

## FERMENTACIÓN DEL ZUMO DE LA VAINA DE MEZQUITE

### [FERMENTATION OF MEZQUITE POD JUICE]

Lizeth Rodríguez-Pérez<sup>1</sup>, Ana Nallely Cerón-Ortiz<sup>1,2§</sup>, Roosevelt Rodríguez-Amador<sup>1</sup>, Marithza Guadalupe Ramírez-Gerardo<sup>1</sup>, Miguel Ángeles Ángeles-Monroy<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Tecnológico Nacional de México. Instituto Tecnológico Superior del Occidente del Estado de Hidalgo. Industrias Alimentarias. Mixquiahuala de Juárez, México. <sup>2</sup>Centro de Estudios Tecnológicos en Aguas Continentales No. 02. Sistemas de Producción e Investigación. Tezontepec de Aldama, México.

§Autor para correspondencia: (aceron@itsoeh.edu.mx).

### RESUMEN

La fermentación del zumo de la vaina de mezquite es un área de oportunidad para aprovechar el fruto. El objetivo de la primera etapa consideró la evaluación del impacto del contenido de °Brix en el zumo de la vaina ( $2.16 \pm 0.11$ ,  $11.98 \pm 0.30$  y  $7.02 \pm 0.04$ ) y la concentración (0 y 17 g) de una misma cepa de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*), en los cambios fisicoquímicos y características sensoriales del producto. En la etapa dos, el objetivo valoró el efecto de tres concentraciones (0, 5 y 17 g) y dos cepas de *S. cerevisiae* (panificación instantánea y destilación Alcobase Extrema 23%) en las mismas variables dependientes. El fermento elaborado con el zumo que contenía  $7.02 \pm 0.04$  °Brix y la concentración de 5 g de la cepa de levadura de panificación instantánea registró la mayor aceptación organoléptica (intensidad de olor y aroma característico). Lo anterior se relaciona con las características fisicoquímicas del producto (nivel de alcohol= $2.05 \pm 0.495\%$  Alc. Vol., pH= $4.777 \pm 0.006$ , densidad= $1.010 \pm 0.0$  y °Brix= $4.467 \pm 0.058$ ). El perfil de alcoholes refiere metanol ( $37.13 \pm 1.994$  mg/100 ml AA), aldehídos ( $<0.01 \pm 0$  mg/100 ml AA) y alcoholes superiores ( $498.38 \pm 127.251$  mg/100 ml AA) referidos en la NMX-V-005-NORMEX-2013 y NOM-199-SCFI-2017. En conclusión, la cepa de la levadura, la concentración de la misma y el contenido de °Brix en el zumo de la vaina son condiciones clave en el proceso fermentativo y las características del producto final.

**Palabras clave:** *Saccharomyces cerevisiae*, alcoholes, bebida fermentada.

### ABSTRACT

The fermentation of the juice of the mesquite pod is an area of opportunity to take advantage of the fruit. The objective of the first stage considered the evaluation of the impact of the °Brix content on the juice of the pod ( $2.16 \pm 0.11$ ,  $11.98 \pm 0.30$  and  $7.02 \pm 0.04$ ) and the concentration (0 and 17 g) of the same yeast strain (*Saccharomyces cerevisiae*), on the physicochemical changes and sensory characteristics of the product. In stage two, the objective assessed the effect of three concentrations (0, 5 and 17 g) and two strains of *S. cerevisiae* (instantaneous baking and distillation Alcobase Extrema 23%) on the same dependent variables. The ferment made with the juice containing  $7.02 \pm 0.04$  °Brix and the concentration of 5 g of the instantaneous baking yeast strain registered the highest organoleptic acceptance (intensity of odor and characteristic aroma). This is related to the physicochemical characteristics of the product (alcohol level =  $2.05 \pm 0.495\%$  Alc. Vol., pH =  $4.777 \pm 0.006$ , density =  $1.010 \pm 0.0$  and °Brix =  $4.467 \pm 0.058$ ). The alcohol profile refers to methanol ( $37.13 \pm 1,994$  mg/100 ml AA), aldehydes ( $<0.01 \pm 0$  mg/100 ml AA) and higher alcohols ( $498.38 \pm 127.251$  mg/100 ml AA) referred to in NMX-V-005-NORMEX-2013 and NOM-199-SCFI-2017. In conclusion, the yeast strain, the concentration of the yeast and the content of °Brix in the juice of the pod are key conditions in the fermentation process and the characteristics of the final product.

**Index words:** *Saccharomyces cerevisiae*, alcohols, fermented drink.

## INTRODUCCIÓN

El árbol del mezquite de género *Prosopis* se localiza en superficies áridas o semiárida en México. Los representantes de la especie *Prosopis laevigata* son leguminosas de la familia Fabácea de hasta 12 m de altura y 1 m de diámetro. La flor es de temporal y está dispuesta en espigas con tonalidad blanco-amarillento. El fruto o vaina indehisciente (legumbre linear y/o falcada) registra una longitud máxima promedio de 20 cm, 15 de ancho y la tonalidad cambia conforme avanza el estado de madurez fisiológica. Las semillas son oblongas y comprimidas de color blanco-amarillento (Rodríguez-Sauceda *et al.*, 2014). La vaina de mezquite se aprovecha en la alimentación del ganado; y a diferencia de las épocas prehispánicas, solo algunas poblaciones la consumen fresca, en pinole, queso, piloncillo, atole y harinas. El 56% del peso de la vaina lo constituye el mesocarpio y el contenido de agua libre es menor al 3%. Sin embargo, el contenido de azúcares registra un intervalo del 13 al 50% de su composición química (Gallegos-Infante *et al.*, 2013). Las variaciones en la concentración de azúcares es un área de oportunidad para aprovechar este tipo de recursos en la obtención de bebidas fermentadas a partir de recursos naturales considerados por muchos como basura orgánica.

