

**DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS
DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS**

UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK

FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS APLICADAS

Trabajo de Fin de Carrera Titulado:

**“DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE
CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS”**

Realizado por:

DANIELA NICOLE VIZCAÍNO RUIZ

Director del proyecto:

Ing. Alberto Aguirre, Ph.D.

Como requisito para la obtención del título de:

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

Quito, 15 de septiembre de 2021

**DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS
DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS**

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

DECLARACIÓN JURAMENTADA

Yo, DANIELA NICOLE VIZCAÍNO RUIZ, con cédula de identidad # 171799643-1, declaro bajo juramento que el trabajo aquí desarrollado es de mi autoría, que no ha sido previamente presentado en ningún grado a calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

A través de la presente declaración, cedo mis derechos de propiedad intelectual correspondientes a este trabajo, a la UNIVERSIDAD INTERNACIONAL SEK, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su reglamento y por la normativa institucional vigente.



1717996431

**DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS
DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS**

DECLARATORIA

El presente trabajo de investigación titulado:

**“DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE
CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS”**

Realizado por:

DANIELA NICOLE VIZCAÍNO RUIZ

Como Requisito para la Obtención del Título de:

INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

ha sido dirigido por el profesor

ALBERTO ALEJANDRO AGUIRRE BRAVO

quien considera que constituye un trabajo original de su autor



**DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS
DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS**

LOS PROFESORES INFORMANTES

Los Profesores Informantes:

LINO ARISQUETA Ph.D.

SUSANA CHAMORRO

Después de revisar el trabajo presentado,

lo han calificado como apto para su defensa oral ante

el tribunal examinador



Firmado electrónicamente por:
**SUSANA ELIZABETH
CHAMORRO ARIAS**

Quito, 14 de septiembre de 2021

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

AGRADECIMIENTO

A mi familia y amigos.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

15/09/2021 12:24:11

Para someter a:

To be submitted:

Determinación de las propiedades aromáticas de caldos de fermentación realizados en base a frutas.

Daniela Nicole Vizcaíno¹, Alberto Alejandro Aguirre^{1*}

¹ Universidad Internacional SEK, Facultad de Ingeniería y Ciencias Aplicadas, Quito, Ecuador. 14/09/2021 12:24:11

* AUTOR DE CORRESPONDENCIA: Ing. Alberto Alejandro Aguirre Ph.D., Universidad Internacional SEK, Facultad de Ingenierías y Ciencias Aplicadas, Quito, Ecuador.

Teléfono: +593-; email: alberto.aguirre@uisek.edu.ec

Título corto o Running title: Propiedades aromáticas, caldos de fermentación, frutas.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Índice de contenidos

Introducción.....	5
Materiales y métodos.....	8
Área de estudio	8
Fase de campo	8
Elaboración, colocación y recolección de trampas para capturar microorganismos (levaduras y bacterias) nativos.	9
Fase de laboratorio.....	9
Curvas de calibrado de biomasa	10
Operación del quimiostato y análisis sensorial.....	10
Análisis estadístico	12
Resultados.....	12
Discusión de resultados	20
Conclusiones.....	21
Recomendaciones	21
Bibliografía.....	23
Anexos	27

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Resumen

La fermentación es un proceso bioquímico en el que moléculas complejas se descomponen en moléculas más simples. En los granos de café y cacao se utiliza principalmente con el fin de eliminar la capa de mucilago, disminuir el contenido de agua del grano y ayudar a mejorar el sabor, la textura y el aroma del producto final. Se ha determinado que el uso de cultivos iniciadores puede mejorar las características organolépticas, reducir el tiempo de procesamiento y estandarizar la calidad del grano fermentado (Ferreira Silva et al., 2013). En Ecuador no hay estudios sobre el uso de caldos de fermentación como mejoradores de características organolépticas de granos fermentados; por lo tanto, el objetivo general del trabajo fue determinar las propiedades organolépticas de caldos de fermentación realizados en base a frutas para aplicarlos como posibles mejoradores de aroma y sabor de granos fermentados. Para esto se seleccionaron dos jugos con mejores características de aroma (Especial y Sierra), se trabajó con dos tasas de dilución (0.4 y 0.96) h^{-1} en biorreactor, se midió concentración de biomasa, grados Brix, pH y se realizó un análisis sensorial de aroma para cada jugo y tasa de dilución. En el resultado de análisis sensorial de los dos jugos a las dos tasas de dilución se obtuvieron aromas frutales, ácidos, fermentados y acaramelados, pero no existieron diferencias estadísticamente significativas en el perfil de aroma, tampoco se evidenció una fuerte asociación del aroma a caramelo o frutal con ninguna condición (jugo o tasa de dilución usada), por lo tanto no fue posible generar un caldo de fermentación idóneo para mejorar las características organolépticas de granos fermentados.

Palabras clave: Fermentación, caldos de fermentación, características organolépticas, granos fermentados, análisis sensorial, aroma.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Abstract

Fermentation is a biochemical process in which complex molecules are broken down into simpler molecules. In coffee and cocoa beans, it is used mainly to eliminate the layer of mucilage, reduce the water content of the bean, and help improve the taste, texture, and aroma of the final product. It has been determined that the use of starter cultures can improve the organoleptic characteristics, reduce the processing time, and standardize the quality of the fermented grain (Ferreira Silva et al., 2013). In Ecuador there are no studies on the use of fermentation broths as enhancers of the organoleptic characteristics of fermented grains; Therefore, the general objective of the work was to determine the organoleptic properties of fermentation broths made based on fruits to apply them as possible aroma and flavor enhancers of fermented grains. For this, two juices with better aroma characteristics (Especial and Sierra) were selected, two dilution rates (0.4 and 0.96) h^{-1} were used in each bioreactor, dry biomass, Brix degrees, pH were measured and performed a sensory analysis for each juice and dilution rate. In the result of the sensory analysis of the two juices at the two dilution rates, fruity, acidic, fermented, and caramel aromas were obtained, but there were no statistically significant differences in the aroma profile; there was also no evidence of a strong association of caramel or fruity aroma with any condition (juice or dilution rate used), therefore it was not possible to generate an ideal fermentation broth to improve the organoleptic characteristics of fermented grains.

Keywords: Fermentation, fermentation broths, organoleptic characteristics, fermented grains, sensory analysis, aroma.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Introducción

La fermentación es un proceso bioquímico en el que moléculas complejas se descomponen en moléculas más simples, y se obtienen productos líquidos y gases (compuestos volátiles); se puede dar en ausencia (anaerobio) o presencia (aerobio) de oxígeno (Haile & Kang, 2019). La fermentación natural de los alimentos involucra diferentes procesos bioquímicos, donde las enzimas microbianas degradan moléculas complejas (carbohidratos, proteínas y lípidos), y las convierten en moléculas más simples (alcoholes, ácidos, ésteres y cetonas), estos productos son los causantes de cambios en el olor, sabor, textura, pH, en el alimento (Puerta & Echeverry, 2015). Este proceso implica la acción de microorganismos como: levaduras, bacterias y hongos filamentosos; en los granos de café y cacao se utiliza principalmente con el fin de eliminar la capa de mucilago, disminuir el contenido de agua del grano y ayuda a mejorar el sabor, la textura y el aroma del producto final (Ferreira Silva et al., 2013). Durante la fermentación se producen diferentes metabolitos microbianos, que son los responsables de cambiar las características organolépticas del grano fermentado.

