



UTHURRY C.A¹, QUINTERO PAREDES D.A¹, LOPES Ch.A.², RODRIGUEZ M.E.², DE ANGELIS V.³, CALVO P.C.³, DOMINI C.E.⁴, ACEBAL, C.C.⁴

- (1) CIT Río Negro (CONICET- UNRN) (Universidad Nacional de Río Negro), 9 de Julio 446, Villa Regina, Río Negro, Argentina. E-mail: cuthurry@unrn.edu.ar
- (2) PROBIEN (CONICET- UNCo) (Universidad Nacional de Comahue), Buenos Aires 1299, Neuquén, Neuquén, Argentina.
- (3) INTA (Estación Experimental Agropecuaria Alto Valle), Ruta Nacional 22 Km 1190, Allen, Río Negro, Argentina.
- (4) INQUISUR (CONICET- UNS) (Universidad Nacional del Sur), Av. Leandro N. Alem 1253, Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina.

IX Congreso Internacional de Ciencia y Tecnología de los Alimentos 2024
Córdoba, Argentina, 16 al 18 de Octubre de 2024

Summary

Micro fermentations (75 mL) were performed with juices from non traditional apple cultivars – Sturmer Pippin (SP), Jonagold de Coster (JC), Orleans Reinette (OR), Rome (RO) and Mutsu (MU)- using three yeast strains selected for cidemaking belonging to Colección de Cultivos Patagonia Norte (CCPN) - *Saccharomyces eubayanus* (L1), *Saccharomyces uvarum* (L2), *Saccharomyces cerevisiae* (L3) - and a comercial strain as control - *Saccharomyces cerevisiae* Spark® (L4). Each experiment under the same conditions was made in triplicate at 20 °C. The ciders obtained were analysed by HPLC. The results showed high depletion rates for fructose and high glicerol contents in some ciders. Malic acid contents increased dramatically and the highest concentrations of succinic acid were recorded in those ciders fermented with *Saccharomyces uvarum*. All ciders complied with the Código Alimentario Argentino regarding the volatile acidity.

Palabras clave: manzanas no tradicionales, sidras argentinas, levaduras sidreras, HPLC.

Introducción y objetivos

El proyecto PI UNRN 40 - A – 699 tuvo como objetivo el estudio de la aptitud de variedades de manzana no tradicionales y cepas de levaduras con potencial sidrero para determinar las características fisicoquímicas y sensoriales de las sidras base. Esta investigación complementa al trabajo que la Universidad Nacional de Río Negro (UNRN) viene desarrollando desde hace unos años con el INTA y distintos elaboradores artesanales del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, en busca del desarrollo de sidras de calidad diferenciada que satisfagan las preferencias de los nuevos consumidores. El estudio se extendió durante las campañas 2019 y 2020. Se presentan los resultados obtenidos por HPLC de las sidras base de 2019, que revisten interés de cara a la elaboración de sidras con buena acidez y untuosidad, atributos sensoriales que son muy valorados.

Materiales y métodos

Jugos de variedades de manzana no tradicionales: los jugos fueron obtenidos en la Planta Piloto de Alimentos Sociales de la UNRN (Villa Regina) partiendo de manzanas maduras de los cultivares Sturmer Pippin, Jonagold de Coster, Orleans Reinette, Rome y Mutsu, provenientes del Banco de Germoplasma de la Estación Experimental Agropecuaria Alto Valle (EEAAV) de INTA (RN 22, Km 1190, Allen, Río Negro). El volumen necesario para las micro fermentaciones se fraccionó en botellas de PET para su congelación previo a su uso (-10 °C).

Fermentación alcohólica: los jugos de cada variedad se descongelaron y se corrigió el nitrógeno fácilmente asimilable (NFA). El NFA se estableció entre 134.4 y 156.8 mg/L. El jugo de cada variedad se fraccionó a razón de 75 mL en 12 matraces Erlenmeyer de 100 mL (1 variedad x 4 cepas de levadura x 3) y se esterilizó a vapor fluyente (1 atm, 100 °C). El tamaño del inóculo de levadura fue del 5 % a partir de cultivos líquidos en medio YPD (Yeast Peptone Dextrose) sincronizados. Tras homogenizar, los Erlenmeyer se cerraron con válvulas air-lock y la fermentación se realizó a 20 °C, con registro diario gravimétrico (pesada) de cada matraz. Tras la fermentación, las sidras base fueron guardadas en frascos ámbar de 70 mL con tapa a rosca y se conservaron congeladas (-10 °C).

