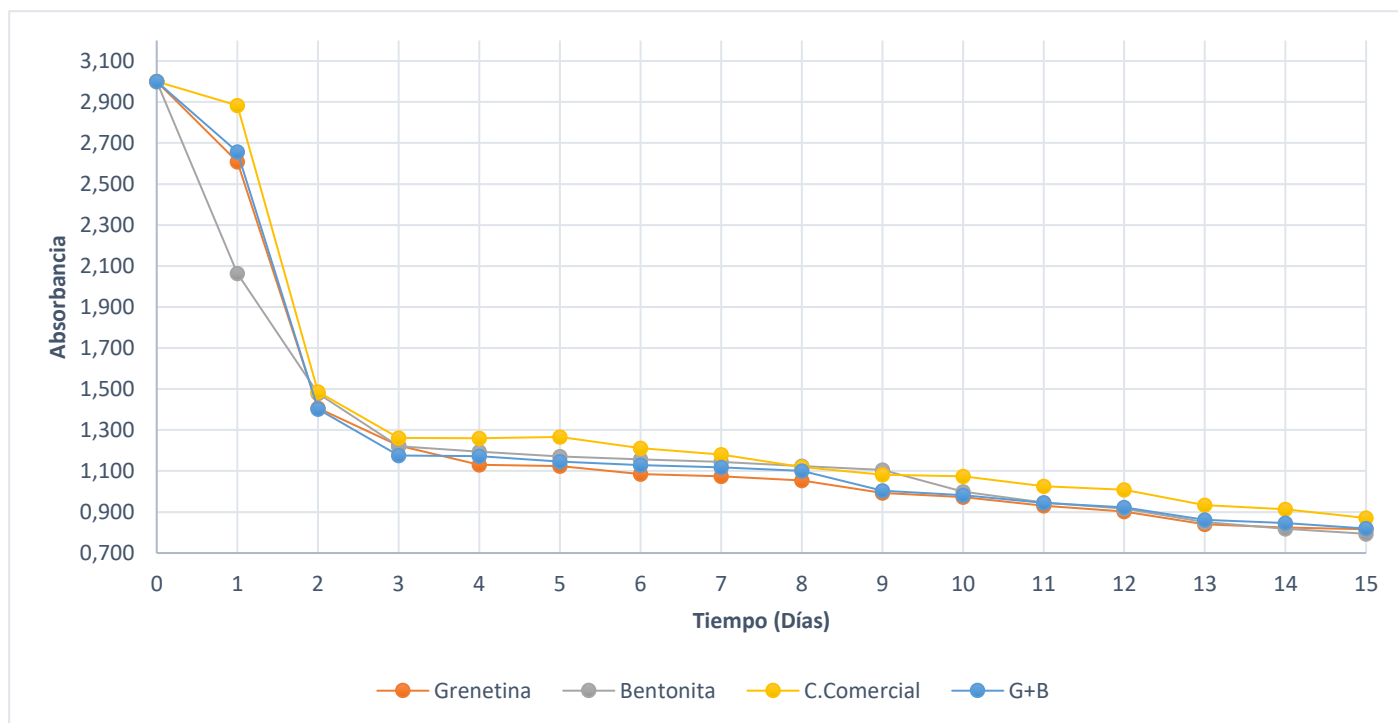


Figura 11 Datos de la clarificación de la tercera corrida de *Averrhoa carambola* L. a 400 nm