Los caldos de fermentación se definen como medios líquidos que son utilizados para el crecimiento de microorganismos capaces de fermentar los componentes del medio, un ejemplo son los jugos de frutas que promueven el crecimiento de microorganismos fermentadores, los cuales generan modificaciones en el perfil de aroma natural de los jugos produciendo compuestos volátiles y / o no volátiles, que contribuyen realzando el aroma de cada producto, especialmente en productos a base de granos fermentados (Panagiota Tsafraquidou, 2020; Rodríguez, 2020). Se debe empezar con un medio líquido estéril, al cual posteriormente se le añade el inóculo y se procede a incubar a temperatura adecuada en un biorreactor diseñado específicamente para el proceso que se desea realizar (Payseur & DeVorce, 2020). Un biorreactor es un equipo diseñado para proporcionar un ambiente controlado para el crecimiento eficaz de las células microbianas, consta de tres diferentes modos de operación (batch, fedbatch

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

y continuo) que se caracterizan principalmente por como el sustrato es alimentado al tanque en donde se controlan condiciones como: pH, temperatura, agitación, etc. y por cómo se maneja el volumen dentro del tanque (si se mantiene constante o es variable) (Singh, Kaushik, & Biswas, 2014). En la Tabla 1 se resumen los modos de operación utilizados en el estudio.

Tabla 1: Modos de operación de los biorreactores ocupados en el estudio. (Singh et al., 2014)

Modo de operación	Nutrientes (inicio)	Volumen	Fin
Discontinuo o batch	El medio inoculado se coloca al inicio del proceso.	Constante	Sustrato es consumido.
Continuo	El medio inoculado se coloca al inicio del proceso y se complementa con flujo constante de medio.	Constante	Estado estacionario (crecimiento de cultivo y la tasa de mortalidad se mantienen constantes).

Se ha determinado que el uso de cultivos iniciadores puede mejorar las características organolépticas, reducir el tiempo de procesamiento y estandarizar la calidad del grano fermentado (Ferreira Silva et al., 2013). Los cultivos iniciadores consisten en microorganismos inoculados directamente en materiales alimenticios con el fin de provocar cambios deseados en el producto. Estos cambios son: mejor conservación, mejora del valor nutricional, aumento del valor económico, mejora de las características sensoriales del producto, entre otros (Ribeiro et al., 2018). Por ejemplo, para los productores de café y cacao, una fermentación controlada mediante el uso de cultivos iniciadores es de gran utilidad debido a que aumenta la calidad del producto sin aumentar en un alto rango el costo de producción (Ferreira Silva et al., 2013). Para que los cultivos iniciadores sean funcionales es recomendable el uso de cepas de tipo salvaje que se originan en el ecosistema natural, ya que generalmente ejercen actividades metabólicas más elaboradas en comparación con los cultivos iniciales industriales (Vinícius et al., 2015)

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

La calidad de los alimentos y bebidas se mide por sus características (del Mar Enciso Molano, 2019), mediante una evaluación sensorial que es un método científico basado en el uso de los sentidos (tacto, gusto, olfato, vista, oído) y, permite medir y analizar las respuestas a los alimentos según la persona los percibe. Consta de cuatro técnicas, la "evocación" se basa en disminuir los valores erróneos por medio de modelos para la preparación y recepción de muestras en condiciones controladas; la "medición" se basa en la cuantificación de como la persona percibe el alimento por medio de la toma de datos numéricos, para determinar relaciones con respecto a las características del producto; el "análisis" que es fundamental para la examinación sensorial, puesto que por medio de este método se puede determinar que las respuestas sensoriales sean reales y no una respuesta a una variación sobre la que no se tiene control, es importante el uso de métodos estadísticos para llevar a cabo este paso; por último la "interpretación" que se basa en la comprensión de los datos por medio de hipótesis y conocimientos previos, las conclusiones sobre las características del alimento se obtienen en este método (Lawless & Heymann, 2010). El panel de catación es el encargado de determinar las características sensoriales del alimento evaluado y está conformado por personas "panelistas" previamente entrenadas (Gutiérrez G. & Barrera B., 2015).

En Ecuador no hay estudios sobre el uso de caldos de fermentación como mejoradores de características organolépticas de granos fermentados, sin embargo, en varios países ha habido publicaciones en las que se utiliza cultivos iniciadores de fermentación, a pequeña escala en la industria agrícola. La mayoría de ellos reportan información sobre la cinética de inhibición de patógenos transmitidos por alimentos por cultivos típicos de BAL (bacterias ácido-lácticas), viabilidad y supervivencia de enteropatógenos lesionados subletalmente en alimentos fermentados (Holzapfel, 2002). Además, algunos estudios detallan la aplicación de estos cultivos como un caldo de cepas mixtas que confieren una mejor resistencia al deterioro y permanecen inalterados por la fluctuación en el manejo. En el caso de los granos de café, esta

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

metodología produce más metabolitos derivados de la levadura que los procedimientos estándar, estos metabolitos contribuyen a notas frutales, florales, dulces y de otro tipo, únicas al carácter de los productos alimenticios (Vinícius et al., 2015). En resumen, el uso de un cultivo iniciador sugiere que se puede garantizar una calidad estandarizada y reducir los resultados económicos negativos, ya que disminuye el tiempo del proceso hasta la mitad, ya sea en granos u otros alimentos fermentados como: queso, yogur, pan, cerveza, vino, etc. (Hutkins, 2006; Melo et al., 2015).

Como hipótesis del trabajo, se espera encontrar si la utilización de cepas de levaduras y bacterias nativas permite obtener caldos de fermentación con propiedades organolépticas adecuadas para aplicarlos como posibles mejoradores de aroma y sabor de granos fermentados.

Por consiguiente, el objetivo general fue determinar las propiedades aromáticas de caldos de fermentación realizados en base a frutas para aplicarlos como posibles mejoradores de aroma y sabor de granos fermentados. Los objetivos específicos fueron (1) cultivar levaduras y bacterias nativas que puedan ser usadas para la generación de caldos de fermentación, (2) analizar las características fisicoquímicas y organolépticas de distintos caldos de fermentación generados a partir de las levaduras y bacterias nativas cultivadas y (3) seleccionar el caldo de fermentación, que represente el más idóneo para ser utilizado como posible mejorador de las características organolépticas de granos fermentados.

Materiales y métodos

Área de estudio

- Área general: Distrito Metropolitano de Quito y Noroccidente de Pichincha.
- Área específica: Calle Alberto Einstein y 5ta Transversal. Carcelén, Quito – Ecuador.

Fase de campo

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Elaboración, colocación y recolección de trampas para capturar microorganismos (levaduras y bacterias) nativos.

Se seleccionaron 3 sitios en donde se colocaron las trampas para capturar a los microorganismos nativos, de los cuales uno se ubica cerca a la mitad del mundo y los otros dos sitios se ubican vía Los Bancos. Las trampas se colocaron el viernes y fueron recolectadas el domingo.

Coordenadas geográficas de los sitios de captura:

- Intiñan (San Antonio): S 00.00035°, W078.45417°, Altura: 2477 m
- Vía a Los Bancos: N 00.02606°, W078.63258°, Altura: 1977 m
- Vía a Los Bancos: N 00.02620°, W078.63987°, Altura 1846 m

Se seleccionaron estos sitios debido a su gran biodiversidad y su clima, que tiene temperaturas "cálidas-templadas" ya que estas oscilan entre 25 a 27 °C. El primer sitio se escogió con el fin de obtener microorganismos que se encuentren adaptados a las condiciones del lugar en donde se llevó a cabo la experimentación. Los otros sitios se escogieron con el fin de obtener microorganismos nativos del Noroccidente de Pichincha.