Análisis por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC): las sidras base se descongelaron en heladera (4 °C – 8 °C), se centrifugaron en tubos Falcon de 45 mL (4000 rpm, 10') y se filtraron por 0.22 µm recolectando el filtrado en tubos de 15 mL con tapa rosca. La muestra filtrada se destinó al análisis por HPLC. El análisis cromatográfico se hizo empleando una columna Hiplax (Agilent Technologies, Santa Clara, CA 95051, USA), empleando como fase móvil H₂SO₄ 0.001 M y un caudal de 0.4 mL/min. La temperatura de la columna se mantuvo a 75 °C y la detección se realizó por DAD (214 nm) para ácidos orgánicos, y por RID (a 55 °C) para alcoholes y azúcares.

Tratamiento de datos: se realizó análisis de varianza (ANOVA) utilizando el complemento de Excel para análisis estadístico XLSTAT (Addinsoft, 40 rue Damremont, 75018 París, Francia).

Resultados

La Tabla 1 muestra el grado de degradación de fructosa y glucosa como consecuencia de la fermentación alcohólica. Los jugos de las cinco variedades no tradicionales tuvieron concentraciones de fructosa entre 3 y 6 veces superior a las de glucosa, siendo Mutsu la variedad con el máximo contenido (83.5 g/L). Las elevadas tasas de degradación de la fructosa oscilaron entre 94.5 y 100 %, en tanto para la glucosa entre 51.5 y 100 %. Si bien las levaduras ensayadas incorporaron tanto glucosa como fructosa como fuentes de carbono para su crecimiento, es evidente un pronunciado carácter fructolítico, con la levadura L3 (*Saccharomyces cerevisiae*) en primer lugar.

El glicerol se encontró en concentraciones máximas en las sidras obtenidas a partir de la variedad OR fermentada con la cepa L2 (6.30 g/L), y la variedad RO fermentada con la cepa L1 (6.60 g/L) y L2 (6.43 g/L). Esto es interesante desde el punto de vista sensorial ya que el glicerol contribuye a la untuosidad y cuerpo de la sidra. La cepa de levadura resultó levemente significativa en los niveles de glicerol (p = 0.049), con contenidos en las sidras obtenidas con L1 (media LS: 5.61 g/L) superiores a los de las sidras fermentadas con L3 (media LS: 3.16 g/L) (Figura 1).

Se encontraron aumentos llamativos en los niveles de ácido málico tras la fermentación, registrándose valores entre un 35 y un 206 % más respecto a los contenidos iniciales en los jugos de partida. El ANOVA mostró que los factores variedad y levadura fueron significativos (p < 0.0001 y p = 0.03) siendo variedad el factor más influyente. Se registraron diferencias significativas entre SP (media LS: 6.50 g/L) – OR (media LS: 5.89 g/L) y JC (media LS: 4.65 g/L) – MU (media LS: 4.62 g/L) – RO (media LS: 4.55 g/L) (Figura 2a). Las sidras de JC obtenidas con las cepas L3 y L4, y la sidra de RO fermentada con L3 fueron las de mayor contenido en ácido málico (Figura 2b).

El ANOVA para el ácido succínico mostró que levadura y variedad resultaron significativos siendo levadura el factor más influyente. La cepa L2 fue la más significativa (p < 0.0001), siendo las sidras

Tabla 1. Contenidos de glucosa y fructosa en los jugos, en las sidras y los porcentajes de degradación.

Variedad	Jugos		Levadura	Sidras		Degradación (%)	
	Glucosa (g/L)	Fructosa (g/L)		Glucosa (g/L)	Fructosa (g/L)	Glucosa	Fructosa
Jonagold de Coster	11,41	68,89	L1	3,28	3,33	71,2	95,2
			L2	1,49	3,08	87,0	95,5
			L3	2,96	3,14	74,0	95,4
			L4	2,85	3,03	75,0	95,6
Mutsu	16,29	83,45	L1	3,80	3,11	76,7	96,3
			L2	3,75	3,30	77,0	96,0
			L3	3,49	3,22	78,6	96,1
			L4	3,52	3,72	78,4	95,5
Orleans Reinette	21,82	68,20	L1	3,94	3,34	82,0	95,1
			L2	4,48	3,74	79,5	94,5
			L3	3,08	3,68	85,9	94,6
			L4	5,33	3,65	75,6	94,7
Rome	14,24	69,85	L1	3,63	3,02	74,5	95,7
			L2	4,20	2,99	70,5	95,7
			L3	0,00	0,00	100,0	100,0
			L4	3,17	3,14	77,7	95,5
Sturmer Pippin	13,08	80,94	L1	6,35	3,85	51,5	95,2
			L2	5,07	3,42	61,2	95,8
			L3	2,58	1,81	80,3	97,8
			L4	5,81	4,10	55,6	94,9