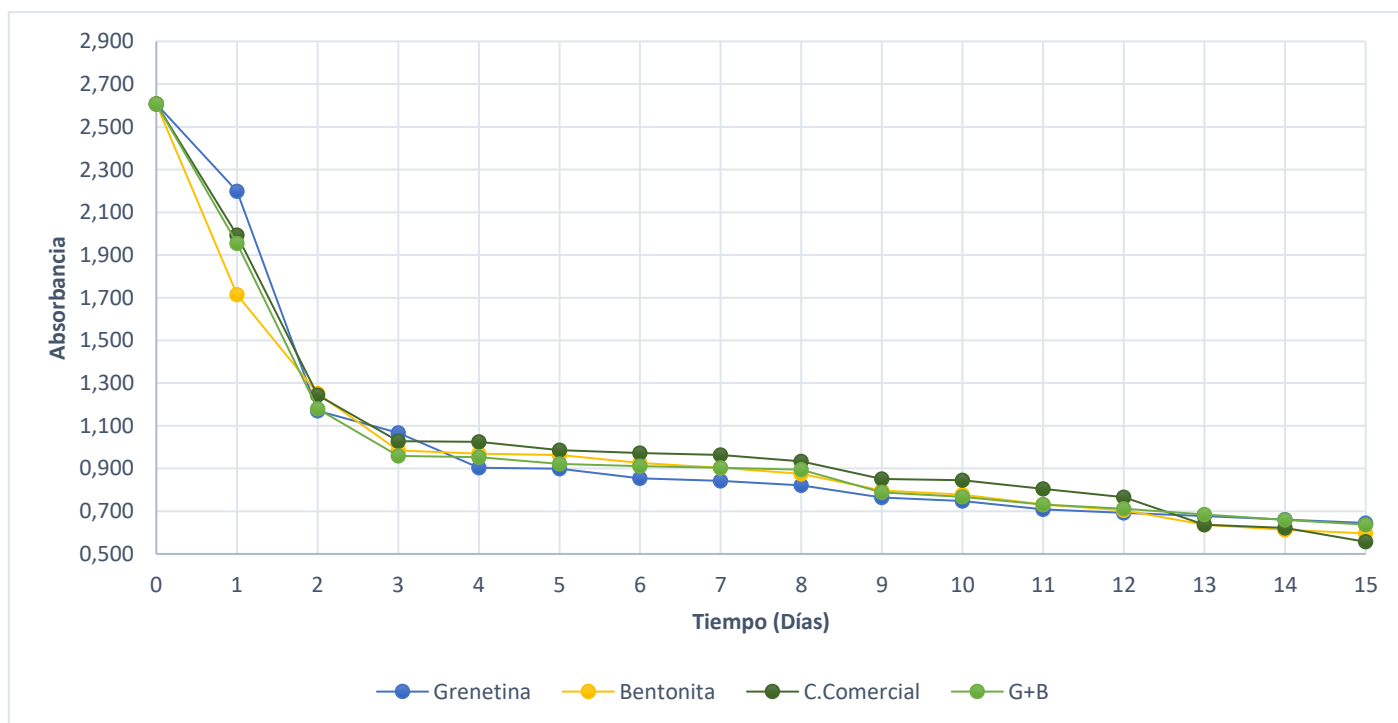


Figura 12 Datos de la clarificación de la tercera corrida de *Averrhoa carambola* L. a 450 nm.

Se escogió como unidad experimental representativa la tercera corrida de carambola esto debido a la acción floculante de los agentes clarificantes respecto al tiempo.

De acuerdo a lo que se observa en la figura 15 donde la absorbancia inicial fue de 3.000 y el valor final fue de 0.794 a 400 nm, demostrando que la bentonita como agente clarificante fue el que mostro mejor desempeño. La bentonita tiene la capacidad de absorber las proteínas, actuando como agente floculante aglutinando los sólidos disueltos siendo los factores que provocan turbidez en el fermento.

En la figura 16 se muestra el comportamiento de los agentes clarificantes medidos a 450 nm, donde al igual que a 400 nm la bentonita fue el segundo mejor resultado, sin embargo, a esta absorbancia, el clarificante comercial arrojó el mejor comportamiento pasando de 2.608 en el primer día a 0.557 nm en el último día, en comparación de la bentonita que culminó con 0,596 nm.