Las bebidas alcohólicas se dividen en fermentadas, destiladas y tradicionales no comerciales. Los tres grupos se diferencian desde el método de elaboración hasta las características fisicoquímicas y organolépticas que adquieren en el proceso. Las bebidas fermentadas son las más antiguas y de producción natural, mientras que las destiladas incorporan alambiques y procesos químicos para alcanzar una mayor concentración de etanol (vinos, cervezas, etc.) (Berruecos-Villalobos, 2007; Monereo-Megías *et al.*, 2016). Las investigaciones en zimología integran desde el conocimiento étnico, microbiológico y químico en los procesos fermentativos. Lo anterior debido a la importancia de este producto a nivel socioeconómico, cultural, étnico e industrial (tequila y mezcal), histórico (pulque), alimenticio y cultural (pozol y tesgüino). Aunque se han dejado a un lado las bebidas fermentadas con o sin alcohol que se producen local o en ciertas regiones por comunidades indígenas o étnicas de México (Sánchez-Dirzo *et al.*, 2010; Velázquez-López *et al.*, 2018). En México, durante las épocas prehispánicas se utilizaban las vainas de mezquite para elaborar una bebida tipo pulque, la información al respecto demuestra la necesidad de establecer una estandarización en el proceso para su producción a mayor escala.

Aunado a lo anterior, la información es escasa, variable y no detalla en específico el proceso artesanal para su elaboración, dejando a la interpretación el rol de los microorganismos utilizados en la fermentación. Y aunque, la fermentación espontánea o natural (no requiere inoculación microbiológica) produce bebidas con características organolépticas y químicas muy apreciadas por el consumidor (Cervantes-Contreras y Pedroza-Rodríguez, 2007; García-González *et al.*, 2019), su estandarización o estabilidad es compleja. La inoculación de microorganismo (catalizadores bioquímicos) en la fermentación etílica enriquece el proceso de biotransformación del sustrato orgánico. Las enzimas sintetizadas por estos microorganismos convierten las hexosas del mosto en etanol bajo condiciones anaeróbicas.

Las levaduras del género *Saccharomyces* son las de mayor importancia comercial en procesos que requiere un control de la fermentación. El género *Saccharomyces* fermenta los azúcares y ciertas cepas tiene un alto grado de tolerancia al etanol debido a su pared celular rígida (Casas-Acevedo *et al.*, 2015; Alcívar-Bravo *et al.*, 2019). La levadura *Saccharomyces cerevisiae* se ha utilizado en la fermentación de frutos regionales donde se registró un mayor aprovechamiento de las frutas. Por ejemplo, en la fermentación del fruto de la mandarina considerado merma por registrar bajos tamaños o maltrato en su estructura (Quintana-Fuentes *et al.*, 2013). También en la fermentación de la mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) y jugo de betabel (*Beta vulgaris* L.); donde se logró la fermentación del mosto y la obtención de un producto con óptimas propiedades organolépticas (Montoya-Gómez *et al.*, 2005; López-Palacios *et al.*, 2018). Por lo cual, el propósito del estudio se enfocó en evaluar el impacto de la concentración y tipo de cepa de *S. cerevisiae* en el proceso fermentativo de zumos extraídos de la vaina de mezquite (*P. laevigata*) con diferentes

concentraciones de azúcares (°Brix); así como, verificar el supuesto sobre el impacto positivo del uso de una cepa de *S. cerevisiae* en las características de los zumos con mayor contenido de °Brix.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Etapa I

La primera fase del estudio consideró un diseño multifactorial  $k$  por  $l$  para evaluar el impacto del contenido de °Brix en el zumo de la vaina ( $2.16 \pm 0.11$ ,  $11.98 \pm 0.30$  y  $7.02 \pm 0.04$ ) y la concentración (0 y 17 g l<sup>-1</sup> de zumo) de levadura de panificación instantánea (*S. cerevisiae*) en los cambios fisicoquímicos del producto (pH, °Brix y densidad) y las propiedades sensoriales del mismo (color y olor). Los tratamientos se identificaron como: F<sub>1</sub> ( $2.16 \pm 0.11$  °Brix sin levadura), F<sub>2</sub> ( $11.98 \pm 0.30$  °Brix sin levadura), F<sub>3</sub> ( $7.02 \pm 0.044$  °Brix sin levadura), F<sub>4</sub> ( $2.16 \pm 0.11$  con 17g de levadura), F<sub>5</sub> ( $11.98 \pm 0.30$  °Brix con 17g de levadura) y F<sub>6</sub> ( $7.02 \pm 0.044$  °Brix con 17 g de levadura). Los cuales se realizaron por triplicado. La recolección de las vainas de tonalidades verde, morado con amarillas y amarillas se realizó en árboles de mezquite (*P. laevigata*) ubicados en municipios pertenecientes a la región del Valle del Mezquital en el estado de Hidalgo entre los meses de junio y octubre. Las vainas se obtuvieron directo del árbol y transportaron en un costal de rafia de polietileno hasta el taller de frutas y hortalizas del Instituto Tecnológico Superior del Occidente del Estado de Hidalgo (ITSOEH). Las vainas se lavaron para eliminar la suciedad y los ejemplares con magulladuras o presencia de plaga se desecharon.

