

Fermentación alcohólica por *Saccharomyces cerevisiae* y cuantificación de flavonoides del zumo de *Citrus x clementina* (naranja)

César Joe Valenzuela Huamán*, Lida Velazque Rojas, Carolay Julissa Cordova Villavicencio, Tania de la Flor Cutimpo Paucar

Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Facultad de Ciencias de la Salud, Perú.

*Correo electrónico: qf.joes@gmail.com

Recibido: 15 de abril de 2020

Revisado: 21 de marzo de 2021

Aceptado: 26 de marzo de 2021

RESUMEN

Objetivo: elaborar una bebida por fermentación alcohólica y la cuantificación de flavonoides del zumo de *Citrus x clementina* (naranja). **Metodología:** se utilizó el método de fermentación alcohólica por levadura de la variedad *Saccharomyces cerevisiae*, se fermentó el jugo de naranja con una densidad de 1,050 g/cm³ por 5 semanas y se cuantificó los flavonoides de la bebida alcohólica por el método de cromatografía HPLC. **Resultados:** después de las 5 semanas se analizó que la bebida por fermentación alcohólica tuvo un 11 % de alcohol y flavonoides de hesperidina 13,9 mg/100 ml y naringenina 6,3 mg/100 ml en su concentración.

Palabras clave: Flavonoides, hesperidina, naringenina, fermentación alcohólica, naranja.

SUMMARY

Alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* and quantification of flavonoids of the *Citrus x clementina* juice (orange)

Aim: to elaborate a drink by alcoholic fermentation and the quantification of flavonoids in *Citrus x clementina* (orange) juice. **Methodology:** the method of alcoholic fermentation by yeast of the *Saccharomyces cerevisiae* variety was used, the orange juice was fermented with a density of 1.050 g/cm³ for 5 weeks and the flavonoids of the alcoholic beverage were quantified by the HPLC chromatography method.

Results: after 5 weeks it was analyzed that the drink by alcoholic fermentation had 11 % alcohol and hesperidin flavonoids 13.9 mg/100 ml and 6.3 mg/100 ml naringenin in its concentration.

Keywords: Flavonoids, hesperidin, naringenin, alcoholic fermentation, orange.

RESUMO

Fermentação alcoólica por *Saccharomyces cerevisiae* e quantificação de flavonóides do suco *Citrus x clementina* (laranja)

Objetivo: elaborar uma bebida por fermentação alcoólica e quantificação de flavonóides no suco *Citrus x clementina* (laranja). **Metodologia:** foi utilizado o método de fermentação alcoólica por levedura da variedade *Saccharomyces cerevisiae*, o suco de laranja foi fermentado com densidade de 1,050 g/cm³ por 5 semanas e os flavonóides da bebida alcoólica foram quantificados pelo método de cromatografia HPLC. **Resultados:** após 5 semanas foi analisado que a bebida por fermentação alcoólica continha álcool a 11 % e flavonóides de hesperidina 13,9 mg/100 ml e 6,3 mg/100 ml naringenina em sua concentração.

Palavras-chave: flavonóides, hesperidina, naringenina, fermentação alcoólica, laranja.

INTRODUCCIÓN

Perú ocupa el décimocuarto lugar como productor mundial de cítricos [1] y el cuarto productor en el hemisferio sur [2]. La producción de naranjas en la provincia de La Convención está destinada exclusivamente al mercado. La población del lugar compra estos productos con fines alimenticios.

Las plantas cítricas presentan antioxidantes como los flavonoides y vitamina C presentes en diferentes partes de la naranja, limón, toronja y mandarina. Estos influyen en la acción antiedemagénica y antiinflamatoria y son útiles para el tratamiento de la insuficiencia venosa crónica. Sus propiedades terapéuticas son: antiagregante plaquetario y antiaterogénica, útiles para la prevención y tratamiento de enfermedades aterotrombóticas [3]. Por lo que al consumirlos se obtendría propiedades antiinflamatorias, antimicrobianas, antitrombóticas, antialérgicas, antitumorales, anticancerígenas y antioxidantes [4]. La *Citrus x clementina* contiene cantidades apreciables de beta-caroteno, responsable del color típico y conocido por sus propiedades antioxidantes; además de

ácidos málico, oxálico, tartárico y cítrico, esta última potencia la acción de la vitamina C. La naranja y especialmente su zumo, ejerce una acción colerética y colagoga. Tomados en ayunas pueden provocar un vaciamiento brusco de la vesícula biliar que se acompaña de molestias leves como náuseas o pesadez abdominal [5].

