



Obtención de una bebida alcohólica a partir de morocho utilizando tratamientos enzimáticos

Gladys Navas*
Freddy del Pozo**
Alex Valencia**

* *Universidad Técnica de Ambato*
Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos
fcial@uta.edu.ec
** *Ingenieros en Alimentos*
Investigadores asociados

RESUMEN

La variedad de maíz conocida como morocho, es un cereal cultivado en Ecuador para el cual se desea incentivar su producción mediante el desarrollo de productos industriales, como son las bebidas fermentadas.

Se caracterizaron y seleccionaron muestras de morocho que fueron sometidas a molienda; para preparar soluciones de almidón en agua y su posterior tratamiento calórico, obteniéndose como resultado un cambio de estado en el almidón. A continuación se usaron enzimas para romper las cadenas de almidón y conseguir azúcares fermentecibles. Al finalizar este proceso se elevó la temperatura del mosto para eliminar posibles contaminaciones microbianas.

Se colocó el mosto en recipientes adecuados para la inoculación de levaduras, con lo que se inició el proceso fermentativo, durante dicho proceso se analizaron los cambios de: sólidos solubles, viscosidad cinemática, viscosidad dinámica, densidad, pH y acidez. A los 22 días se culminó la fermentación, y se procedió con el primer trasiego, luego de quince días se realizó el segundo trasiego.

Obtenida la bebida alcohólica se realizó el análisis sensorial, cuyos resultados permitieron determinar como mejor tratamiento el a2b1c0 (0.05g fungamyl/Kg maíz, 23°Brix ajustados con azúcar, 0.50g levadura/l mosto). En el mejor tratamiento se realizaron análisis de grado alcohólico, análisis microbiológico, cromatográfico (metanol) y además el estudio de costos.

Los resultados indican que el uso de enzimas ayudan a clarificar y mejorar la calidad sensorial del producto.

SUMMARY

The well-known variety of corn usually known as morocho, is a cereal cultivated in Ecuador and it is desired to stimulate its production for the industrial production of intermediary goods, like: fermented beverages.

Morocho samples were selected, then milled and dissolved in water to obtain a water-starch solution, and due to heat treatments a change of state was created. Enzymes were used to break starch linkages and to produce carbohydrates ready to ferment. At the end of the procedure, the temperature was increased to encumber spoiling.

Musts were placed in bioreactors to continue the fermentation process in which many variables were controlled, like: Brix, kinematic viscosity, dynamic viscosity, density, pH and acidity. At the 22th day fermentation was concluded, and the first fining begun, and after 15 days the second fining started.

After fining, stabilization and clarification a sensorial analysis was conducted, from which the best treatment was selected, as: a2b1c0 (0.05 g fungamyl/kg corn, 23Brix sugar-based and 0.50 g yeast/l must). Alcoholic grade, microbiological analysis, and chromatographic (methanol) analysis plus economical studies were conducted over the best treatment.

As conclusion, the addition of enzymes helps to clarify and to improve sensorial qualities in the product.



INTRODUCCIÓN

Kent (1971) resalta el empleo del maíz en la alimentación animal, para consumo humano y para la fabricación de almidón, jarabe y azúcar, alcohol industrial y whisky. Luego de la molturación se obtiene: sémola, harina, germen, maíz molido, almidón, chicha o licor de maíz.

Krestzchmar Hermann (1961), define la fermentación alcohólica como la transformación de los azúcares en alcohol y anhídrido carbónico, es el fenómeno químico biológico producido por levaduras o fermentos, que actúan y proliferan cuando se encuentran en un medio con condiciones favorables. Carbonell (1970), define la fermentación como el proceso de cambios químicos que se experimentan en un sustrato orgánico, promovidos por la acción de unos catalizadores llamados enzimas.

Parsons (1999), destaca que la naturaleza de las materias primas utilizadas en la fermentación tienen un peso considerable sobre los métodos de procesamiento empleados. Existe amplia disparidad entre los sustratos industriales y los utilizados con fines de investigación. Las cosechas utilizables para realizar fermentación son: a) subproductos del procesamiento de las cosechas de azúcar: melazas, sorgo dulce, jarabes; b) cosechas de azúcar: caña de azúcar, remolacha, sorgo; c) cereales: maíz, trigo, arroz; d) tubérculos: mandioca, patata. De las fuentes indicadas anteriormente, los problemas de su disponibilidad, los precios y el desarrollo tecnológico del procesamiento reducen la selección a un número pequeño.

Con relación a las enzimas, Reventós (1962), indica que éstas son sustancias capaces de aumentar o retrasar la transformación de otras sustancias en productos diversos, permaneciendo inalterables hasta el término de la reacción.