La extracción del zumo se realizó en cada una de las tonalidades de la vaina por separado, mediante el principio de maceración caliente de acuerdo al procedimiento descrito en el expediente de patente MX/a/2021/000487 en el registro del Instituto Mexicano de la Propiedad Industrial (IMPI). Preferentemente se aplicó una proporción 4:1 (l de agua:kg de vaina. El tiempo de exposición preferente de 35 min a una presión entre los 10 y 15 lb de presión con temperatura interna de 110 a 120 °C. La fase líquida se filtró para eliminar los residuos sólidos de la vaina. La cuantificación de los °Brix en los zumos se determinó de acuerdo a la NMX-F-103-NORMEX-2009, con un refractómetro digital Atago modelo Pocket Pal 1 (USA).

El proceso de fermentación se inició al inocular los zumos de acuerdo a la concentración de levadura de panificación *S. cerevisiae* con base a los tratamientos. La levadura se agregó de forma directa y las concentraciones se consideraron por cada litro de zumo. La fermentación se realizó a temperatura ambiente en un intervalo de temperatura entre los 17 y 22 °C en recipientes de plástico transparente sin exposición a luz artificial y natural. La tapa del recipiente mantuvo espacios abiertos para permitir la salida de CO<sub>2</sub> producida durante el proceso. A lo largo de la fermentación se midió el pH con un potenciómetro Denver Instrument modelo 225 (USA); los sólidos solubles (°Brix) con un refractómetro digital Atago modelo Pocket Pal 1 (USA); la densidad a través de un densímetro digital Anton-Paar modelo DMA 35n (USA). El color se determinó mediante el uso del programa gratuito ColorPix detectando el código al que pertenece según la escala RGB. La evaluación sensorial de tipo olfativa se realizó a través de dos pruebas descriptivas con la participación de diez panelistas entrenados con conocimiento general sobre valoración organoléptica de vinos y licores. La prueba consistió en evaluar la intensidad del olor mediante una escala hedónica de tres puntos (ligera, moderada y fuerte) percibidas en muestras codificadas de los diferentes fermentos (Anzaldúa-Morales, 2005).

### Etapa II

La segunda fase del estudio consideró un diseño multifactorial  $k$  por  $l$  para evaluar el impacto de tres concentraciones (0, 5 y 17 g) y dos cepas de *S. cerevisiae* (panificación instantánea y destilación Alcobase Extreme 23%) en la fermentación del zumo (extraído de la vaina morado con amarillo y °Brix de  $7.02 \pm 0.044$ ) que generó el fermento con las mejores características fisicoquímicas y organolépticas en la fase I. Los tratamientos se identificaron como: F1 (sin levadura), F2 (5 g con levadura de panificación instantánea),

F3 (17 g con levadura de panificación instantánea), F4 (5 g con levadura Alcobase Extrema 23%) y F5 (17 g con levadura Alcobase Extrema 23%). Los cuales se realizaron por triplicado. La obtención del zumo y la fermentación se realizó de acuerdo al procedimiento descrito en la Fase I, pero de acuerdo a los tratamientos de la presente fase. La determinación de los parámetros fisicoquímicos (pH, °Brix y densidad) y organolépticos (color y olor) se realizaron de acuerdo a los procesos mencionados en la Fase I.

Al finalizar el proceso de fermentación se destilaron por triplicado 250 ml de los productos derivados de cada tratamiento mediante una destilación simple en un intervalo de 80 a 85 °C. Al producto obtenido y al fermento restante de la destilación se les midió el grado alcohólico (NMX-V-013-NORMEX-2013) y sólidos solubles (°Brix). Al producto de la Fase II que registró la mayor aceptación organoléptica y el contenido más alto de alcohol se le realizó un perfil alcohólico (aldehídos, ésteres, metanol y alcoholes superiores contenidos en bebidas alcohólicas) conforme a la norma NMX-V-005-NORMEX-2013. Una vez identificados los grados de alcohol se determinó el tipo de bebida de acuerdo con lo mencionado por Iñiguez-Ledezma (2010), donde se considera este parámetro como una unidad de medida que forma parte de los estándares comerciales alrededor del mundo. También, se determinó el perfil de azúcares en el zumo mediante la NMX-FF-110-SCFI-2008, que establece el método de detección de carbohidratos utilizando cromatografía de líquidos de alta resolución con detección de índice de refracción.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Etapas I

El zumo extraído de las vainas adquirió una coloración diferente de acuerdo al color de las mismas. La tonalidad más clara se obtuvo en el zumo de la vaina verde ( $2.16 \pm 0.11$  °Brix) y las tonalidades oscuras en el zumo de la vaina morado con amarilla ( $11.98 \pm 0.30$  °Brix) y amarilla ( $7.02 \pm 0.04$  °Brix). Los intervalos en la coloración inicial de los zumos y los cambios de esta variable durante la fermentación se muestran en el Cuadro 1. La diferencia en las tonalidades obedece a la influencia del tipo de pigmento presente en la vaina y a la degradación del mismo durante el proceso de obtención del zumo y el fermento.

**Cuadro 1.** Intervalos en la coloración inicial de los zumos de la vaina de mezquite (*P. laevigata*) y durante su fermentación de acuerdo a la escala RGB en la etapa I.

| Tratamientos                    | Coloración inicial del zumo (en escala RGB) | Coloración durante la fermentación del zumo (en escala RGB) |
|---------------------------------|---------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| F <sub>1</sub> y F <sub>4</sub> | 186, 148, 75 a 184, 147, 77                 | 48, 137, 44 a 163, 155, 72                                  |
| F <sub>2</sub> y F <sub>5</sub> | 147, 74, 59 a 144, 71, 56                   | 113, 60, 45 a 150, 85, 57                                   |
| F <sub>3</sub> y F <sub>6</sub> | 191, 151, 100 a 193, 148, 96                | 82, 49, 40 a 93, 35, 16                                     |