Clarificación de Nance

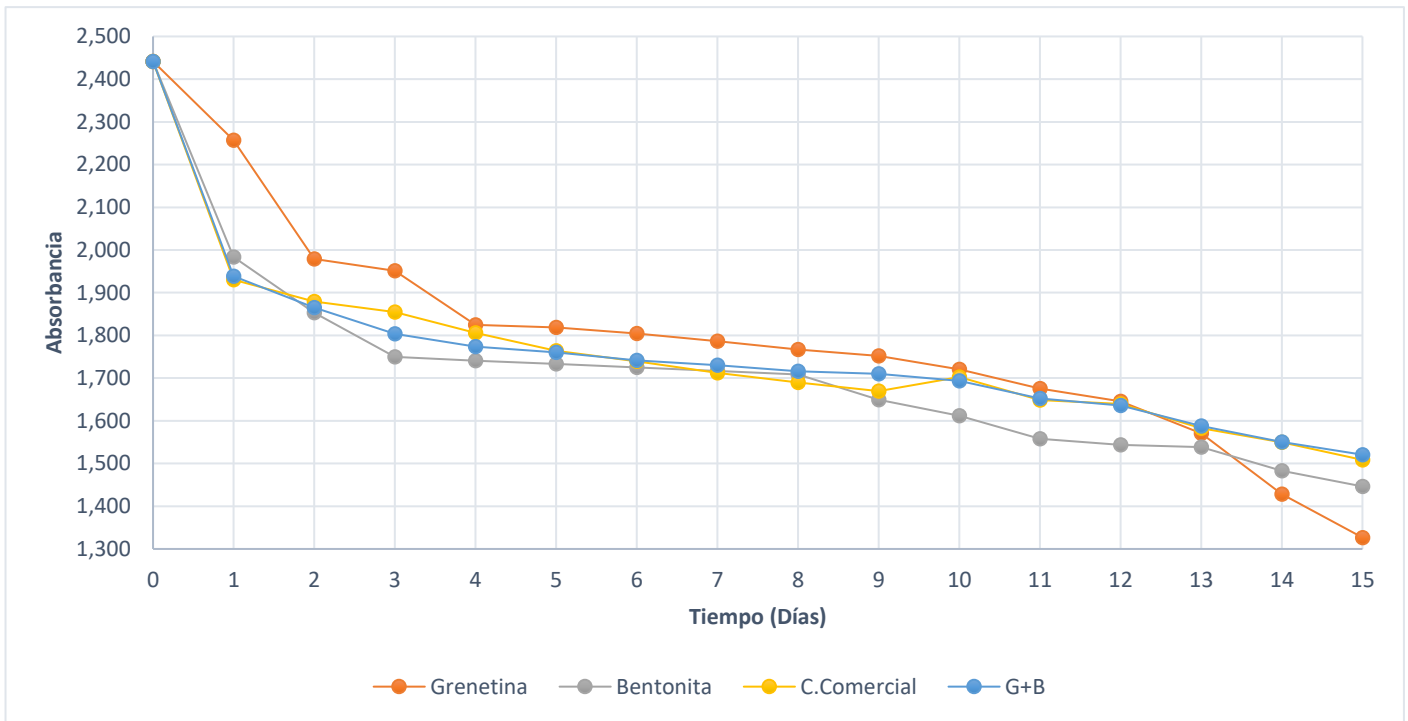


Figura 13 Datos de la clarificación de la segunda corrida de a 400 nm de *Byrsonima crassifolia* L.