La Revista Novo Nordisk (1995), señala que las enzimas funcionan sólo en materias primas renovables. Productos típicos para la conversión enzimática en la industria son: fruta, cereales, leche, grasas, carne, algodón, cuero y madera.

La FAO en su página Web señala que el tipo de maíz que se está difundiendo en la zona andina es el Morocho, ha sido desarrollado cruzando tipos de maíces harinosos con maíces duros de zonas altas.

Ecuarrunari en su página Web señala que Ecuador posee la variedad INIAP-160 (morocho blanco) que se cultiva en clima templado, principalmente en los valles de la provincia de Pichincha, el rendimiento esperado es de 88 qq/Ha, la época de siembra es de septiembre a noviembre.

Con el morocho se elabora en Ecuador una bebida alcohólica tradicional que se denomina "chicha" que se obtiene en forma artesanal. Con el presente estudio se pretende innovar su tecnología y obtener dos tipos de bebidas alcohólicas a partir de esta materia prima con la inclusión de tratamientos enzimáticos y el uso de azúcar y panela.

MATERIALES Y MÉTODOS

Metodología para la obtención de una bebida alcohólica a partir de morocho usando tratamientos enzimáticos (Diagrama 1).

En el presente trabajo se utilizó maíz (*Zea mays* var. Morocho), el mismo que fue adquirido en uno de los centros de comercio de cereales de Ambato en la provincia de Tungurahua. Inicialmente se realizó la caracterización física y la determinación de carbohidratos, cenizas y humedad. También se realizó la caracterización física de la cebada y la jora. Luego se procedió a la molienda del maíz, para obtener una partícula fina del grano.

El producto obtenido en el paso anterior se dispersó en agua, mediante una relación de 1:10 (w/v).

La mezcla resultante se sometió a un tratamiento calórico durante 20 minutos en autoclave (LEE METAL PRODUCTS # A789 AB1) a una presión de 1.0 - 1.2 atm, para lograr el cambio de estado del almidón de cristalino a gelatinizado. Se concluye este tratamiento con la separación del sobrenadante.

El producto resultante se dividió en tres partes iguales con la finalidad de añadir a cada una de ellas una enzima diferente.

Luego en una estufa se dejó reposar cada una de las mezclas anteriores a las temperaturas de: 50 – 55 °C durante 75 minutos para la mezcla con enzima Fungamyl 2500 BG y 50 – 60 °C durante 150 minutos para las mezclas con las enzimas nativas de jora y malta.

Las mezclas obtenidas se filtraron en un tamiz y en el líquido separado se ajustaron los grados Brix de cada mezcla hasta 23 °Brix, se usó como edulcorantes panela y azúcar. Para iniciar la fermentación se inocularon las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* RM. 78654 – AMT en las concentraciones de 0.50 y 0.75 g por litro de mosto en cada caso. Durante el proceso de fermentación se analizó viscosidad, pH, acidez y grados Brix todos los días.

Cuando los grados Brix se mantuvieron constantes, se realizó el primer trasiego al cabo de 15 días junto con una filtración para retener posibles impurezas, después de 7 días se efectuó un segundo trasiego.

Seguidamente se pasteurizó la bebida alcohólica a 65 °C por 20 minutos, para así eliminar los residuos de levaduras y posibles microorganismos existentes.

Se esterilizaron las botellas de vidrio de 750 cc, finalmente se llenaron y almacenaron a temperatura ambiente y de éstas se tomaron muestras para realizar análisis sensorial.



Métodos de análisis

Grados Brix

La medición de sólidos solubles se la realizó con un Refractómetro RHB-32 ATC rango 0 – 32 °Brix.

pH

Para la determinación del pH se usó un pHmetro Checker 0.00 – 14.00, el cual previamente al análisis se calibró con solución buffer 4.

Acidez total

Se utilizó hidróxido de sodio 0.1N para titular las muestras de mosto. La acidez total expresa el conjunto de ácidos que contiene el mosto que se ensaya y está expresada como ácido acético.

Viscosidad

Se utilizó un viscosímetro capilar de vidrio Canon Fenske Routine a 25° C en el cual se registró el tiempo de caída del mosto. Según el Glosario de Términos Reológicos para Alimentos (Aguilera y Durán, 1996), la viscosidad cualitativamente representa la resistencia al flujo de un material; cuantitativamente se define como el cociente entre el esfuerzo de cizallamiento y la velocidad de cizallamiento en flujo estacionario.

En este estudio se determina la viscosidad cinemática (mm²s) y dinámica (mPa.s)

Análisis sensorial

El análisis sensorial se realizó con 30 catadores semientrenados, en este caso se evaluó el sabor y la aceptabilidad.

Análisis de mohos y levaduras

El análisis microbiológico de mohos y levaduras se realizó con láminas Petrifilm.