La tonalidad clara del zumo de la vaina verde se relaciona con el color de los frutos inmaduros cuyo pigmento es la clorofila; al momento de la exposición a una temperatura superior a los 70 °C, se registra una degradación del pigmento y la tonalidad se aclara. La conversión de la clorofila a feofitina y feoforbido resulta en un cambio de verde brillante a opaco de color verde oliva que se acentúa en pH inferiores a 5, como los registrados a lo largo del proceso de fermentación del tratamiento F<sub>1</sub> y F<sub>4</sub>. En las vainas con tonalidades rojas-purpura se identifican flavonoides no nitrogenados cuyo núcleo central flavilo constituye la antocianina que al unirse con algunos azúcares forma las antocianinas (Badui-Dergal, 2006). La intensidad de la tonalidad depende de los constituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el grupo flavilio. Al existir la introducción de metaxilos en un medio ácido se alcanzan coloraciones rojizas oscuras. Lo cual explica los colores en el zumo y fermento de la vaina en los tratamientos F<sub>2</sub> y F<sub>5</sub>. En cuanto a las tonalidades amarillas se relacionan con la concentración de los pigmentos carotenoides ( $\alpha$ - y  $\beta$ -carotenos,  $\gamma$ -caroteno, luteína y zeaxantina) que se incrementan conforme avanza el estado de madurez. En la vaina de mezquite se apreciaron dichas tonalidades en las vainas de los tratamientos F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>5</sub> y F<sub>6</sub>, en

donde las tonalidades de estos fermentos son similares, aunque más fuertes en F<sub>2</sub> y F<sub>5</sub> debido a las antocianinas.

Los valores sobre la densidad en los fermentos registraron una tendencia a disminuir a lo largo del proceso. La densidad más elevada al inicio del proceso ( $1.217 \text{ kg m}^{-3}$ ) y la mayor disminución ( $0.214 \text{ kg m}^{-3}$ ) en este factor se obtuvo en F<sub>1</sub>. El intervalo de la densidad en el resto de los tratamientos osciló entre  $1.001$  a  $1.027 \text{ kg m}^{-3}$  al inicio y de  $1.001$  a  $1.009 \text{ kg m}^{-3}$  al final del estudio. Una tendencia similar se registró en el contenido de °Brix en todos los tratamientos a partir del segundo día del proceso de fermentación. Los valores registraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P=0.001$ ). La mayor disminución de los °Brix se obtuvo en el tratamiento que incluyó la levadura de panificación instantánea y el zumo obtenido de las vainas de tonalidad amarillo y un contenido de  $7.02 \pm 0.04$  °Brix.

El porcentaje de disminución del parámetro van de 68.14% (F<sub>6</sub>), 65.24% (F<sub>2</sub>), 62.48% (F<sub>5</sub>), 56.60% (F<sub>3</sub>), 39.81% (F<sub>1</sub>) y 24.53% (F<sub>4</sub>). Respecto a los valores en el pH no se registró una tendencia definida en el proceso y no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P=0.986$ ). El intervalo de los valores de pH en los fermentos al final del proceso va de 3.8 a 4.5.

Las caracterizaciones fisicoquímicas de los productos se ven alterados en menor o mayor medida por las condiciones de operación en los procesos de transformación (Aguilera-Ortiz, 2011). Lo cual se registró en el estudio en cuanto a la densidad, pH y contenido de °Brix en los zumos iniciales y el fermento final; en especial debido a que la fase líquida de la vaina no puede ser extraída por métodos mecánicos y al aplicar la maceración caliente se afecta la estabilidad de las propiedades fisicoquímicas en el zumo. Enjamio-Perales *et al.* (2013) mencionan que el contenido de agua presente en las leguminosas es inferior al 5%, destacan las alubias y el garbanzo donde la cantidad de agua oscila entre 1.7 a 5.6%, y en la vaina un porcentaje menor a 3%. Por lo cual, es importante recalcar que los resultados obtenidos obedecen a la extracción bajo estas condiciones y los valores de contraste se asemejan al pH y densidad del zumo de tamarindo (*Tamarindus indica*). Materia prima con características similares donde se utiliza el macerado caliente para la extracción de la fase líquida.

En cuanto a la diferencia entre la concentración de °Brix en los zumos se relaciona con el contenido de sólidos totales de acuerdo al grado de madurez y la transformación de los polisacáridos en azúcares simples. Por lo cual, en el zumo derivado de la vaina verde se registraron los valores inferiores en este parámetro, a diferencia de los zumos generados con la vaina morado con amarillo y totalmente amarilla. También es relevante puntualizar la influencia del macerado caliente en el contenido de °Brix, el método es eficiente pero no se logra extraer totalmente los compuestos orgánicos y destruye algunos termolábiles (Monsalve *et al.*, 2006). Pero al controlar los tiempos de extracción se logra reducir los impactos negativos y extraer gran parte de los azúcares. La optimización del tiempo de exposición al proceso térmico permite romper la estructura de las células y reblandece la textura facilitando la entrada del agua a las células y la extracción de los azúcares.