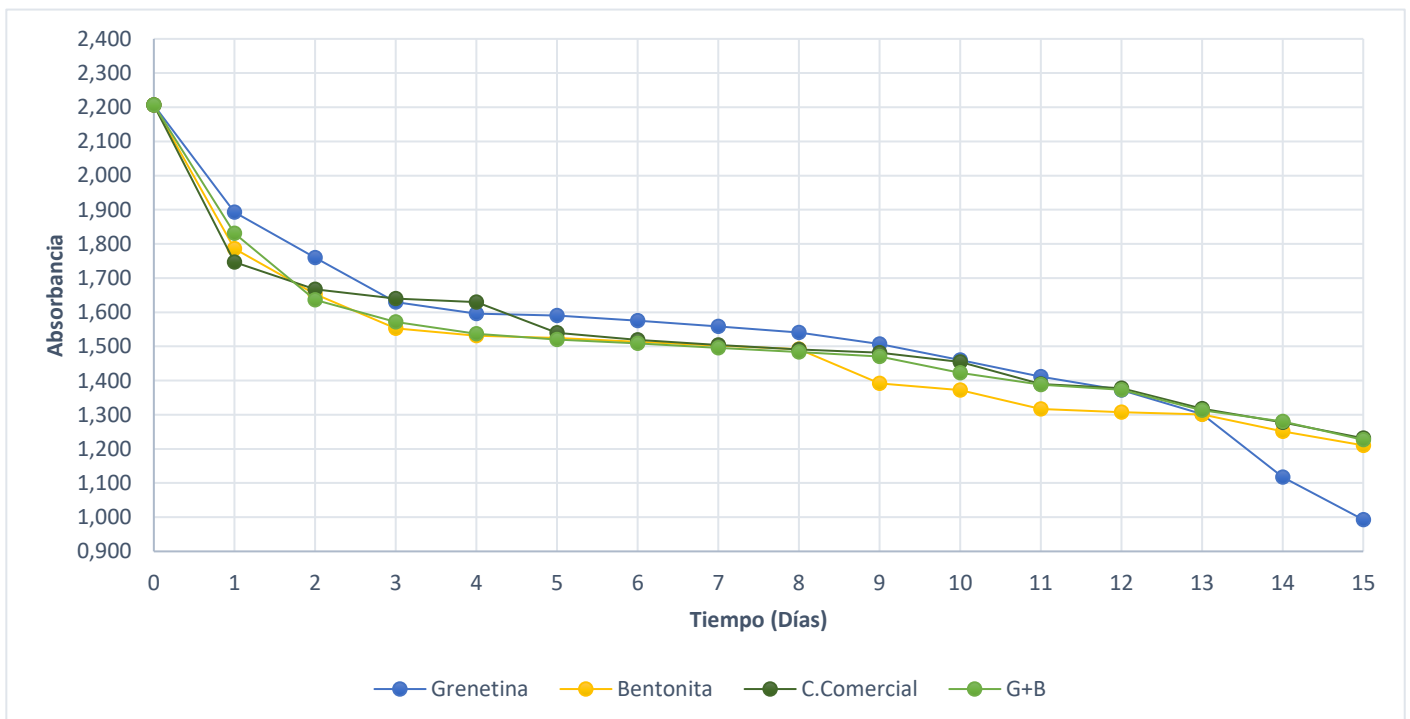


Figura 14 Datos de la clarificación de la segunda corrida de a 450 nm de *Byrsonima crassifolia* L.

Para la clarificación del nanche, se obtuvo mejores resultados en la segunda corrida experimental, respecto a la acción clarificante de acuerdo al tiempo transcurrido.

En la figura 13 se observa el comportamiento de los clarificantes medidos a 400 nm, denotando que la grenetina tuvo un mejor rendimiento, ya que el descenso de los datos es continuo, teniendo un valor inicial de 2.442 nm y finalizando con un valor de 1.327 nm.

Los datos que se muestran en la figura 20 en donde se observa que el que tiene la mejor actividad, es la grenetina, ya que al dar inicio el proceso se tenía un valor de 2.242nm y culminó con 0.993 nm el último día del proceso de clarificación.

La clarificación es uno de los procesos más importantes durante el desarrollo de bebidas, puesto que es la parte en donde se “limpia” el vino, este proceso lo que hace es sedimentar los sólidos suspendidos que se contengan haciendo que la bebida se vea con menor turbidez por ende le da un mejor aspecto.

De acuerdo a los resultados obtenidos se puede concluir mediante los gráficos analizados donde se observan puntos elevados, repuntes o “picos” que describen una agitación a la que se pudo llegar a someter el matraz al momento de extraer las muestras, para las pruebas pertinentes provocando así que los sólidos disueltos se remuevan, dando un aspecto turbio.