Para las trampas se preparó un licuado de frutas (papaya, plátano, taxo), y se pusieron 40 mililitros del licuado en vasos plásticos pequeños, posteriormente se cubrieron los vasos con una malla para que no entren insectos y se colocaron las trampas en los sitios seleccionados.

Se colocaron 8 trampas, distribuidas de la siguiente manera:

- 2: Intiñan (San Antonio)
- 2: Vía a Los Bancos (Reserva Pahuma)
- 4: Vía a Los Bancos (Reserva Los Armadillos)

Las trampas recolectadas se juntaron en un solo recipiente y se añadió 15% (v/v) de glicerol para su posterior almacenamiento a -20°C.

Fase de laboratorio

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Curvas de calibrado de biomasa

Se prepararon 4 diferentes jugos de frutas

- Tropical: Papaya, plátano, mango y sandía.
- Sierra: Uva, manzana y granadilla.
- Mix: Uva, manzana, granadilla, papaya, plátano, mango y sandía.
- Especial: Guayaba, guanábana y tomate de árbol.

Se colocaron 15 mL de inóculo que se obtuvo de las trampas, en 235 mL de cada uno de los jugos y se incubaron a 30°C por 5 días. Se ajustó el pH de todos los jugos a 5, con hidróxido de sodio 1 M. Se midió pH, °Brix y alcohol en los 4 jugos, antes y después de la incubación.

Se hicieron diluciones para cada jugo (1:2, 1:4, 1:6, 1:10, 1:15, 1:20 y 1:25) y se midió la densidad óptica a 600 nm en el espectrofotómetro.

Se tomaron 40 mL del jugo incubado y se colocaron en un recipiente de aluminio previamente secado y pesado. Posteriormente los recipientes que contenían el jugo fueron llevados a la estufa a 100°C, hasta alcanzar peso constante.

Se procedió a hacer el siguiente cálculo:

$$\text{Concentración de biomasa seca en los jugos} = \frac{(\text{masa recipiente seco} + \text{microorganismos}) - (\text{masa recipiente seco})}{40 \text{ mL}}$$

Se relacionó las densidades ópticas con la concentración de biomasa seca para realizar las curvas de calibrado de biomasa.

Se tomó como referencia para cuantificar la concentración de biomasa la curva de calibrado de biomasa realizada con el jugo Sierra, ya que la que se hizo con el jugo Especial no se pudo realizar por inconvenientes técnicos.

Operación del quimiostato y análisis sensorial

Operación del quimiostato: se seleccionaron los jugos con mejores características de aroma (Sierra y Especial), para colocarlos en el biorreactor a una agitación de 100 rpm

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

constantes. Se realizaron ensayos por duplicado, es decir, se trabajó con dos biorreactores para el jugo Sierra y dos biorreactores para el jugo Especial.

- Operación batch: inicialmente se realizó un cultivo batch, con un volumen de 500 mL (450 mL jugo y 50 mL inóculo), donde se midió densidad óptica y cantidad de azúcar, pH y alcohol, hasta alcanzar la fase de crecimiento exponencial.
- Operación continua: una vez alcanzada la fase de crecimiento exponencial se empezó con el cultivo continuo en donde se utilizaron diferentes flujos de entrada para obtener distintas tasas de dilución.

Se trabajó con 2 tasas de dilución diferentes (0,40 y 0,96) h^{-1} , que se calcularon con la siguiente fórmula:

$$D = \frac{F}{V_{reactor}}$$

donde: D es la tasa de dilución, F es el flujo y $V_{reactor}$ es el volumen del reactor.

Se tomaron 100 mL de muestra después de llegar al estado estacionario; se procedió a hacer el análisis sensorial de aroma y se midió grados Brix con un refractómetro, etanol con un alcoholímetro de vidrio y pH con un potenciómetro.

Para el análisis sensorial de aroma se utilizó como referencia (World Coffee Research, 2017) y (Simat, Schneider-Häde, Uhl, & Mleczko, 2017), y se definieron los estándares de aroma en una escala del 0 al 15, ANEXO 5; donde 0 representa: nada intenso, 6: ligeramente intenso, 8: moderadamente intenso y, 15: extremadamente intenso.

Se seleccionaron 5 personas, para conformar el panel de catación, las cuales fueron entrenadas con los estándares de aroma establecidos. Se realizaron 4 sesiones de entrenamiento del panel, donde se prepararon las referencias para cada atributo de aroma.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Una vez terminadas las sesiones de entrenamiento se procedió a hacer el análisis sensorial de aroma de cada muestra. Los panelistas asignaron a cada muestra una puntuación de intensidad para cada atributo evaluado y se sacó un promedio de las puntuaciones de los jueces para cada muestra evaluada.

Análisis estadístico

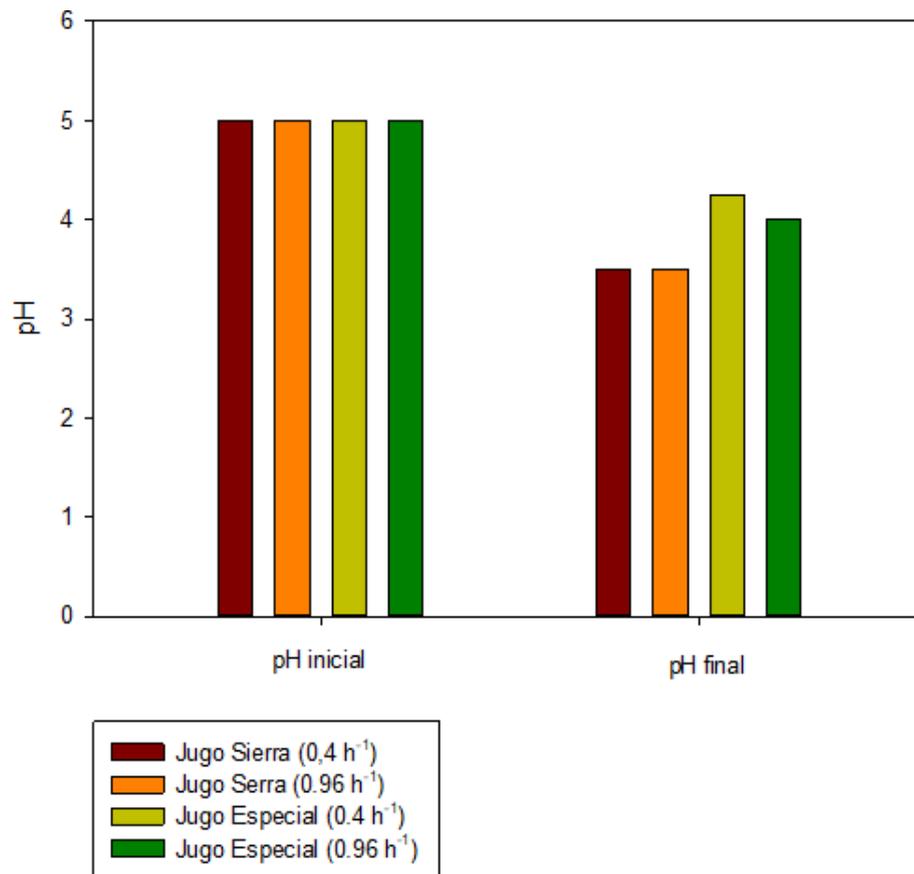
Se realizó un análisis estadístico de Wilcoxon, comparando los jugos (Sierra y Especial) y las tasas de dilución (0.4 h^{-1} y 0.96 h^{-1}), con el fin de ver si los datos tienen diferencias significativas o no. Se realizó un análisis de PERMANOVA para comparar los perfiles de aroma de cada biorreactor. También se hizo un análisis de componentes principales.