También hay cambios notorios en el aroma de los fermentos conforme avanzaba el tiempo. Los fermentos derivados del tratamiento F<sub>1</sub> y F<sub>4</sub> registraron un aroma desagradable característico a la putrefacción de materia vegetal asociado a la presencia de ácido 3-metilbutanoico y 2-Butanol. Lo anterior se relaciona con un alto contenido de ácidos orgánicos y bajo contenido de azúcares cuya asociación dificulta la obtención de etanol. Un aspecto no detectado en los fermentos de los tratamientos F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>5</sub> y F<sub>6</sub>, cuyo aroma se asemejó a la bebida conocida como tepache u olor a acetato de 3-metilbutilo (banana) y etanol (alcohol). Las valoraciones sensoriales de los seis fermentos registraron diferencias significativas entre los tratamientos, cuya máxima aceptación se obtuvo en el fermento correspondiente al tratamiento F<sub>6</sub> con un 90% de la aceptación como primera opción del total de los jueces consultados. La concentración de alcohol más elevada se registró en el fermento F<sub>5</sub> y F<sub>6</sub> con valores de 2.35 y 2.30%, respectivamente; seguidos por F<sub>4</sub> (2.10%), F<sub>3</sub> (2.00%), F<sub>2</sub> (2.00%) y F<sub>1</sub> (1.10%). Las diferencias en el aroma en los fermentos

se relacionan con el contenido de °Brix inicial en el zumo y la eficiencia del proceso fermentativo por acción de la levadura. El mayor contenido de azúcares y la presencia de la levadura permiten la fermentación más rápida y se incrementa el contenido de alcohol. Además, retrasa o adelanta el proceso afectando la descomposición de la materia orgánica o mosto durante este procedimiento. La levadura de panificación (*S. cerevisiae*) se usa para producir bebidas alcohólicas con bajo contenido alcohólico de manera eficaz (Volk y Galbraith, 2002). Lo cual se comprueba en el estudio, ya que la concentración de alcohol obtenido se identifica en bebidas de baja graduación alcohólica. Por ello, se considera una opción para la fermentación de la vaina siempre y cuando se utilice un zumo con un contenido superior a los 7 °Brix y se cuide el tiempo de fermentación; ya que, a un mayor tiempo, se generan compuestos (ácidos orgánicos, aminoácidos y alcoholes de diversos pesos molecular) que alteran las propiedades organolépticas (Dueñas-Sánchez, 2010). Lo anterior se observa en los resultados organolépticos con el fermento de los tratamientos F<sub>1</sub> y F<sub>3</sub>.

## Etapa II

Los resultados de la Etapa I con base a la estabilidad de sus pigmentos, la disminución del contenido de los °Brix y la aceptación organoléptica en el fermento obtenido con el zumo de la vaina amarilla y la presencia de la levadura de panificación instantánea se consideraron para seleccionar este zumo en la Etapa II del estudio. El propósito de esta etapa se dirigió en verificar si el proceso se pudiera mejorar al usar una cepa diferente de levadura. Sin embargo, los resultados muestran que la levadura instantánea de panificación provee las mejores características fisicoquímicas y organolépticas en el fermento a una concentración de 5 g. Asimismo, se registró un cambio de coloración durante la fermentación (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Intervalos en la coloración durante la fermentación del zumo de la vaina de mezquite (*P. laevigata*) de acuerdo a la escala RGB en la etapa II.

| Tratamientos                                     | Coloración durante la fermentación del zumo<br>(escala RGB) |
|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------|
| F <sub>1</sub>                                   | 103, 46, 31 a 121, 57, 37                                   |
| F <sub>2</sub> y F <sub>3</sub>                  | 77, 62, 70 a 101, 75, 57                                    |
| F <sub>4</sub> , F <sub>5</sub> y F <sub>6</sub> | 80, 12, 91 a 99, 62, 16                                     |

Los valores sobre la densidad en los fermentos registraron una tendencia a disminuir a lo largo del proceso. La densidad más elevada al inicio del proceso ( $1.297 \text{ kg m}^{-3}$ ) y la mayor disminución ( $0.285 \text{ kg m}^{-3}$ ) en este factor se obtuvieron en F<sub>4</sub>. El intervalo de la densidad en el resto de los tratamientos osciló entre  $1.027$  a  $1.237 \text{ kg m}^{-3}$  al inicio y de  $1.010$  a  $1.022 \text{ kg m}^{-3}$  al final del estudio. Respecto a los valores en el pH no se registró una tendencia definida en el proceso y no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P=0.678$ ). El intervalo de los valores de pH en los fermentos al final del proceso va de 3.6 a 4.4. El pH del mosto influyó en la acidez de los fermentos debido a la concentración hidrogeniónica (fuerza ácida). El pH en todos los fermentos es ácido y no muestra una tendencia definida de acuerdo al tratamiento debido al método de obtención del zumo de la vaina al igual que en la fase I y al hecho de utilizar el mismo zumo inicial.

En el tamarindo se ha detectado que la transformación de los aminoácidos debido a la pérdida de nitrógeno provoca un decremento del pH (hasta 3 en escala) y provee su aroma y sabor agri dulce característico. Al respecto, la levadura de panificación (*S. cerevisiae*) registra una mayor eficiencia en la fermentación en valores de pH entre 4.4 a 5.0. Por lo cual, se aprecia en el estudio las mejores características en los tratamientos F<sub>2</sub> y F<sub>3</sub>. A pesar de que la levadura utilizada en F<sub>4</sub> y F<sub>5</sub> es también la misma especie, esta fue modificada por el fabricante para mejorar los resultados en el proceso. Una tendencia referida en estudios que valoraron la fermentación para obtener un vino de fresa con miel y etanol de plátano (Valdez-Duque *et al.*, 2002). Una tendencia similar se registró en el contenido de °Brix en todos los tratamientos a

partir del segundo día del proceso de fermentación. Los valores registraron diferencias significativas entre los tratamientos ( $P=0.028$ ).