Por el contrario, los decrecimientos pre visualizados indican la acción de los agentes clarificantes usados para eliminar los sólidos suspendidos en las bebidas fermentadas, induciendo la floculación, es decir, cuando los sólidos comienzan a precipitarse al fondo del recipiente, determinando así que clarificante fue más eficaz.

Conclusión

Tomando en consideración el planteamiento del problema donde se menciona que las frutas utilizadas en el desarrollo del proyecto son productos de traspatio que generan una acumulación debido a su sobreproducción fue posible aprovecharlas en la realización de bebidas fermentadas, mismas que cumplieron un estándar de calidad e inocuidad determinado por los análisis químicos, físicos y microbiológicos, además de un proceso de clarificación y pruebas sensoriales a los que fueron sometidas las bebidas.

De acuerdo a los objetivos planteados se buscó la estandarización del proceso fermentativo de frutos regionales como lo son *Averrhoa carambola L.* y *Byrsonima crassifolia L.* realizando la propuesta en mejora de la preparación del mosto y la elaboración de reactores de fermentación, mediante análisis rutinarios, se establecieron parámetros que favorecieron la fermentación de carambola y nance, para esta parte del proyecto fue de gran importancia analizar las condiciones necesarias para el óptimo desarrollo de la levadura *S. cerevisiae*, ya que durante el desarrollo del proyecto se observó que la temperatura y el pH, afectaron al tiempo y rendimiento del proceso, debido a las condiciones ambientales que se produjeron durante la elaboración del proyecto, como menciona Martínez et al (1995) es importante mantener en un rango de temperatura adecuado (28-30 °C) para el medio de crecimiento de la levadura, es por esto que, la ayuda de sistemas de enfriamiento y equipos de incubación fueron de vital importancia para almacenar los reactores de fermentación. Además de conseguir el acondicionamiento del mosto al pH óptimo para el desarrollo de la levadura, como establece Suarez-Machín (2016) y con esto obtener exitosamente una bebida fermentada.

Una vez culminando la primera fase del proyecto, se procedió a dar inicio a la etapa de clarificado, donde se pusieron a prueba 4 agentes clarificantes de distinto origen, para favorecer la apariencia del producto donde se llevó a cabo un análisis espectrofotométrico con lo que fue posible determinar la concentración de sólidos suspendidos en la muestra, concluyendo que, los agentes clarificantes más eficaces fueron la bentonita para la bebida de carambola y para la bebida de nance fue la grenetina esto apoya a lo que el autor Feduchy E. (1955) menciona que los taninos presentes en la composición de la bebida serán los que den paso a la coagulación en la grenetina, el nance cuenta con un 20% de taninos en su composición como lo afirma Avilés G. (2015) provocó que este agente actuara con mayor eficacia. debido a su poder floculante con respecto al tiempo y facilitando la separación de las fases (sólido-liquido).