Los flavonoides son la clase predominante, ocupando aproximadamente dos tercios de los fenoles dietéticos, estos son un tipo particular de polifenoles presentes en plantas y son los compuestos responsables del color de las flores y frutas [6, 7]. Las dosis normales de ingesta de flavonoides pueden ser de 20-26 mg/día contenidos en frutas y verduras (manzanas, naranjas, guayabas, uvas) [8].

En este contexto el producto “Vino espumante de naranja” podría no solo ser una alternativa biotecnológica novedosa sino también una opción para diversificar la oferta de productos derivados de frutas cítricas, capaz de aumentar las rentas y retenerlas en el ámbito de la economía local [9], así también, podemos pensar en la elaboración fermentos alcohólicos a base de frutas cítricas, como ya se viene utilizando en otras regiones.

El objetivo del presente trabajo fue obtener la fermentación alcohólica por *Saccharomyces cerevisiae* por un periodo de 5 semanas y cuantificar los flavonoides del zumo de naranja (*Citrus x clementina*) ya fermentados, para lo cual se utilizó el método de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) con detector (UV-vis) [10, 11].

MATERIAL Y MÉTODOS

Para el inicio de la fermentación, se ajustó el jugo de naranja a los valores reportados para la fermentación de uva, que corresponde a 9 g/kg de ácido cítrico. Se realizó el balance de masa de acuerdo a los sólidos solubles total y acidez total para el ajuste del mosto de fermentación. Se cuantificó acidez y pH [12, 13]. El mosto para fermentar se depositó en biorreactor de plástico con capacidad de 10 L. El proceso se extendió por un periodo de 5 semanas, realizando seguimiento de parámetros, azúcares, acidez y pH.

Se realizó un análisis, tomando aproximadamente 150 mL, para el determinar la concentración de azúcar, acidez y pH de la bebida fermentada, después de 5 semanas. Se obtuvieron 6 L de zumo de naranja que fueron introducidas en el biorreactor para la fermentación alcohólica, proveniente de la provincia de la Convención, de la variedad *Citrus x clementina*. La transformación de la materia prima se llevó a cabo en el laboratorio de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco, siguiendo parámetros de limpieza, desinfección y aplicación de buenas prácticas de manufactura (BPM).

Al biorreactor con los 6 L de zumo de *Citrus x clementina* se adicionó *Saccharomyces cerevisiae* de la variedad *Bayunas*, para la fermentación alcohólica [14, 15]. Seguidamente se adicionó metabisulfito para eliminar las bacterias y como preservante [16, 17], el mosto permaneció en el biorreactor por 5 semanas y una muestra de 20 mL de este fermento alcohólico se llevó al Laboratorio de Control de Calidad de la UNSAAC, para la determinación de flavonoides mediante la cromatografía HPLC y espectrofotometría de masas. Este trabajo de investigación es un diseño descriptivo, debido a que las características de los fenómenos de objeto de estudio se describieron.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Determinación del rendimiento de la fermentación alcohólica

El porcentaje de obtención de la fermentación alcohólica por *Saccharomyces cerevisiae* del zumo de *Citrus x clementina* de extracción se da por la ecuación 1.

$$\%Rendimiento = \frac{\text{rendimiento real}}{\text{rendimiento teórico}} \times 100 \quad (1)$$

Dónde:

Rendimiento real: 3870 mL (después de la fermentación alcohólica).

Rendimiento teórico: 6000 mL (6 L de zumo de *Citrus x clementina*).

Análisis

Haciendo cálculos matemáticos se obtuvo que el rendimiento fue 64,5 % mL, sin embargo, según Invinic [18], que se necesita aproximadamente 1.5 KG de uva para obtener una botella de litro de vino, si tenemos en consideración estos resultados el porcentaje de rendimiento que se obtendría sería de 66,66 % de rendimiento que es similar al obtenido en el presente trabajo de investigación.

