

Efecto de la concentración de carragenina como soporte en la inmovilización de *Saccharomyces cerevisiae* para la producción de hidromiel

Andrés Martínez Hoyos, Giordan Vivas Espitia, Marta Cecilia Quicázan.

RESUMEN

La presente investigación buscó establecer condiciones que permitan inmovilizar células de *Saccharomyces cerevisiae* en una matriz de carragenina para su posterior aplicación en la elaboración de una bebida alcohólica tipo vino conocida como hidromiel. Los mejores resultados se encontraron cuando se utilizó una concentración del 3 % (p/v) de carragenina y 16 % (p/v) de cloruro de potasio. Las esferas fueron evaluadas según su resistencia a la deformación y la estabilidad en el medio de fermentación. Como producto de la fermentación se obtuvo una bebida con un 13.06 % (v/v) de etanol.

Palabras Clave— Carragenina, Fermentación, hidromiel, inmovilización.

I. INTRODUCCIÓN

La hidromiel es una bebida fermentada que se ha producido desde tiempos muy antiguos, su contenido alcohólico varía entre el 8% al 18% (v/v) de etanol y su producción sigue siendo extensivamente empírica [1]. Tradicionalmente se elabora mediante el uso de células libres; sin embargo para bebidas fermentadas se ha evaluado el uso de la inmovilización de levadura con el objeto de mejorar características como rendimiento, productividad y facilidad para separar la biomasa del producto final, así como su reutilización en nuevas fermentaciones[2].

Una de las matrices más comunes para inmovilización son los geles de alginato; sin embargo existen otro tipo de materiales que pueden ser útiles como soporte para la inmovilización de células tales como pellets de gluten, pectato y carragenina[2]–[4]. La carragenina, es un polisacárido sulfatado extraído de ciertas especies de algas rojas, clasificándose de acuerdo a su grado de sulfatación en gamma, kappa e iota, siendo las variedades kappa e iota las más

Andrés Mauricio Martínez Hoyos: ammartinezh@unal.edu.co, Estudiante de Maestría en Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Colombia.

Giordan Javier Vivas Espitia: gjvivase@unal.edu.co, estudiante de Ingeniería Química, Universidad Nacional de Colombia.

Martha Cecilia Quicázan: mcquicazand@unal.edu.co, Profesora asociada, Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional de Colombia.

adecuadas para la formación de geles [5], [6]. Aunque no se reportan estudios relacionados con la inmovilización de células en carragenina aplicados a la producción de hidromiel, esta matriz ha sido utilizada en otro tipo de fermentaciones alcohólicas como la producción de vino o cerveza [2], [7].

El uso de células inmovilizadas en la producción de hidromiel se ha estudiado con otro tipo de matrices como geles de pectato de calcio[8], alginato de calcio [9] y alginato–quitosano[10].

El objetivo de esta investigación fue evaluar diferentes concentraciones de carragenina y cloruro de potasio para la inmovilización de *Saccharomyces cerevisiae*. Las esferas fueron evaluadas según su resistencia a la deformación y la estabilidad durante el proceso de fermentación. Se realizó una comparación entre la fermentación utilizando células libres y células inmovilizadas en carragenina mediante el seguimiento en la disminución de sólidos solubles durante la etapa de fermentación y la concentración de etanol en el producto final.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Miel: se utilizó miel de abejas *Apis mellifera* procedente del municipio de San Mateo del departamento de Boyacá.

Levadura: se utilizó levadura *Saccharomyces cerevisiae*, raza fisiológica *bayanus Uvaferm BC* de la empresa Lallemand Inc.

Polen: se utilizó polen obtenido de apiarios del municipio de Viracacha del departamento de Boyacá.

Para el proceso de inmovilización se utilizó carragenina de las marcas MART GEL MB 0210 (A) y KAPPA FULLY CARRAGEENEN (B) distribuidas por las empresa CPKELCO y FOODCHEEM respectivamente. El cloruro de potasio utilizado fue grado analítico marca merck con grado de pureza del 99 %.

Formación de esferas: se realizó por el método de goteo, haciendo caer por gravedad una solución de carragenina a concentraciones del 2 y 3 % (p/v) sobre una solución de cloruro de potasio a diferentes concentraciones (2, 8, 12, 16

p/v). Las soluciones de carragenina fueron elaboradas con y sin adición de cloruro de sodio[11]. Se utilizó agua destilada para la preparación de las soluciones.

Evaluación de esfera: se evaluaron las características de forma y su resistencia (mediante prueba de deformación al tacto) y su estabilidad en contacto con el mosto de fermentación.