Resultados

En el estado estacionario el valor de pH de los dos jugos, a las dos tasas de dilución, disminuyó. En el jugo Sierra a una tasa de dilución de 0.4 h^{-1} , el pH bajó de 5 a 3,5; de igual forma que a una tasa de dilución de 0.96 h^{-1} . Por otra parte, el pH del jugo Especial disminuyó de 5 a 4,25; a una tasa de dilución de 0.4 h^{-1} , mientras que para una tasa de dilución de 0.96 h^{-1} el pH bajó de 5 a 4. Figura 1.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

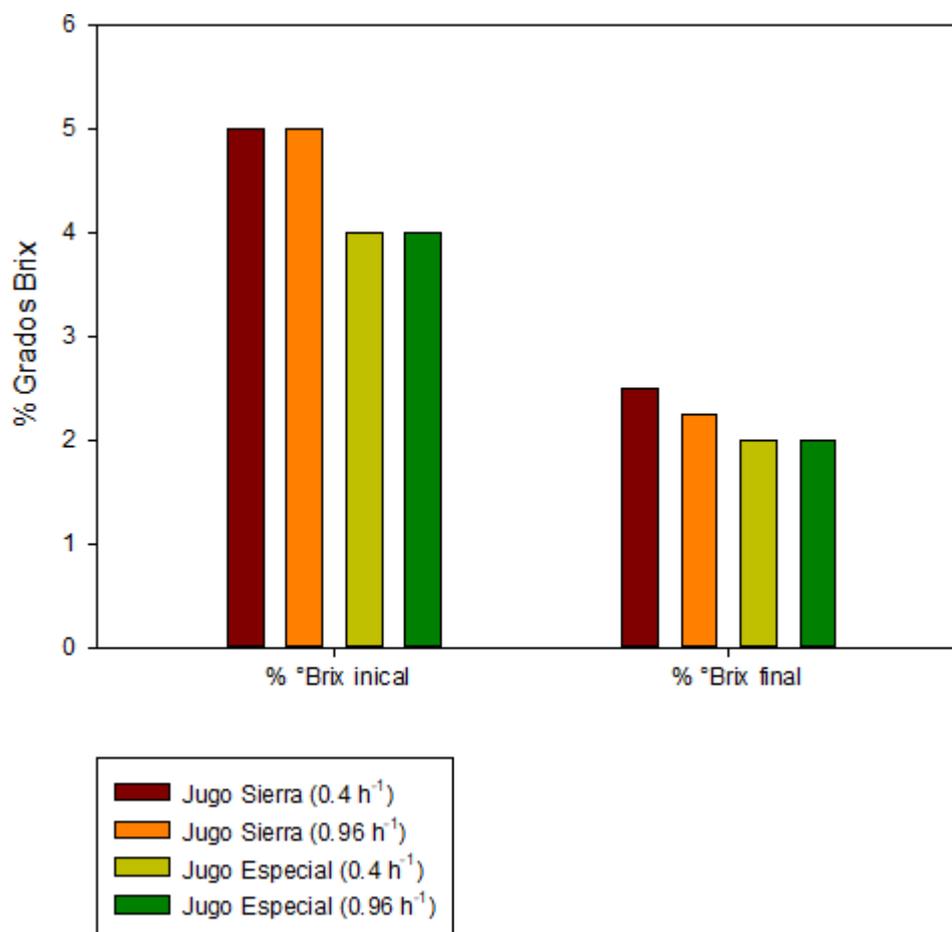
Figura 1: Disminución de pH de los jugos Sierra y Especial a dos tasas de dilución (0.4 h^{-1} y 0.9 h^{-1}).



Los grados Brix de los dos jugos disminuyeron, a casi la mitad de su porcentaje inicial, en los dos jugos a las dos tasas de dilución. En el jugo Sierra los grados brix disminuyeron de 5 a 2.5% a una tasa de 0.4 h^{-1} , y de 5 a 2.25% a una tasa de 0.96 h^{-1} . Los grados brix en el jugo Especial bajaron de 4 a 2% a las dos tasas de dilución. Figura 2.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Figura 2: Disminución de grados Brix de los jugos Sierra y Especial a dos tasas de dilución (0.4 h^{-1} y 0.9 h^{-1}).



No se observó generación de etanol a ninguna tasa de dilución en ninguno de los dos jugos.

En el cultivo continuo del jugo Sierra como promedio del primer y segundo biorreactor se obtuvo una concentración microbiana de 0.88 g/L en la dilución de 0.4 h^{-1} con una desviación estándar de 0.079 entre los dos biorreactores y, una concentración microbiana de 0.95 g/L en la dilución de 0.96 h^{-1} con una desviación estándar 0.061 , entre los dos biorreactores, Figura 3. Para el cultivo continuo del jugo Especial se obtuvo una concentración microbiana como promedio de los dos biorreactores de 1.85 g/L para la tasa de dilución de 0.4 h^{-1} con una desviación estándar de 0.133 y, una concentración microbiana de 1.33 g/L para la tasa de dilución de 0.96 h^{-1} con una desviación estándar de 0.015 , Figura 4.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Figura 3: Tasa de dilución vs Concentración de biomasa microbiana (g/L) en el jugo Sierra.

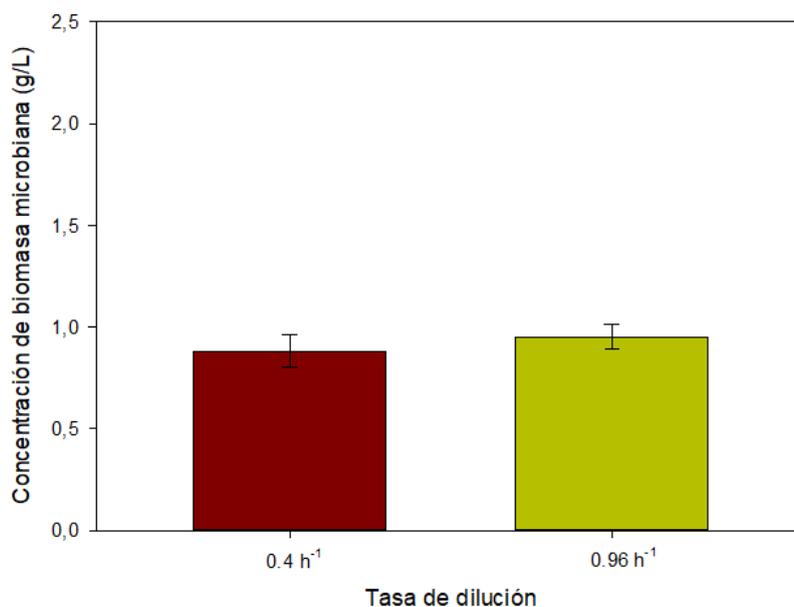
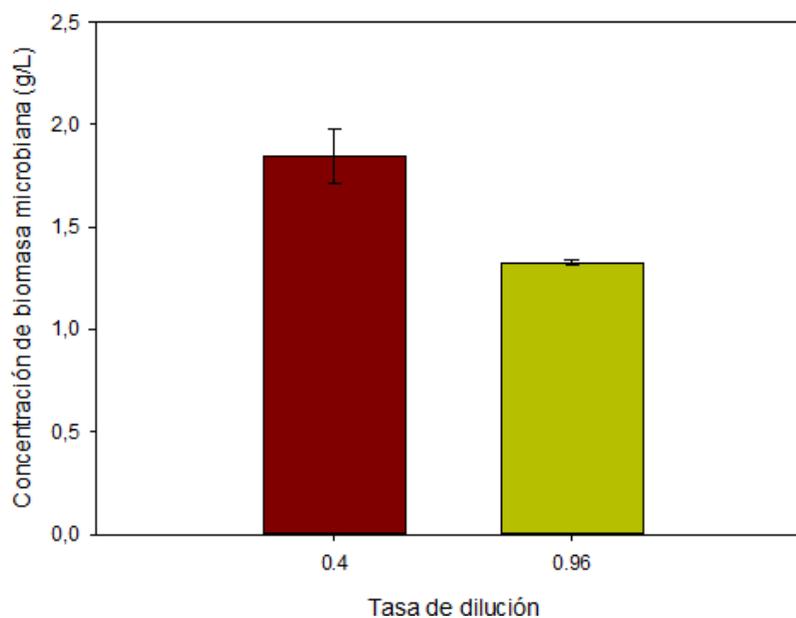