Grado alcohólico

La valoración del alcohol se efectuó por destilación y posterior medida con un alcoholímetro.

Diseño experimental

El presente trabajo responde a un diseño experimental A*B*C.

Factores

- A: Concentración de la enzima en el sustrato.
- B: Ajuste de grados Brix.
- C: Concentración de levaduras.

Niveles

- a0: 12 Kg de malta por 100 Kg de morocho.
- a1: 12 Kg de jora por 100 Kg de morocho.
- a2: 0.05 g de Fungamyl 2500 BG por Kg de morocho.
- b0: 23 °Brix ajustados con panela.
- b1: 23 °Brix ajustados con azúcar.
- c0: 0.50 g por litro de mosto.
- c1: 0.75 g por litro de mosto.

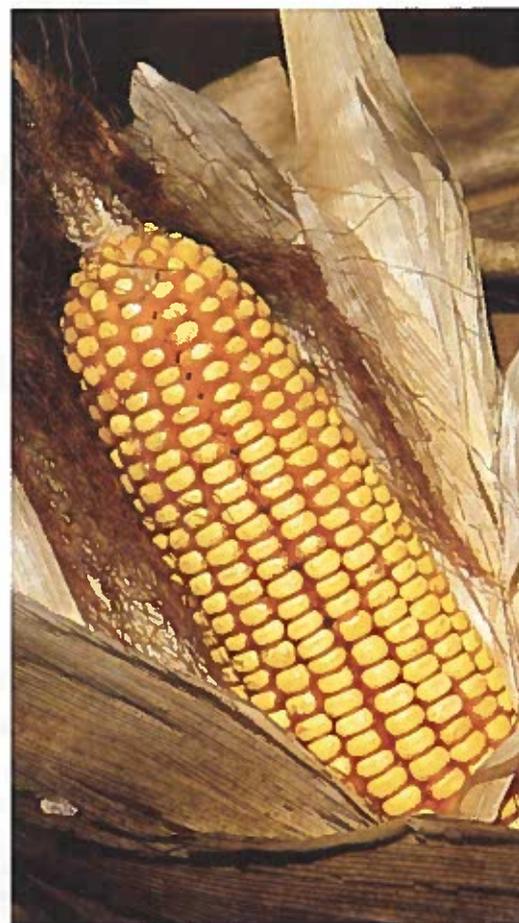
Se trabaja con un total de 12 tratamientos, con una réplica.

Hipótesis

- H0: Cada uno de los tratamientos son iguales entre sí.
- H1: Cada uno de los tratamientos son diferentes entre sí.

Respuestas experimentales

Se determinan: viscosidad, pH, acidez, °Brix y dentro del análisis sensorial el sabor y la aceptabilidad.



RESULTADOS Y DISCUSIÓN

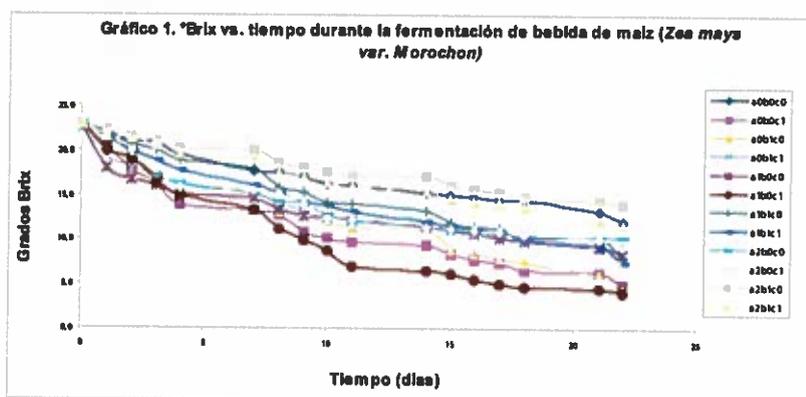
Materia prima

La materia prima utilizada fue maíz (*Zea mays* var. *Morochon*), a la cual se realizó la caracterización física y química. Del análisis proximal se presenta el contenido de proteína con un valor de 9.0% y de carbohidratos 76.1%.