Medias (Glicerol (g/L)) - Levadura

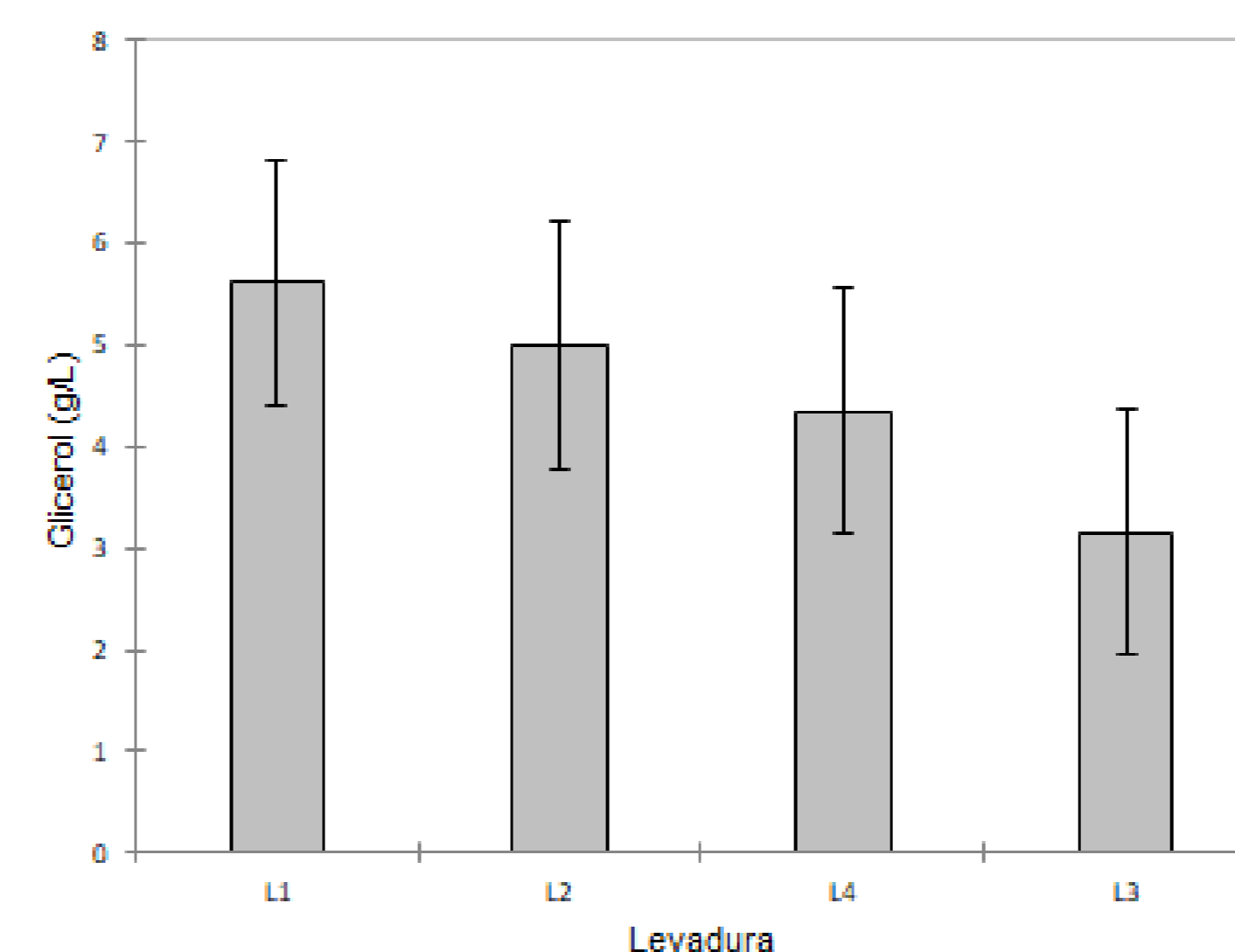


Figura 1. Producción de glicerol por las cepas de levaduras.