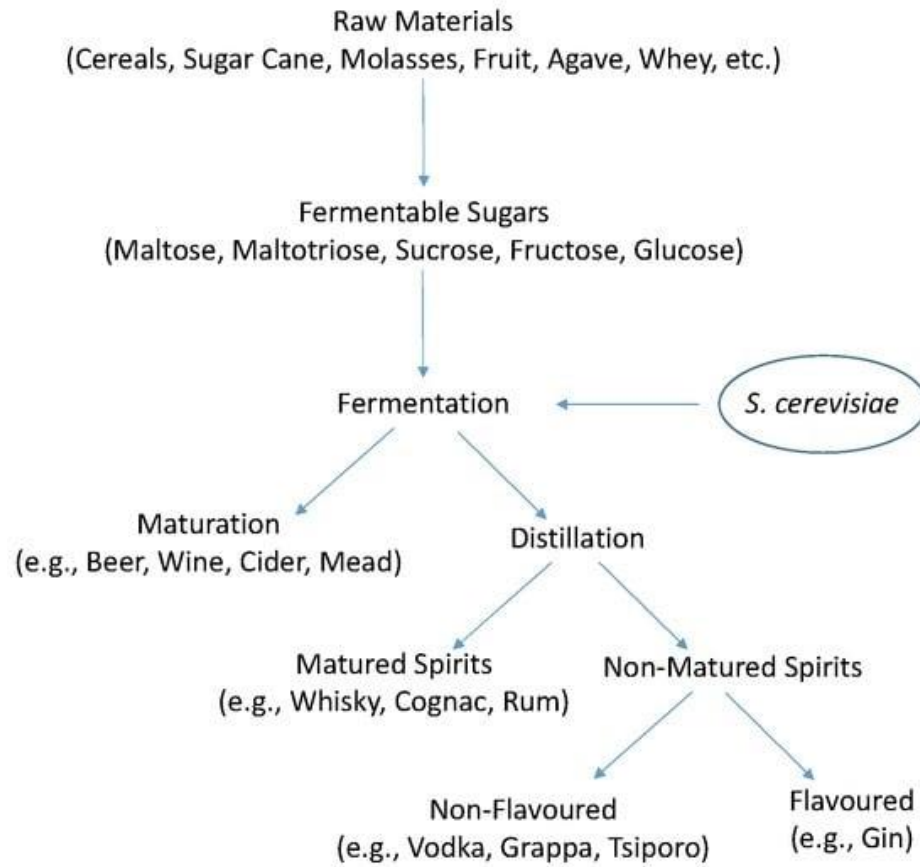
Bibliografía

- (1) Avilés-Peraza, G. (2015). Rico y popular: Importancia y usos tradicionales del nance (*Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth). *Herbario CICY*, 157-160.
- (2) Blouin, J., & Peynaud, E. (2006). *Enología práctica: Conocimiento y elaboración del vino*. Madrid: Mundi-Prensa.
- (3) Escudero, D. (2015). Obtención de bioetanol a partir de la inulina proveniente de la biomasa. Quito, Ecuador: Universidad central de Ecuador.
- (4) Federación Nacional de Cafeteros de Colombia. (2010). Fundamentos del proceso de fermentación en el beneficio del café. *Federación Nacional de Cafeteros de Colombia*, 1-12.
- (5) Feduchy Mariño, E. (1955). Clarificación de vinos. *Ministerio de agricultura*, 23-55.
- (6) Ferrari, A., Vinderola, G., & Weill, R. (2020). *Alimentos fermentados: microbiología, nutrición, salud y cultura*. Buenos Aires: Instituto Danone del Cono Sur.
- (7) Gobierno de México. (14 de Marzo de 2018). *Gobierno de México*. Obtenido de Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera: <https://www.gob.mx/siap/articulos/nanche-nance-o-changunga-conoces-su-sabor?idiom=es>
- (8) INFOJARDÍN. (2006). Obtenido de INFOJARDÍN.
- (9) LAROUSSE. (2016). *LAROUSSE COCINA*. Obtenido de <https://laroussecocina.mx/palabra/nanche-o-nance>
- (10) MALLINALLI. (06 de 12 de 2018). *MALLINALLI Herbolaria medica*. Obtenido de <http://malinalli-herbolariamedica.blogspot.com/2018/12/carambola-carambolo-star-fruit-averrhoa.html>
- (11) Martínez, M., Martín, R., Víguera, A., & Domínguez, E. (1995). Influencia de la temperatura en la fermentación alcohólica. *Zubia*, 137-149.
- (12) Olivero, RE, Aguas, M., Cury, R., & K. (2011). Evaluación del efecto de diferentes cepas de levadura (Montrachet, K1-V1116, EC-1118, 71B-1122 y IVC-GRE ®) y clarificantes sobre los atributos sensoriales del vino de naranja criolla (*Citrus sinensis*). *Revista Colombiana de Biotecnología*, XIII (1), 163-171.
- (13) Silvia, C. P., Jorge, J. N., & Hernán, F. V. (2009). *Manual de técnicas analíticas para mostos y vinos*. Inca.
- (14) Suárez-Machín, C. G.-C.-R. (2016). Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. *ICIDCA*, 50 (1), 20-28.