Figura 4: Tasa de dilución vs Concentración de biomasa microbiana (g/L) en el jugo Especial.

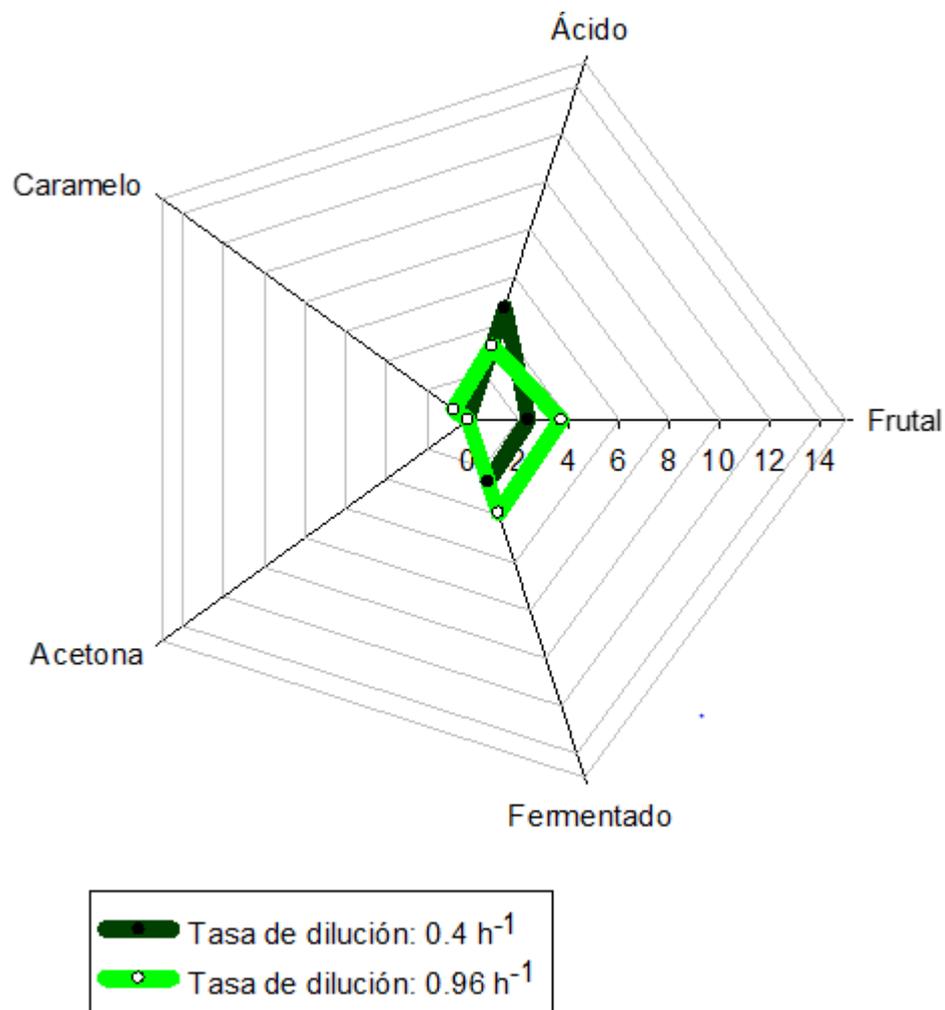


La evaluación sensorial incluyó los siguientes aromas del jugo: frutal, ácido, caramelo, acetona, fermentado, (con puntajes de 1 a 15), y fueron calificados por 5 jueces. Los resultados sensoriales de los experimentos se presentan en Figura 5 y Figura 6, mostrando los valores medios de los atributos sensoriales por jugo y tasa de dilución.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

El análisis sensorial del jugo Sierra a una tasa de dilución de $0.4 h^{-1}$ dio como resultado un aroma mayoritariamente ácido (4.7) con una desviación estándar de 1.27, seguido de un aroma frutal (2.4) y fermentado (2.6), con una desviación estándar de 1.41 y 1.69 respectivamente; mientras que no se percibieron aromas a caramelo y acetona. Para la tasa de dilución de $0.96 h^{-1}$ se obtuvo un aroma mayoritariamente fermentado (3.9) con una desviación estándar de 0.42, seguido de aromas frutales (3.7) y ácidos (3.1), con una desviación estándar de 2.12 y 2.68 respectivamente, se percibió un ligero aroma a caramelo (0.7) con una desviación estándar de 0.14, y no se notó aroma a acetona.

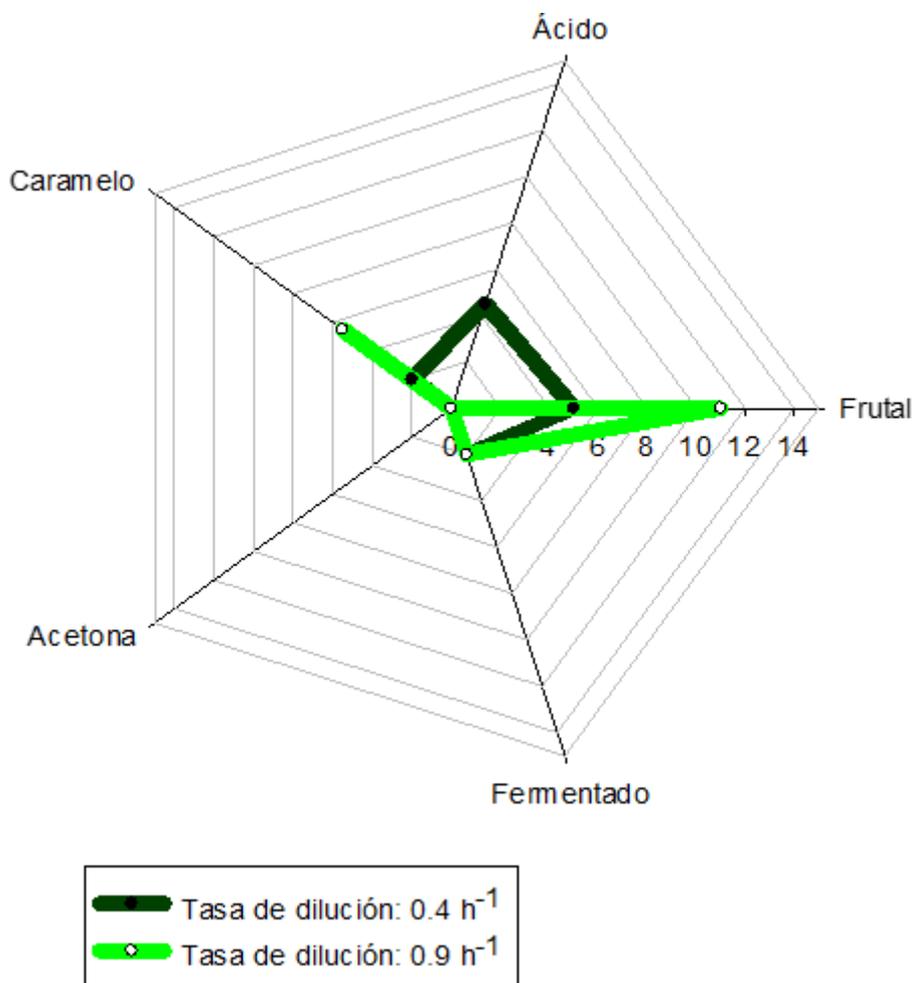
Figura 5: Análisis sensorial de aroma de jugo Sierra.



DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

El análisis sensorial del jugo Especial a una tasa de dilución de 0.4 h^{-1} dio como resultado un aroma mayoritariamente frutal (5) con una desviación estándar de 1.41, seguido de aromas a ácido (4.5), fermentado (2) y caramelo (2), con una desviación estándar de 2.12, 0 y 1.41, respectivamente, mientras que no se percibieron aromas a acetona. Para la tasa de dilución de 0.96 h^{-1} se obtuvo un aroma mayoritariamente frutal (11) con una desviación estándar de 1.41, seguido de aromas a caramelo (5.5) y fermentado (2) con una desviación estándar de 0.7 y 0 respectivamente, no se percibieron aromas a ácido y acetona.

Figura 6: Análisis sensorial de aroma de jugo Especial.



En el análisis de Wilcoxon no se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre el pH, grados Brix y concentración de biomasa al comparar la tasa de dilución 1

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

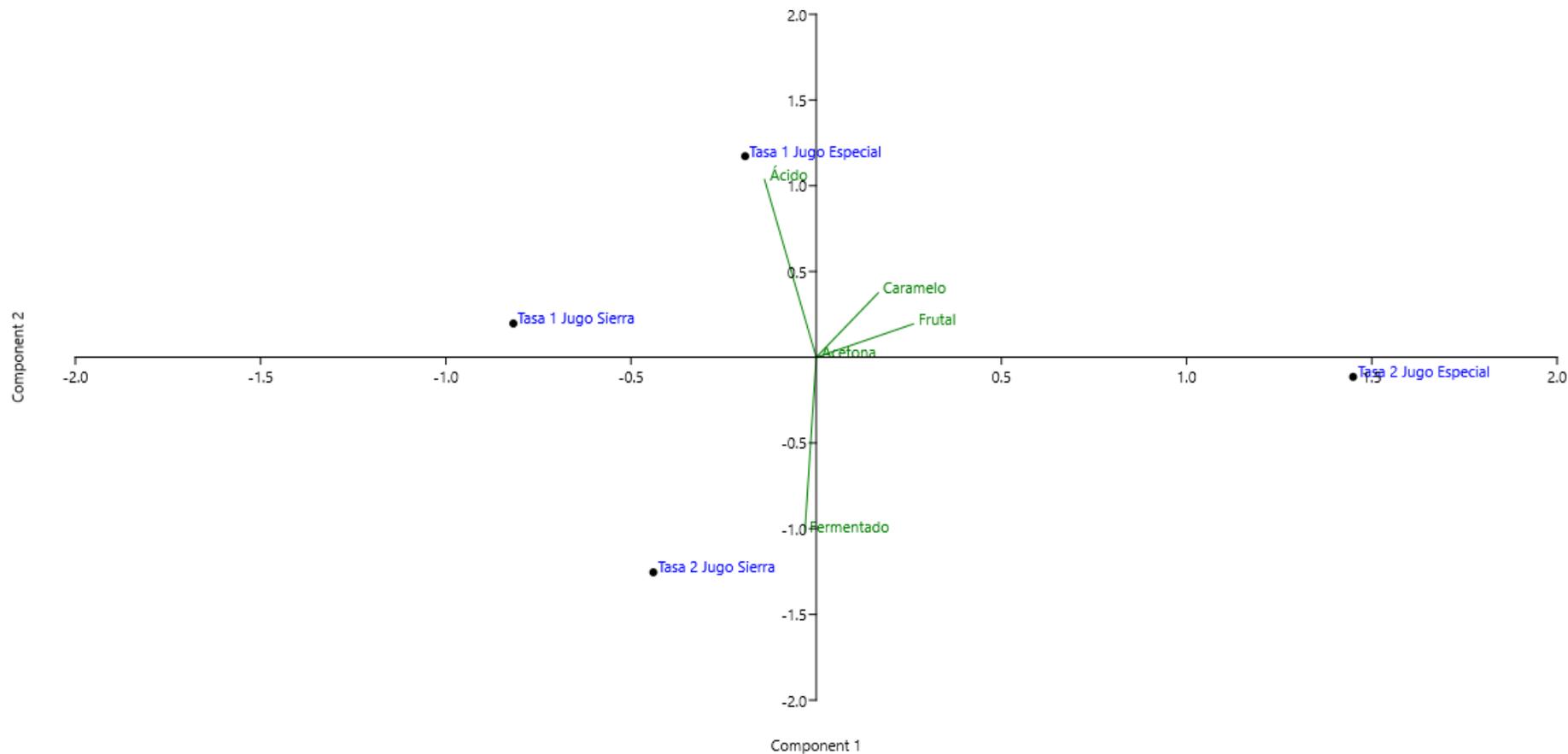
Jugo Sierra, tasa de dilución 2 Jugo Sierra, tasa de dilución 1 Jugo Especial y tasa de dilución 2 Jugo Especial.

El análisis Permanova indicó que no existieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los perfiles de aroma de las dos tasas de dilución y ambos jugos utilizados.

El análisis de componentes principales Figura 7 mostró una fuerte asociación entre la tasa de dilución 1 jugo Especial y el aroma ácido. Por otra parte, ninguna tasa de dilución ni jugo utilizado mostró una asociación fuerte con el aroma caramelo ni frutal.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Figura 7: Análisis por componentes principales.



DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Discusión de resultados

En las fermentaciones microbianas se producen ácidos orgánicos principalmente los ácidos carboxílicos (acético, cítrico, láctico y málico). Algunos de estos ácidos se acumulan, otros se metabolizan y otros se transforman en ésteres (Labuda, 2009). Figura 5 y Figura 6. La causa principal de aromas ácidos en jugos de frutas se debe a la presencia de cepas de bacterias lácticas como: *Lb. plantarum* y *Lb. Acidophilus* (Rodríguez, 2020).

Por otra parte, se obtuvieron aromas frutales en todos los jugos a diferentes tasas de dilución, esto se da principalmente por la transformación de los ácidos orgánicos y alcoholes en ésteres (Labuda, 2009). En varios estudios se ha determinado que los aromas frutales y florales provienen de los ésteres (Labuda, 2009; Rodríguez, 2020) A diferencia de los ácidos, los ésteres aportan un mayor aroma en el análisis sensorial. Esto se observa mayoritariamente en el jugo Especial donde los valores de aroma frutal son los más altos Figura 6.