Según Di Giacomo [19], para obtener una botella de vino de 750 mL se necesita 1 Kg de uva haciendo los cálculos respectivos el porcentaje de rendimiento sería el 75 % y para obtener una botella de fermentación de naranja se necesita 1,2 L de zumo de naranja dando un porcentaje de rendimiento de 64,5 %, por lo tanto, estos valores son ligeramente similares, siendo la obtención de vino la de mayor rendimiento.

Así, Méndez [20] indicó que el porcentaje de rendimiento en la elaboración de vino de naranja es de 70 %, estos datos están más próximos al rendimiento de fermentación alcohólica en el trabajo de investigación realizado.

Es importante entender que la diferencia de porcentajes de rendimiento podría deberse a que la industria enológica utiliza grandes cantidades en la producción, donde las pérdidas en los análisis de acidez y concentración de alcohol son mínimas en comparación al proyecto de fermentación alcohólica por *Saccharomyces cerevisiae* del zumo de *Citrus x clementina*.

De la cuantificación de flavonoides del zumo de *Citrus x clementina* (naranja) fermentado por *Saccharomyces cerevisiae*

La cuantificación de flavonoides en la fermentación alcohólica por *Saccharomyces cerevisiae* del zumo de *Citrus x clementina* fue determinada en el Laboratorio de Control de Calidad de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco donde se utilizaron la cromatografía y espectrofotometría en la determinación de flavonoides, los resultados se presentan en la tabla 1.

Tabla 1. Resultados de cuantificación de flavonoides.

Flavonoides	Muestra 1	Muestra 2	muestra 3	Total, mg/100 mL
Hesperidina	14,5	13,6	13,5	13,9
Naringenina total	6,5	6,3	6,2	6,2

Fuente: Laboratorio de cromatografía y espectrofotometría UNSAAC.

Análisis

Las muestras se realizaron por triplicado y cuantificados por HPLC, los resultados de los flavonoides fueron: hesperidina 13,9 mg/100 mL y naringenina 6,2 mg/100 mL, datos encontrados en la variedad *Citrus x clementina*.

En el estudios realizado por Rojas [10] se obtuvo como resultados cítricos como naranja Valencia Campbell con contenidos de naringenina 3,40 µg/mL y hesperidina 44,89 µg/mL, datos menores al presente estudio.

La diferencia que existe entre ambos cítricos podría deberse a la variedad, el estudiado es un injerto entre naranja y mandarina y el de datos bibliográficos es naranja, no se existe mucha bibliografía sobre la concentración de estos flavonoides en zumos de cítricos.

CONCLUSIONES

Los resultados muestran que se obtuvo una bebida por fermentación alcohólica del zumo de *Citrus x clementina* (naranja) con 11 % de alcohol. Los resultados más consistentes obtenidos fueron la concentración de los flavonoides de hesperidina 13,9

mg/100 mL y naringenina 6.2 mg/100 mL del fermento alcohólico de *Citrus x clementina* (naranja).

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no declaran conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. R. Larico, *Compatibilidad de patrones y yemas en injerto de cítricos en Echarati-La Convención- Cusco*, tesis de grado, Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco, Cusco, 2015, p. 1-2.
2. Agencia Peruana de Noticias, *Perú es el cuarto productor de cítricos en hemisferio sur*, URL: <https://www.americaeconomia.com/negocios-industrias/peru-es-el-cuarto-productor-de-citricos-en-hemisferio-sur>, consultado en abril de 2020.
3. M. García, D.M. Armenteros, Plantas cítricas en el tratamiento de enfermedades vasculares, *Revista Cubana de Angiología y Cirugía Vasculat*, **3**(2), 39-46 (2002).
4. C.I. Escamilla, E.Y. Cuevas, J. Guevara, Flavonoides y sus acciones antioxidantes, *Revista de la Facultad de Medicina de la Unam*, **52**(2), 73-75 (2009).
5. Fundación Eroski Consumer, *Guía práctica de frutas*, URL: <https://frutas.consumer.es/naranja/propiedades>, consultado abril del 2020.
6. J.M. Peñarrieta, L. Tejeda, P. Mollinedo, J.L. Vila, J.A. Bravo, Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos, *Revista Boliviana de Química*, **31**(2), 68-81 (2014).
7. A.M. Viñas, *Polifenoles totales y flavonoides en diferentes extractos de harinas industriales, a granel y artesanales de quinua (Chenopodium quinoa), kiwicha (Amarantus caudatus) y kañiwa (Chenopodium pallidicaule)*, tesis de grado, Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas, Lima, Perú, 2017, p. 3-4.
8. M. Coronado, S. Vega y León, R. Gutiérrez, M. Vázquez, C. Radilla, Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana, *Revista Chilena de Nutrición*, **42**(2), 206-212 (2015).
9. A.S. Leal, *Desarrollo de vino espumante de naranja (var. Valencia) Estudio de su fracción aromática libre y caracterización sensorial con consumidores*, tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, 2015, p. 22.