La mayor disminución de los °Brix se obtuvo en el tratamiento que incluyó la levadura de panificación instantánea y el zumo obtenido de las vainas de tonalidad amarillo y un contenido de  $7.02 \pm 0.04$  °Brix. Los resultados van de 66.15% (F2), 64.46% (F3), 58.14% (F4), 53.13% (F5) y 37.38% (F1). La disminución de la concentración de °Brix también se debe al consumo del sustrato del medio (glucosa) por ambas levaduras con el propósito de transformarlos en alcohol y  $\text{CO}_2$ . Algunos autores refieren las ventajas técnicas y propiedades fisicoquímicas del fermento si el proceso se detiene al quinto día (Mejía *et al.*, 2009). Lo anterior debido a la fermentación tumultuosa que se registra en este periodo y la disminución posterior asociada al descenso brusco en la concentración de azúcares y el alcohol empieza a ser tóxico para las levaduras. Lo cual afectaría las características organolépticas y químicas del producto final.

Al respecto, en la etapa II del estudio también se registraron cambios notorios en el aroma de los fermentos conforme avanzaba el tiempo. Identificando el día siete como el periodo donde se obtienen las características organolépticas más agradables en los tratamientos F1, F2 y F3; los cuales, adquirieron un aroma agradable semejante a la bebida conocida como tepache. Por el contrario, los fermentos derivados del tratamiento F4 y F5 registraron un aroma intenso y desagradable. Las valoraciones sensoriales de los cinco fermentos registraron diferencias significativas entre los tratamientos, cuya máxima aceptación se obtuvo en el fermento correspondiente al tratamiento F2 con un 80% de la aceptación como primera opción del total de los jueces consultados.

La concentración de alcohol más elevada se registró en el fermento F2 y F4 con valores de 2.05 y 2.03%, respectivamente; seguidos por F3 (1.95%), F5 (1.90%) y F2 (1.15%). La concentración de alcohol en F2 y F3 es similar a la obtenida con otras materias primas que se fermentaron con la levadura de panificación. Pero en el caso de los tratamientos F4 y F5 no se alcanzaron los resultados esperados debido a que se requiere una modificación en el proceso con base a las recomendaciones de aplicación del fabricante para valorar su eficiencia en la fermentación del zumo de la vaina de mezquite con las características referidas en el presente estudio. Ya que las modificaciones en la cepa de la levadura como la utilizada en el estudio en los tratamientos F4 y F5 se hacen con el propósito de incrementar la resistencia a cambios de temperatura y de acidez para inhibir la posible contaminación cruzada.

Las modificaciones implican el uso de carbón activado y diferentes oligoelementos capaces de mejorar la obtención del grado alcohólico. Aunque el bajo contenido de °Brix en el zumo afectó esta eficiencia en comparación con los tratamientos que incluyeron la levadura de panificación instantánea. Téllez-Mora *et al.* (2012) demostraron que el tipo de cepa de *Saccharomyces* no afecta significativamente la optimización del proceso de fermentación en la producción de tequila. Al igual que Poma-Camargo (2016) al emplear tres niveles de concentración de la misma especie en la fermentación del zumo de aguaymanto. Los resultados del perfil de azúcares en el zumo de la vaina amarilla que es la base del proceso de fermentación en esta Fase del estudio, indican que la sacarosa es el azúcar con mayor proporción en el zumo (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Perfil de azúcares expresado en g/100 g realizado en el zumo de la vaina amarilla del mezquite *P. laevigata* con  $7.02 \pm 0.04$  °Brix.

| Análisis | Resultados |
|----------|------------|
| Sacarosa | 40.10      |
| Glucosa  | 4.55       |
| Fructosa | 7.27       |
| Maltosa  | <0.01      |

Un aspecto importante a considerar es el hecho de que en el proceso fermentativo no se utilizan todos los azúcares al mismo tiempo. El primer azúcar fermentable es la sacarosa, compuesto hidrolizado por la enzima invertasa para generar la glucosa y fructosa. Por lo cual, al identificar que la sacarosa es el azúcar que se encuentra en mayor proporción en el zumo utilizado en la fase dos del estudio, también se detecta el impacto que tiene esta característica en los resultados. El fermento derivado del tratamiento F2 se seleccionó para realizar el perfil de alcoholes debido a que registra la mejor aceptación organoléptica y las propiedades fisicoquímicas.

Los valores del fermento del tratamiento F2 son de un grado alcohólico igual a  $2.05 \pm 0.495\%$  Alc. Vol., un pH de  $4.777 \pm 0.006$ , densidad de  $1.010 \pm 0.0$  y °Brix equivalente a  $4.467 \pm 0.058$ ). El perfil de alcoholes refiere metanol ( $37.13 \pm 1.994$  mg/100 ml AA), aldehídos ( $<0.01 \pm 0$  mg/100 ml AA) y alcoholes superiores ( $498.38 \pm 127.251$  mg/100 ml AA). Los resultados obtenidos en las diferentes especificaciones fisicoquímicas estuvieron en los intervalos especificado en un producto apto para el consumo humano (Cuadro 4).

**Cuadro I4.** Perfil de alcoholes registrados en el fermento obtenido con el tratamiento F<sub>2</sub> durante la Fase II del estudio.

| Análisis                                      | Resultados           | Limites | Ref. analítica        |
|-----------------------------------------------|----------------------|---------|-----------------------|
| Metanol (mg/100 ml AA)                        | $37.13 \pm 1.994$    | 300*    | NMX-V-005-NORMEX-2013 |
| Aldehídos (como acetaldehídos) (mg/100 ml AA) | $<0.01 \pm 0$        | 40**    | NMX-V-005-NORMEX-2013 |
| Alcoholes superiores (mg/100 ml AA)           | $498.38 \pm 127.251$ | 500*    | NMX-V-005-NORMEX-2013 |
| Grado alcohólico (% Alc. Vol.)                | $2.05 \pm 0.495$     | --      | NMX-V-013-NORMEX-2013 |

\*Valores basados en la NOM-199-SCFI-2017 \*\*El límite máximo de aldehídos en bebidas alcohólicas destiladas.  $U \pm \%$  de incertidumbre relativa considerando un nivel de confianza del 95% y un factor de cobertura de  $K=2$ .