Preparación del mosto: se diluyó miel en agua potable hasta alcanzar una concentración de 24 ° Bx. Se añadió polen como fuente de nitrógeno en una relación 1.2 g polen/kg mosto y se pasteurizó a 65°C durante 20 min, posteriormente el mosto fue enfriado rápidamente e inoculado con la levadura inmovilizada.

Inmovilización de la levadura: la levadura fue activada en el 3% del mosto final a 37°C durante 10 minutos, posteriormente fue mezclada con la solución de carragenina a 37 ° C en relación 1/3 para posteriormente realizar el proceso de inmovilización mediante el método de formación de esfera por goteo. La cantidad de levadura utilizada fue de 0.5 g/L de mosto total. Una vez formadas las esferas estas se dejaron estabilizar a 4 °C durante un período de 24 horas antes de inocular el mosto.

Fermentación con células libres: 0.5 g/L de levadura fueron activadas durante 20 minutos a 37°C en un 10 % del volumen final del mosto, posteriormente se inocula el mosto preparado previamente.

Seguimiento de contenido de sólidos solubles: se realizó una medición diaria del contenido de sólidos solubles (°Bx) utilizando un refractómetro marca SinoTechRef SG-100/ATC.

Determinación de contenido de etanol: terminado el proceso de fermentación se determinó la concentración de etanol presente en el producto final usando cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC) utilizando un equipo de cromatografía marca JASCO 2000, una columna Sugar-Pak I y un detector de índice de refracción. Como fase móvil se utilizó agua desionizada y desgasificada. Las condiciones de operación fueron: flujo de fase móvil: 0,475 ml/min; temperatura del horno: 80 °C; temperatura del detector: 35 °C, volumen de inyección de muestra: 20µL y tiempo de corrida de 20 minutos.

III. RESULTADOS

Ensayos de estabilidad: La forma de las esferas fue irregular para concentraciones de 2% (p/v) de KCl, para los demás casos las esferas presentaron formas redondeadas. Se observó que a mayor concentración de la sal de potasio y carragenina la esfera formada presentaba mejores características de forma y resistencia a la deformación (ver tabla 1 y 2). Sin embargo, concentraciones de carragenina

superiores o iguales a 4 % (p/v) dificultan el proceso de goteo y genera geles alargados.

Tabla 1. Resistencia de las esferas a la deformación usando carragenina al 2 % (p/v).

Carragenina A			Carragenina B		
KCl (%p/v)	NaCl(%p/v)	Resistencia	KCl (%p/v)	NaCl(%p/v)	Resistencia
2	0,9	Baja	2	0,9	Baja
8	0,9	Baja	8	0,9	Baja
12	0,9	Media	8	0,9	Media
16	0,9	Media	16	0,9	Media
2	0	Baja	2	0	Baja
8	0	Baja	8	0	Baja
12	0	Media	8	0	Media
16	0	Media	16	0	Media

Tabla 2. Resistencia de las esferas a la deformación usando carragenina al 3 % (p/v).

Carragenina A			carragenina B		
KCl (%p/v)	NaCl(%p/v)	Resistencia	KCl (%p/v)	NaCl(%p/v)	Resistencia
2	0,9	Baja	2	0,9	Baja
8	0,9	Baja	8	0,9	Baja
12	0,9	Media	8	0,9	Media
16	0,9	Media	16	0,9	Media
2	0	Baja	2	0	Baja
8	0	Media	8	0	Media
12	0	Media	8	0	Media
16	0	Alta	16	0	Alta

Las esferas que presentaron mayor resistencia a la deformación se evaluaron bajo las condiciones de fermentación en la producción de hidromiel. En el mosto las esferas formadas con carragenina A después de 24 horas presentaron un incremento en su diámetro del 30 %. Las esferas formadas con carragenina B se destruyeron totalmente pasados 2 días de iniciado el proceso de fermentación.

En la figura 1 se observa que el tiempo en el cual la fermentación se detiene es mayor en células libres que en células inmovilizadas ($p=0.012>0.05$), igualmente se presentaron diferencias significativas en las concentraciones finales de sólidos solubles de los dos experimentos ($p=0.03>0.05$) alcanzándose concentraciones más bajas con el uso de células inmovilizadas.