Medias (Ác. málico (g/L)) - Variedad

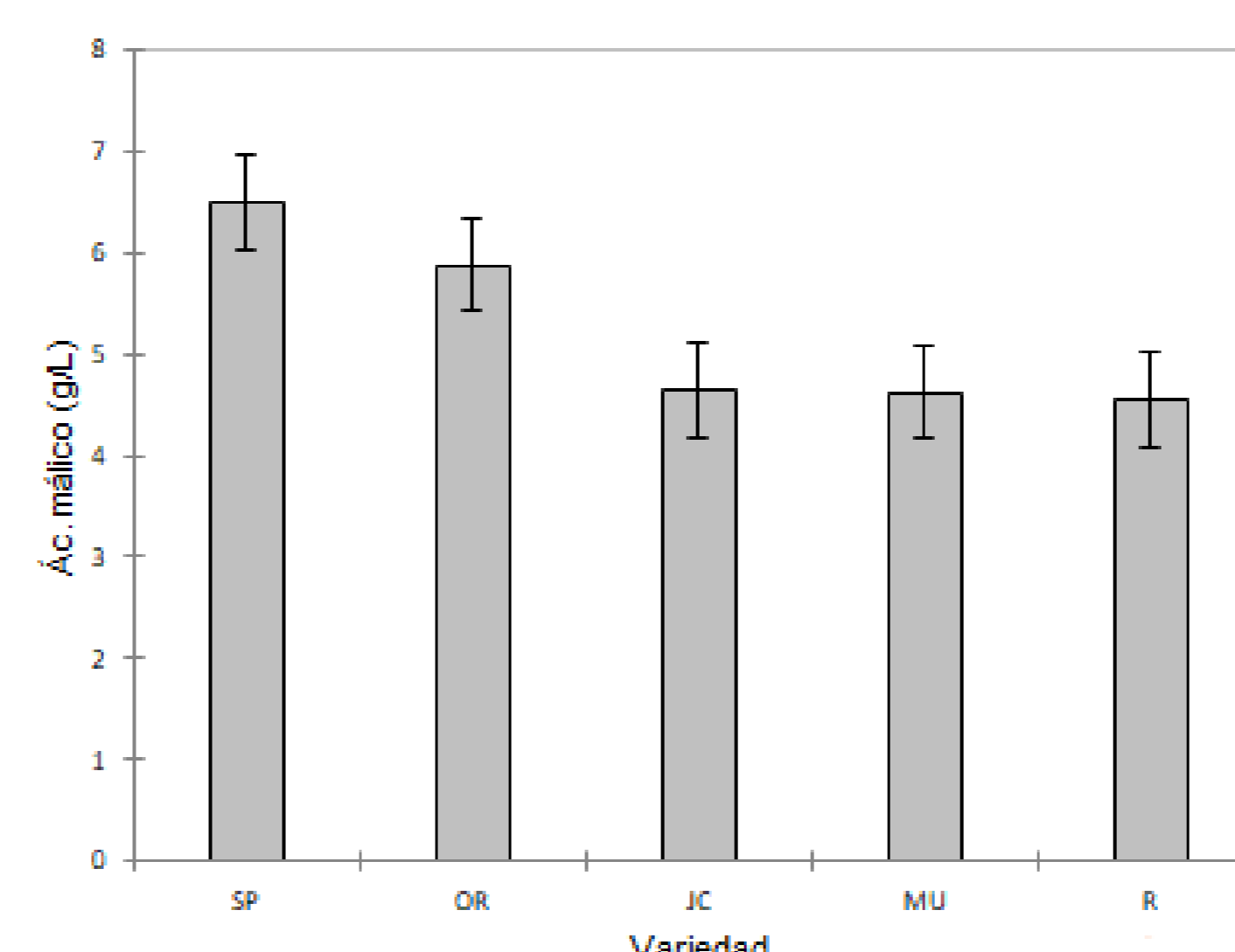


Figura 2a. Producción de málico y las variedades.