Aunque, los valores de alcoholes superiores se encuentran en el límite superior; por lo que hay que modificar la temperatura en el proceso para disminuir estos alcoholes. Los alcoholes superiores se generan durante la fase lag de la levadura durante la fermentación y tienen un efecto en el aroma y el sabor. A concentraciones mayores a los 400 mg l<sup>-1</sup> se afecta de manera negativa la calidad organoléptica especialmente en vinos (Escalante *et al.*, 2011; Moya-Almeida *et al.*, 2019). En cervezas ( $>300$  mg l<sup>-1</sup>) proveen un sabor pungente y genera una sensación de calentamiento en boca. Por el contrario, a niveles óptimos se incrementa la percepción alcohólica en bebidas complejas como el whisky y sidras. El perfil y concentración de alcoholes varía de acuerdo a la cepa de levadura, la composición del mosto y las condiciones de fermentación (temperatura) (Loviso y Libkind, 2019). La temperatura influye sobre el crecimiento de las levaduras y afecta el metabolismo de la levadura al formar metabolitos secundarios (glicerol, ácido acético, ácido succínico, alcoholes superiores) no deseados en el producto final (Téllez-Mora *et al.*, 2012). Por lo cual, en los resultados del estudio se observa un impacto en los alcoholes superiores, pero no así del metanol, el cual es nocivo para la salud.

## CONCLUSIONES

La caracterización fisicoquímica de la vaina de mezquite (*P. laevigata*) es uno de los factores que determina las propiedades fisicoquímicas y organolépticas de los fermentos que se generan a partir de los zumos extraídos mediante el macerado caliente. Los valores superiores a los 7 °Brix en la fase líquida y el uso de la levadura de panificación instantánea a una concentración de 5 g l<sup>-1</sup> de zumo permite la generación de un

fermento que cumple con las normativas mexicanas de este tipo de bebidas en cuanto al perfil de alcoholes como a las propiedades fisicoquímicas de la clasificación de las bebidas denominadas sidras. A su vez, el fermento derivado del tratamiento F<sub>2</sub> de la fase II del estudio registró la mayor aceptación organoléptica con base a su aroma, color y olor.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores del presente trabajo agradecen el apoyo financiero otorgado por el Instituto Tecnológico Superior del Occidente del Estado de Hidalgo.

### LITERATURA CITADA

- Alcívar-Bravo, A., J.J. Barreiro-Cobeña, S. Navia-Mendoza, S. Velásquez-Bazurto y W. Vines-Muñoz. 2019. Obtención de alcohol a partir de la fermentación anaerobia del mosto de uva: artículo de investigación. *Revista Científica Multidisciplinaria Arbitrada Yachasun* 3(5): 1-7. <https://doi.org/10.46296/yc.v3i5.0015>.
- Aguilera-Ortiz, M., M.C. Reza-Vargas, R.G. Chew-Madinaveitia y J.A. Meza Velázquez. 2011. Propiedades funcionales de las antocianinas. *Revista de Ciencias Biológicas de la Salud*. Universidad de Sonora. pp. 16-22. DOI: <https://doi.org/10.18633/bt.v13i2.81>.
- Anzaldúa-Morales, A. 2005. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y la práctica. Ed. ACRIBIA, S.A. España. 198 p.
- Badui-Dergal, S. 2013. Química de los alimentos. 5ta ed. Ed. Pearson. 723 p.
- Berruecos-Villalobos, L. 2007. Las bebidas indígenas fermentadas y los patrones de consumo de alcohol de los grupos étnicos. *El Cotidiano* 22(146): 5-11.
- Casas-Acevedo, A., C.N. Aguilar-González, H. De la Garza-Toledo, J.A. Morlett-Chávez, D. Montet y R. Rodríguez-Herrera. 2015. Importancia de las levaduras no-*Saccharomyces* durante la fermentación de bebidas alcohólicas. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes* (65): 73-79.
- Cervantes-Contreras, M. y A.M. Pedraza-Rodríguez. 2007. El pulque: características microbiológicas y contenido alcohólico mediante espectroscopia Raman. *NOVA, Publicación Científica en Ciencias Biomédicas* 5(8): 135-146.
- Dueñas-Sánchez, R. 2010. Caracterización y mejoras de levaduras panaderas. (Consultado: 28/08/2021). Disponible en: [https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/15799/E\\_TD\\_PROV14.pdf;jsessionid=B856343DB49ED18196C6196BEA14000C?sequence=-1](https://idus.us.es/bitstream/handle/11441/15799/E_TD_PROV14.pdf;jsessionid=B856343DB49ED18196C6196BEA14000C?sequence=-1).
- Enjamio-Perales, L., P. Rodríguez-Alonso, T. Valero-Gaspar, E. Ruiz-Moreno y J.M. Ávila-Torres. 2017. Informe sobre legumbres, nutrición y salud. Fundación Española de la Nutrición. (Consultado: 20/08/2021). Disponible en: <https://www.fen.org.es/storage/app/media/imgPublicaciones/informe-legumbres-nutricion-y-saludvw.pdf>.
- Escalante, W.E., M. Rychtera, K. Melzoch, E. Quillama-Polo y B. Hatta-Sakoda. 2011. Study of the fermentative activity of *Hansenula anomala* and production of chemical compounds of sensory importance. *Revista peruana de Biología* 18(3): 325-334.
- Gallegos-Infante, J.A., N.E. Rocha-Guzmán, R.F. González-Laredo y M.A. García-Casas. 2013. Efecto del procesamiento térmico sobre la capacidad antioxidante de pinole a base de vainas de mezquite (*Prosopis laevigata*). *CyTA-Journal of Food* 11(2): 162-170. <http://dx.doi.org/10.1080/19476337.2012.712057>.
- García-González, E., A.M. Serna-Murillo, D.A. Córdoba-Pantoja, J.G. Marín-Aricapa, C. Montalvo-Rodríguez y G.A. Ordoñez-Narváez. 2019. Estudio de la fermentación espontánea de cacao (*Theobroma cacao* L.) y evaluación de la calidad de los granos en una unidad productiva a pequeña escala. *Revista Colombiana De Investigaciones Agroindustriales* 6(1): 29-40. <https://doi.org/10.23850/24220582.1635>.