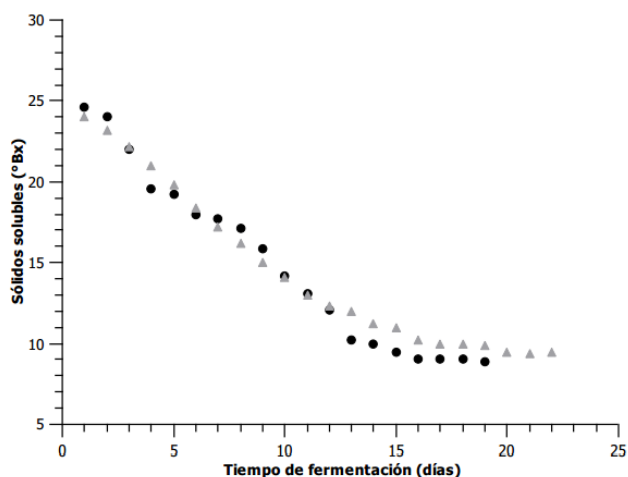


Fig. 1. Reducción en contenido de sólidos solubles empleando células libres (▲) y células inmovilizadas en carragenina (●).

Los resultados relacionados con la concentración de etanol muestran que el producto resultante usando células libres alcanzó una concentración de etanol del 10.92 % (v/v), mientras que con las células inmovilizadas el valor alcanzado fue de 13.06 % (v/v), encontrándose diferencias significativas entre los experimentos ($p = 0.045 < 0.05$).

IV. CONCLUSIONES

La inmovilización de levadura *Saccharomyces cerevisiae* en esferas de carragenina puede ser una alternativa para la producción de hidromiel. Una mayor concentración en la solución de carragenina y sal de potasio mejora las condiciones de estabilidad de la esfera; sin embargo concentraciones muy altas de la solución de carragenina dificulta la formación de la esfera.

Los resultados encontrados muestran que la producción de etanol con células inmovilizadas en carragenina es mayor que con células libres durante el proceso de elaboración de hidromiel.

V. AGRADECIMIENTOS

Al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos - ICTA, de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, a la Dirección de Investigación de la Universidad Nacional sede Bogotá y al Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación, Colciencias.

VI. REFERENCIAS

- [1] E. Ramalhosa, T. Gomes, A. P. Pereira, T. Dias, and L. M. Estevinho, "Chapter 4: Mead Production. Tradition Versus Modernity," *Adv. Food Nutr. Res.*, vol. 63, pp. 101–118, Jan. 2011.
- [2] Y. Kourkoutas, A. Bekatorou, I. Banat, R. Marchant, and A. Koutinas, "Immobilization technologies and support materials suitable in alcohol beverages production: a review," *Food Microbiol.*, vol. 21, no. 4, pp. 377–397, Aug. 2004.
- [3] S. SaurabhJyoti, V. Mausam, and B. SatinderKaur, "Industrial Fermentation for Production of Alcoholic Beverages," in

Fermentation Processes Engineering in the Food Industry, CRC Press, 2013, pp. 299–322.

- [4] J. Tampion and M. D. Tampion, "Immobilized Cells: Principles and Applications," Cambridge University Press, 1987, pp. 135–162.
- [5] R. H. Wijffels, *Immobilized Cells*. Springer - Verlag Berlin Heidelberg, pp 218, 2001.
- [6] J. Necas and L. Bartosikova, "Carrageenan: a review," *Vet. Med. (Praha)*, vol. 58, no. 4, pp. 187–205, 2013.
- [7] P. Ntagas, P. Tataridis, M. C. Fandos, L. E. Justamante, and E. T. Nerantzis, "The use of immobilized yeast technology for the production of rose and white sparkling wine from grape varieties of the Zitsa region, in Greece.," *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.*, vol. 68, pp. 515–519, 2003.
- [8] M. Navrátil, E. Šturdik, and P. Gemeiner, "Batch and continuous mead production with pectate immobilised, ethanol-tolerant yeast," *Biotechnol. Lett.*, vol. 23, pp. 977–982, 2001.
- [9] N. Qureshi and D. V. Tamhane, "Production of mead by immobilized whole cells of *Saccharomyces cerevisiae*," *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, vol. 21, pp. 280–281, Mar. 1985.
- [10] A. P. Pereira, A. Mendes-Ferreira, J. Oliveira, L. Estevinho, and A. Mendes-Faia, "Effect of *Saccharomyces cerevisiae* cells immobilisation on mead production," *LWT - Food Sci. Technol.*, vol. 56, pp. 21–30, Apr. 2014.
- [11] C. R. Phillips and Y. C. Poon, *immobilization of cells*. Springer-Verlag, pp. 53, 1988.