10. P. Rojas, Determinación por HPLC de flavanonas en jugos cítricos de variedades cultivadas en Santander, *Scientia et Technica*, **13**(33), 293-294 (2007).
11. S. López, *Naringina y sus efectos a nivel densitométrico sobre la regeneración guiada con extracto de uva y colágeno de origen porcino. Estudio en modelo experimental con conejos albinos de Nueva Zelanda*, tesis doctoral, Universidad de Murcia, Murcia, España, 2015, p. 45.
12. J.L. Hoyos, F.E. Urbano, H.S. Villada, S.A. Mosquera, D.P. Navia, Determinación de parámetros fermentativos para la formulación y obtención de vino de naranja (*Citrus Sinensis*), *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, **8**(1), 26-34 (2010).
13. M.M. Ferreyra, M.C. Schwab, L.M. Gerard, L.M. Zapata, C.V. Davies, R.A. Hours, Fermentación alcohólica de jugo de naranja con *S. cerevisiae*, *Ciencia, Docencia y Tecnología*, **20**(39), 143-158 (2009).
14. F. Carretero, *Innovación tecnológica en la industria de bebidas*, tesis de grado, Escola Universita d'enginyeria Tècnica Industrial de Barcelona, Barcelona, España, 2006, p. 4-10.
15. M. Mercedes, *Estudio del proceso biotecnológico para la elaboración de una bebida alcohólica a partir de jugo de naranjas*, tesis doctoral, Universidad Politécnica de Valencia, Valencia, España, 2006, p. 173.
16. A. García, *Efecto de los polifenoles sobre el crecimiento y metabolismo de bacterias lácticas del vino. Potencial uso como alternativa al empleo de los sulfitos durante la vinificación*, tesis doctoral, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España, 2012, p. 27.
17. F. Juárez, *Optimización de parámetros para la producción y envasado de chicha de Schinus molle, "molle"*, tesis de grado, Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Ayacucho, Ayacucho, Perú, 2011, p. 39.
18. Invinic, ¿Cuántas uvas hacen falta para elaborar una botella de vino?, URL: <https://blog.invinic.com/cuantas-uvas-hacen-falta-para-elaborar-una-botella-de-vino>, consultado en abril de 2020.
19. D. Di Giacomo, ¿Con cuántas uvas se hace un vino?, ¿tiene fecha de vencimiento?, URL: <https://www.devinosyvides.com.ar/nota/256-con-cuantas-uvas-se-hace-un-vino-tiene-fecha-de-vencimiento-y-otros>, consultado en abril de 2020.

20. M.J. Víctor, *Evaluación de la estabilidad del vino de naranja (Citrus sinensis) usando un agente y una enzima clarificante*, tesis de grado, Universidad de Zamorano, Honduras, 2006, p. 10.

COMO CITAR ESTE ARTÍCULO

C.J. Valenzuela-Huamán, L. Velazque-Rojas, C.J. Cordova-Villavicencio, T.d.l.F. Cutimpo-Paucar, Fermentación alcohólica por *Saccharomyces cerevisiae* y cuantificación de flavonoides del zumo de *Citrus x clementina* (naranja), *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **50**(3), 677-684 (2021).