- (15) Walker, G. M., & Stewart, G. (2016). *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. *Beverages*. 2(4), 30.

Anexos.

Anexo 1 Las funciones clave de *Saccharomyces cerevisiae* en la producción de bebidas fermentadas.



Fuente: Adaptado de *Saccharomyces cerevisiae* in the production of fermented beverages. Beverages (p. 2) por Walker, G. M., & Stewart, G., 2016

Anexo 2 Tabla sobre los principales clarificantes v\u00ednicos, por la claridad y brevedad de exposici\u00f3n.

PRINCIPALES CLARIFICANTES.

Clarificante	Uso en el vino	Cantidad por Hl.	Momento oportuno para su uso	Trasiego
Ictiocola (Cola de pescado).	Vinos blancos pobres en taninos.	0'5-2 gramos	Despu\u00e9s de la ferm. lenta.	1-6 semanas
Gelatina	Vinos tintos, especialmente elimina la materia colorante precipitable por el fr\u00edo.	5-20 gramos	Despu\u00e9s de la ferm. lenta.	2-6 semanas
Alb\u00famina	Vinos tintos, menos aprop. para blancos.	2-3 claras de huevo	Despu\u00e9s de la ferm. lenta.	2-6 semanas
Case\u00ednatos	Vinos blancos pobres en tanino.	10-20 gramos	Despu\u00e9s de la ferm. lenta.	2-6 semanas
Tanino	Para clarificar con gelatina vinos pobres en sustancias t\u00e1nicas.	5-20 gramos	Cuando se necesite.	
Bentonita	Vinos blancos y tintos. Elimina parcialmente el hierro y la totalidad de las prote\u00ednas existentes en el vino, adem\u00e1s la mat. col. pp. por el fr\u00edo.	100-300 gramos	En el momento necesario, siendo mejor cuando m\u00e1s nuevo es el vino.	1-10 d\u00edas
Tierra activada	Para eliminar prote\u00edna y hierro, o decolorar parcialmente el vino.	100-500 gramos	Idem.	
Carb\u00f3n activado	Eliminaci\u00f3n de olores y sabores extra\u00f1os decoloraci\u00f3n.	5-30 gramos	Mosto o vino nuevo.	1-10 d\u00edas
Enzim\u00e1tico	Eliminaci\u00f3n pectinas.	100-1.000 gramos	Idem.	

Fuente: Adaptado de Clarificaci\u00f3n de vinos. *Ministerio de agricultura (p, 8)* Feduchy Mari\u00f1o, E. 1955.

Anexo 3 Tabla de determinación de pH en Mostos de Averrhoa carambola y *Byrsonima crassifolia* L. durante el proceso de fermentación.

pH						
Ensayos	C1	C2	C3	N1	N2	N3
Día 0	2.6	3.2	3.2	4.2	4	4
Día 1	3.1	3.2	2.9	4.1	3.8	3.9
Día2	3.1	3.1	3.1	4	3.8	3.8
Día 3	3.1	3	3.4	4	3.8	3.8
Día 4	3.1	3	3.6	3.9	3.8	3.8
Día 5	3.3	3.1	3.8	3.9	3.9	3.8
Día 6	--	3.1	3.6	3.9	--	3.8
Día 7	--	3.2	--	3.9	--	3.8
Día 8	--	--	--	3.9	--	--
Día 9	--	--	--	3.9	--	--
Día 10	--	--	--	4	--	--

Fuente: Autora

Anexo 4 Tabla de determinación de Grados brix en Mostos de Averrhoa carambola y *Byrsonima crassifolia* L. durante el proceso de fermentación.