Medias (Ác. málico (g/L)) - Levadura

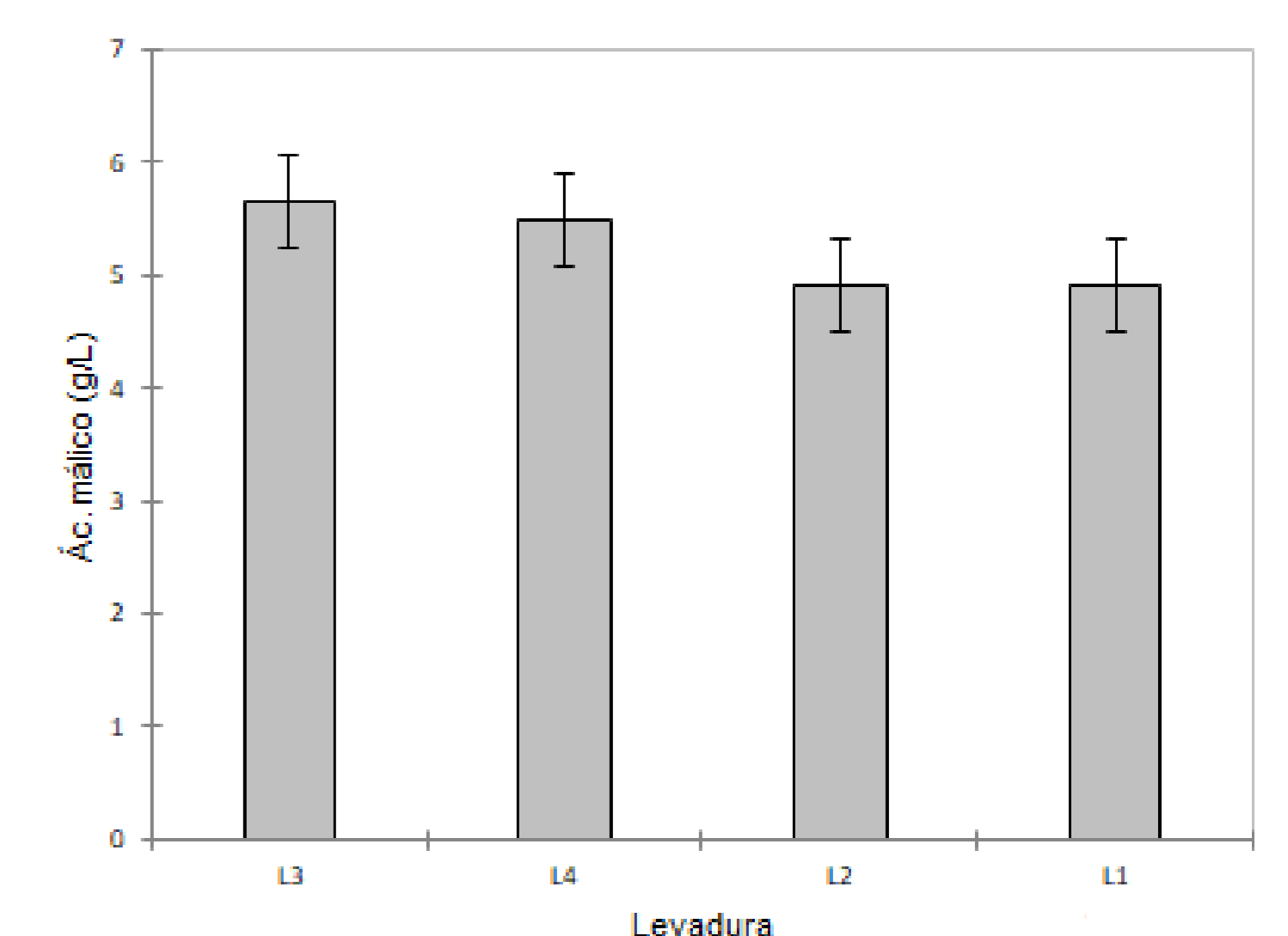


Figura 2b. Producción de málico por las cepas de levaduras.

obtenidas a partir de ella las más ricas en este ácido (media LS: 6.31 g/L). Respecto a la variedad, los niveles de succínico en las sidras de OR resultaron significativamente superiores (media LS: 5.04 g/L) a los hallados en los caldos de SP (media LS: 3.08 g/L). Las sidras de las variedades restantes presentaron niveles de succínico intermedios, en orden decreciente: RO (media LS: 4.77 g/L), JC (media LS: 3.78 g/L), y MU (media LS: 3.68 g/L).

Todas las sidras presentaron niveles de acidez volátil correctos, hasta 1.51 g/L, y el grado de alcohol varió en el rango 5.1 – 6.8 % v/v.

Conclusiones

- En la búsqueda de sidras de calidad diferencial los resultados son de interés para encontrar buena acidez y amargor, atributos apreciados en un producto distinto.
- Los altos niveles de ácido málico hallados en sidras de las variedades OR y SP superan los registrados en sidras industriales.
- El contenido de glicerol en las sidras de OR y RO es muy valorado a fin de lograr sidras untuosas y con cuerpo.
- El futuro análisis de compuestos volátiles por GC – FID completará la información del perfil fisicoquímico de estas sidras.