Los aromas a caramelo obtenidos en las dos tasas de dilución de jugo Especial y, en jugo Sierra a una tasa de dilución de 0.96 h^{-1} son debido a los cinamatos de metilo y etilo que proporcionan aromas dulces al medio donde se encuentran (Labuda, 2009). En otro estudio se determinó que levaduras como: *Hanseniaspora guillermondii* y *Pichia anomala* son los principales aromatizantes de dulzor de las bebidas alcohólicas derivadas de la uva (Bhari & Singh, 2019).

En el jugo Sierra se observa una menor concentración microbiana con respecto al jugo Especial, esto se debe a que el metabolismo de los microorganismos del jugo Sierra está enfocado en la generación de metabolitos microbianos y no en su crecimiento celular (Ocampo Cardona, 2011; Vaishnav & Demain, 2011). La producción de metabolitos microbianos se relaciona con el consumo de azúcares presente en el medio **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia.** y, la generación de ácidos orgánicos que son los causantes de la acidificación

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

del medio (González Gómez & Neira Betrán, 2017), como se observa en la **¡Error! No se encuentra el origen de la referencia..** No hubo producción de alcohol en los caldos fermentados, esto está relacionado con la presencia de bacterias ácido-lácticas debido a que se ha determinado que las BAL en la vía homofermentativa utilizan la glucosa para formar ácido láctico como producto final (Sharma, Garg, Kumar, Bhatia, & Kulshrestha, 2020).

Las diferencias estadísticamente no significativas entre los perfiles de aroma que indicó el análisis Permanova, así como el análisis de componentes principales, que mostró que ninguna tasa de dilución ni jugo (Sierra o Especial) utilizado está fuertemente asociado a perfiles de aroma frutal o caramelo, indican que ninguna condición (tasa de dilución o jugo) evaluada en este trabajo puede ser adecuada para ser usada dentro de un proceso de mejora organoléptica de granos fermentados.

Conclusiones

Mediante la preparación de caldos de fermentación en base a jugos de frutas se logró cultivar microorganismos nativos del Ecuador.

Se evidenció un mejor crecimiento microbiano en el caldo de fermentación en base a el jugo especial, en comparación con el caldo de fermentación en base a el jugo de Sierra; y una disminución de pH y grados Brix en los dos jugos, sin obtener diferencias estadísticamente significativas.

Ninguna condición (tasa de dilución o jugos) estuvo asociada fuertemente a un aroma caramelo o frutal, por lo que ninguna condición (tasa de dilución o jugo) usada en este trabajo podría mejorar las características organolépticas de granos fermentados, considerando que eran los aromas frutales y caramelo los que interesaba obtenerse.

Recomendaciones

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Se recomienda hacer nuevos estudios empleando nuevos inóculos, jugos de frutas y tasas de dilución para tratar de obtener condiciones ideales en donde se pueda generar un perfil de aroma asociado más a aromas frutales o caramelo. Por otra parte, se recomienda identificar ya sea por técnicas moleculares o bioquímicas los microorganismos que aportan el perfil de aroma en los caldos de fermentación.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Bibliografía

- Bhari, R., & Singh, S. (2019). Microbial production of natural flavors. *Technology of Handling, Packaging, Processing, Preservation of Fruits and Begetables: Theory and Practicals*, (August 2018), 767–813.
- del Mar Enciso Molano, M. (2019). *Evaluación del efecto de la inoculación de cultivos iniciadores sobre las características organolépticas del café durante su proceso de fermentación seca*.
- Ferreira Silva, C., Marques Vilela, D., de Souza Cordeiro, C., Ferreira Duarte, W., Ribeiro Dias, D., & Freitas Schwan, R. (2013). Evaluation of a potential starter culture for enhance quality of coffee fermentation. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 29(2), 235–247. <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1175-2>
- González Gómez, A. E., & Neira Betrán, L. E. (2017). *Implementación del procedimiento para llevar a cabo la práctica de fermentación y destilación en la planta de biocombustibles del laboratorio de Ingeniería Ambiental y Sanitaria de la Universidad de La Salle*. Universidad de La Salle.
- Gutiérrez G., N., & Barrera B., O. M. (2015). Selección y entrenamiento de un panel en análisis sensorial de café *Coffea arabica* L. *Revista de Ciencias Agrícolas*, 32(2), 77. <https://doi.org/10.22267/rcia.153202.15>
- Haile, M., & Kang, W. H. (2019). The Role of Microbes in Coffee Fermentation and Their Impact on Coffee Quality. *Journal of Food Quality*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4836709>

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Holzappel, W. H. (2002). Appropriate starter culture technologies for small-scale fermentation in developing countries, 75, 197–212.

Hutkins, R. W. (2006). *Microbiology and Technology of Fermented Foods* (First). Ames.

Labuda, I. (2009). Flavor Compounds. *Encyclopedia of Microbiology*, 305–320.
<https://doi.org/10.1016/B978-012373944-5.00148-6>

Lawless, H. T., & Heymann, H. (2010). *Sensory Evaluation of Food* (Second).
https://doi.org/10.1007/978-1-4419-6488-5_16

Melo, V. De, Gilberto, P., Soccol, V. T., Brar, S. K., Neto, E., & Soccol, C. R. (2015). Microbial Ecology and Starter Culture Technology in Coffee Processing, 8398(October).
<https://doi.org/10.1080/10408398.2015.1067759>

ocampo cardona, A. (2011). *OBTENCIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS OBTENIDOS EN FERMENTACIÓN LÍQUIDA DE UNA CEPA NATIVA AISLADA DEL PÁRAMO DE GUASCA, CUNDINAMARCA DE *Mucor circinelloides* Y EVALUACIÓN DE SU ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA.* Retrieved from <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/3840/OcampoCardonaAlejandra2011.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Panagiota Tsafraquidou, A.-M. M. and C. G. B. (2020). Fermented Cereal-based Products : Nutritional Aspects , Possible Impact on Gut Microbiota and Health Implications. *Foods*, 1–24.

Payseur, B., & DeVorce, S. (2020). Broth Culture: Definition, Medium & Characteristics. Retrieved from <https://study.com/academy/lesson/broth-culture-definition-medium->

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

characteristics.html#:~:text=Broth cultures are liquid cultures,incubator at the appropriate temperature.

Puerta, G., & Echeverry, M. (2015). *Fermentación controlada del café. Ciencia, tecnología e innovación para la caficultura colombiana*. Retrieved from file:///C:/Users/HP/Desktop/avt0454_fermetnacioncontroladacafetecnologia.pdf

Ribeiro, L. S., Evangelista, S. R., Gabriela, M., Miguel, P., Mullem, J. Van, Silva, C. F., & Schwan, R. F. (2018). Microbiological and chemical-sensory characteristics of three coffee varieties processed by wet fermentation, 705–716.

Rodríguez, L. G. R. (2020). Fermentación de jugos y bebidas a base de frutas. In *Alimentos fermentados: microbiología, nutrición, salud y cultura*. (pp. 273–306).

Sharma, R., Garg, P., Kumar, P., Bhatia, S. K., & Kulshrestha, S. (2020). Microbial Fermentation and Its Role in Quality Improvement of Fermented Foods, 3(1), 1–20.