- Íñiguez-Ledezma, J. 2010. Algunas consideraciones teórico-prácticas sobre la destilación intermitente en alambique simple de mostos fermentados, y ordinarios. Parte I: Algunas Definiciones y Conceptos fundamentales. *Revista Electrónica, Ingeniería* primero 17: 31-51.
- López-Palacios, K.G., N. González-Cortés, E.J. Maldonado-Enríquez, A.L. Luna-Jiménez y R. Jiménez-Vera. 2018. Jugo de betabel (*Beta vulgaris* L.) y panela fermentados con *Saccharomyces bayanus*. *Crescendo* 9(3): 367-378. file:///C:/Users/HOME/Downloads/2032-7290-1-PB.pdf.
- Loviso, C.L. y D. Libkind. 2019. Síntesis y regulación de los compuestos del aroma y sabor derivados de la levadura en la cerveza: alcoholes superiores. *Revista Argentina de Microbiología* 51(4): 386-397. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.08.006>.
- Quintana-Fuentes, L.F., M. Gelvez-Pinilla y J. Mendoza-Ludy. 2014. Estandarización de la fase de fermentación "fase 1" en la obtención de un licor de mandarina utilizando levadura *Saccharomyces cerevisiae*. *Publicaciones E Investigación, Revista Especializada en Ingeniería* 8(1): 139-149. <https://doi.org/10.22490/25394088.1296>.
- Mejía, L., D. Albán, N. Murcia, R. Cuervo y J. Durán. 2009. Hidrólisis y fermentación alcohólica simultánea (HFS) del residuo agroindustrial del mango común (*Mangifera indica* L.) utilizando levaduras *Saccharomyces cerevisiae* spp. y cepa recombinante RH 218. *Revista Guillermo De Ockham* 7(2): 51-64.
- Monereo-Megías, S., M. Arnoriaga-Rodríguez, Y.L. Olmedilla-Ishishi y P. Martínez-de Icaya. 2016. Papel de las bebidas fermentadas en el mantenimiento del peso perdido. *Nutrición Hospitalaria* 33(Supl. 4): 37-40.
- Montoya-Gómez, Á., J.K. Londoño -Gómez y C.J. Márquez-Cardozo. 2005. Licor de mora de castilla (*Rubus glaucus* Benth) con diferentes porcentajes de pulpa. *Revista de la Facultad Nacional de Medellín* 58(2): 2963-2973.
- Monsalve, G.J.F., V.I. Medina-de Pérez y A.A. Ruiz-Colorado. 2006. Producción de etanol a partir de la cáscara de banano y de almidón de yuca. *Dyna* 73(150): 21-27.
- Moya-Almeida, V., B. Diezma-Iglesias y E.C. Correa-Hernando. 2019. Evaluación de los descriptores organolépticos de subproductos producidos durante la fermentación alcohólica de la cerveza. In: X Congreso Ibérico de Agroingeniería, Huesca, España. p. 14.
- Rodríguez-Sauceda, E.N., G.E. Rojo-Martínez, B. Ramírez-Valverde, R. Martínez-Ruiz, M.D. Cong-Hermida, S.M. Medina-Torres y H.H. Piña-Ruiz. 2014. Análisis técnico del árbol de mezquite (*Prosopis laevigata* Humb. & Bonpl. ex Willd) en México. *Ra Ximhai*, 10(3): 173-193.
- Sánchez-Dirzo, M.G., C.E. López-Ferrer, M. Flores-Valadez, A.L. Jofre-Garfias, J.A. Aguirre-Rodríguez, E.J. Morales-Cruz y R. Reyes-Chilpa. 2010. Estudio preliminar del Axokot, bebida tradicional fermentada, bajo una perspectiva transdisciplinaria. *Investigación Universitaria Multidisciplinaria* 9(9): 113-124.
- Téllez-Mora, P., F.A. Pedraza-Luna, A. Feria-Velasco and I. Andrade-González. 2012. Optimization of fermentation process for tequila production using response surface methodology (rsm). *Revista mexicana de ingeniería química* 11(1): 163-176.
- Valdez-Duque, B.E., J.J. Cataño-Castrillón y M. Arias-Zabala. 2002. Obtención de etanol y de una bebida alcohólica tipo aperitivo por fermentación de plátano maduro. *CENICAFÉ* 53(3): 239-251.
- Velázquez-López, A., D. Covatzin-Jirón, M.D. Toledo-Meza y G. Vela-Gutiérrez. 2018. Bebida fermentada elaborada con bacterias ácido lácticas aisladas del pozol tradicional chiapaneco. *Ciencia UAT* 13(1): 165-178.
- Volk, T. y A. Galbraith. 2002. This month's fungus is *Saccharomyces cerevisiae*, the bakers and brewers yeast. (Consultado: 10/09/2021). Disponible en: [https://botit.botany.wisc.edu/toms\\_fungi/dec2002.html](https://botit.botany.wisc.edu/toms_fungi/dec2002.html).