°Brix						
Ensayos	C1	C2	C3	N1	N2	N3
Día 0	20	20	20	20	20	20
Día 1	18.4	19	18.4	18.7	18	17.4
Día2	16.8	17.4	16.8	17.2	15.8	15.4
Día 3	14.2	13.4	12.2	16	11	14.2
Día 4	10.4	11	11	15.8	10	13
Día 5	10	10	10	14	9	12.6
Día 6	--	9.4	9.6	12.8	--	10.8
Día 7	--	8.8	--	12	--	9.6
Día 8	--	--	--	11.6	--	--
Día 9	--	--	--	10.4	--	--
Día 10	--	--	--	10.4	--	--

Fuente: Autora

Anexo 5 Tabla de determinación de Acidez total en Mostos de Averrhoa carambola y *Byrsonima crassifolia* L. durante el proceso de fermentación.

Acidez total (g/L)						
Ensayos	C1	C2	C3	N1	N2	N3
Día 0	2.4	1.4	2.8	3.5	2.0	3.2
Día 1	7.7	1.6	8.1	3.5	2.3	5.9
Día 2	2.4	2.3	9.3	4.1	2.6	5.7
Día 3	2.5	3.8	10.6	4	4.2	6.1
Día 4	2.9	3.3	5.8	3.9	4.3	6.2
Día 5	4.1	3.4	3.9	5.0	8.1	6.8
Día 6	--	2.4	3.8	5.2	--	11.8
Día 7	--	5.0	--	2.3	--	15.4
Día 8	--	--	--	5.2	--	--
Día 9	--	--	--	4.9	--	--
Día 10	--	--	--	2.1	--	--

Fuente: Autora

Anexo 6 Tabla de determinación de Acidez volátil en Mostos de Averrhoa carambola y *Byrsonima crassifolia* L. durante el proceso de fermentación.

Acidez volátil						
Ensayos	C1	C2	C3	N1	N2	N3
Día 1	0.03	0.03	0.11	0.9	0.08	0.07
Día Final	0.45	0.20	0.22	0.12	0.12	0.17

Fuente: Autora

Anexo 7 Tabla de determinación de Azúcares reductores en Mostos de Averrhoa carambola y *Byrsonima crassifolia* L. durante el proceso de fermentación.

Azúcares reductores						
Ensayos	C1	C2	C3	N1	N2	N3
Día 1	1,7	1.3	1.1	1.7	1.9	1.0
Día Final	1,2	0.7	0.3	1,2	1.0	0.6

Fuente: Autora

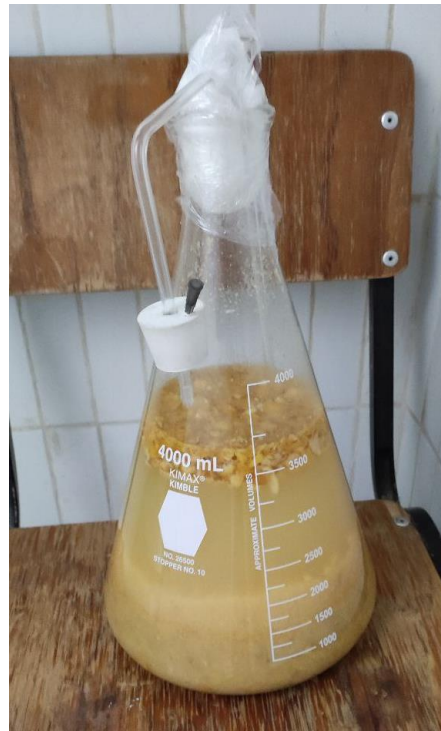
Anexo 8 ilustración de la Levadura *Saccharomyces cerevisiae* de Laboratorio de Microbiología ITTG



Anexo 9 Matracas semilla de carambola y nance después del proceso de esterilización



Anexo 10 Mostos de Carambola y Nance en proceso de fermentación



Anexo 11 Mostos de Carambola en proceso de clarificación



Anexo 12 Fermentos de Carambola y Nance embotellados