Simat, T., Schneider-Häde, B., Uhl, M., & Mleczko, M. (2017). *Panel training on odour and aroma perception for sensory analysis*. Retrieved from www.DLG.org

Singh, J., Kaushik, N., & Biswas, S. (2014). Bioreactors – Technology & Design Analysis, (June), 27–36.

Vaishnav, P., & Demain, A. L. (2011). Unexpected applications of secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 29(2), 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.11.006>

Vinícius, G., Pereira, D. M., Neto, E., Thomaz, V., Bianchi, A., Medeiros, P., ... Ricardo, C.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

(2015). Conducting starter culture-controlled fermentations of coffee beans during on-farm wet processing : Growth , metabolic analyses and sensorial effects. *FRIN*, 75, 348–356. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.06.027>

World Coffee Research. (2017). *SENSORY LEXICON* (Second). Collage Station. Retrieved from https://worldcoffeeresearch.org/media/documents/20170622_WCR_Sensory_Lexicon_2-0.pdf

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

Anexos

ANEXO 1: Mapa de los sitios donde se colocaron las trampas para atrapar microorganismos nativos.



DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

ANEXO 2: Trampas para la recolección de microorganismos nativos.



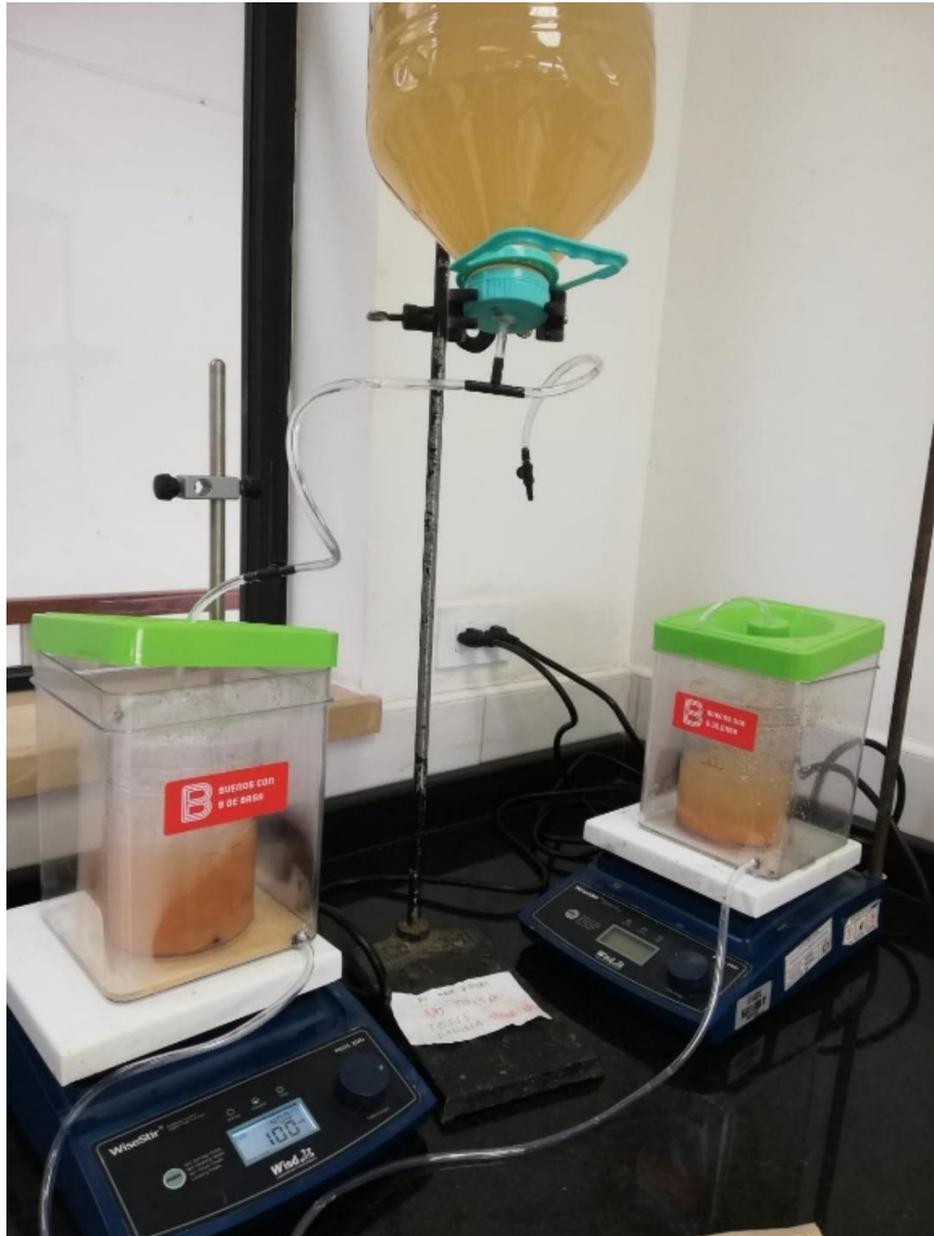
DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

ANEXO 3: Biorreactor por lotes.



DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

ANEXO 4: Cultivo continuo en quimiostato.



DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

ANEXO 5: Estándares de aroma para el entrenamiento del panel de catación.

	Referencia	Intensidad	Preparación
Ácido acético	0,5% solución de ácido acético	Aroma: 2	Sirva el jugo en una taza de 1 onza. Cubra con una tapa de plástico.
	1% solución de ácido acético	Aroma: 2,5	
	2% solución de ácido acético	Aroma: 3	
	20% solución ácido acético	Aroma: 15	
Sobremadurado/ casi fermentado	Plátano muy maduro	Aroma: 6,5	Congela un plátano demasiado maduro. Poner en el microondas el plátano congelado durante 1 minuto. Tritura el plátano cocido. Coloque el puré en una taza de 1 onza. Cubra con una tapa de plástico.
Smoky	Almendras	Aroma: 1	Coloque 4/5 de almendra en media copa. Cubrir.
		Aroma: 6	Coloque 5 almendras en media copa. Cubra.
		Aroma: 15	Coloque 12,5 almendras en media copa. Cubra.
Canela	Canela en polvo	Aroma: 13	Colocar 1/4 de cucharadita de canela en media copa. Cubra
Nuez	Nuez moscada	Aroma: 9	Colocar 1/4 de cucharadita de nuez moscada en media copa. Cubra
Caramelo	Azúcar morena	Aroma: 3	Coloque 1/2 cucharadita de azúcar morena en media copa. Cubra.
		Aroma: 6	Coloque 1 cucharadita de azúcar morena en una copa mediana. Cubrir.
		Aroma: 15	Coloque 2 $\frac{1}{2}$ cucharaditas de azúcar morena en una copa mediana. Cubra.
Otra fruta	Gerber papilla manzana	Aroma: 7	Sirva la salsa de manzana en una copa de una onza. Cubrir.
Fruta deshidratada	Pasas	Aroma: 1	Coloque 4/5 de pasa en media copa. Cubrir.
		Aroma: 6	Coloque 5 pasas en media copa. Cubrir con plástico.
		Aroma: 15	Coloque 12,5 pasas en media copa. Cubrir.
Manzana	Gerber papilla manzana	Aroma: 5	Sirva la salsa de manzana en una copa de una onza. Cubrir.
Uva	Sunny refresh	Aroma: 6	Sirva el jugo en una taza de 1 onza. Cubra con una tapa de plástico.

DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES AROMÁTICAS DE CALDOS DE FERMENTACIÓN REALIZADOS EN BASE A FRUTAS

ANEXO 6: Curva de la calibrado de biomasa.