Respuestas experimentales

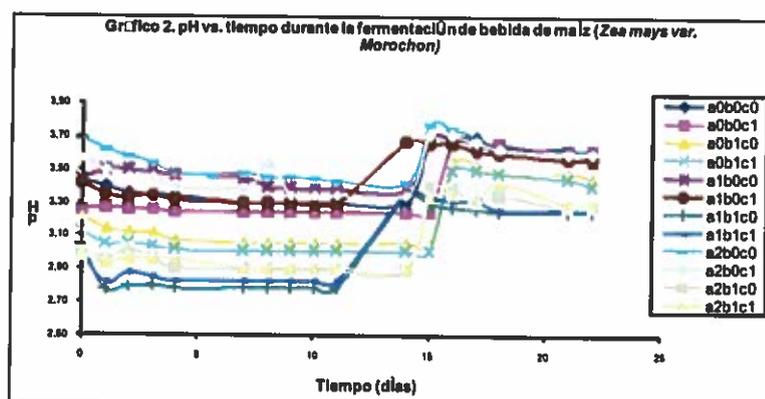
Grados Brix

Los valores de grados Brix durante la fermentación varían de 23,0 a 11,7 en el mejor tratamiento. En el gráfico 1 se aprecia que con el tiempo los °Brix disminuyen.



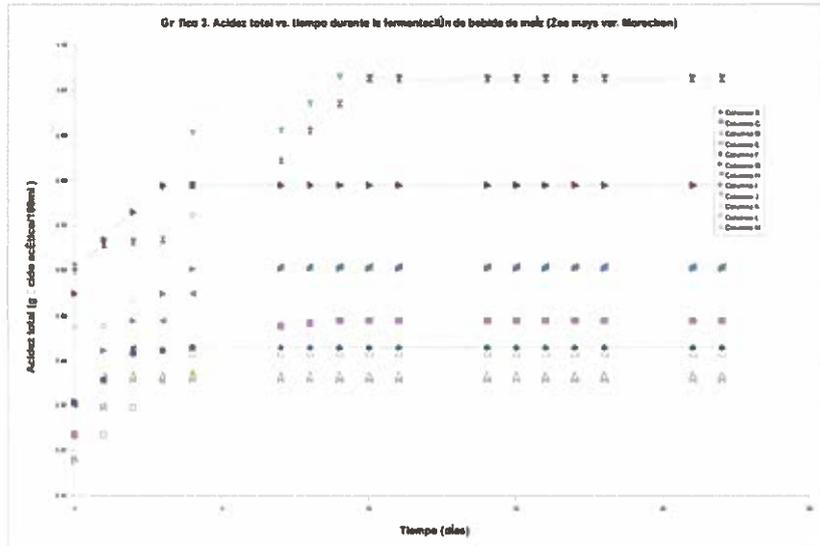
pH

Los valores de pH al final de la fermentación varían entre 2.8 y 3.8 (Gráfico 2)



Acidez total

En el proceso de fermentación los valores de acidez en cada uno de los tratamientos no muestran cambios significativos, los cuales al finalizar el proceso de fermentación presentaron valores diferentes para cada uno de los tratamientos, esto debido a la composición de cada materia prima (Gráfico 3).



Se registraron valores finales de acidez en un intervalo de 0.4% a 1.0%, los mismos que se encuentran expresados como porcentaje de ácido acético, valores que comparados con el de una bebida obtenida a base de cereal como la cerveza que es 0.3%, indican que la bebida obtenida en este estudio es aceptable.

Análisis sensorial

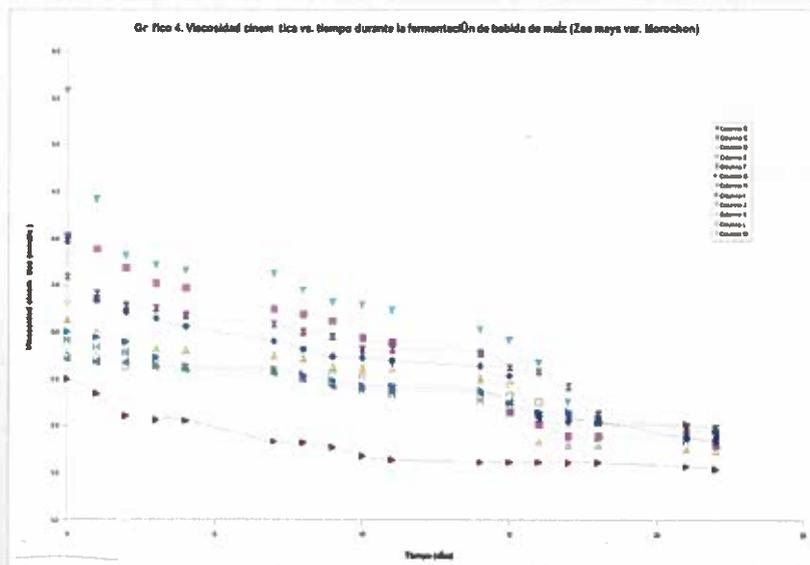
En los resultados de la catación en la interacción ABC que relaciona los tres factores de estudio, se puede observar que el mejor tratamiento es a2b1c0 (0.05g fungamyl/Kg maíz (Zea mays var. Morochon), 23°Brix ajustados con azúcar, 0.50g levadura/l mosto).

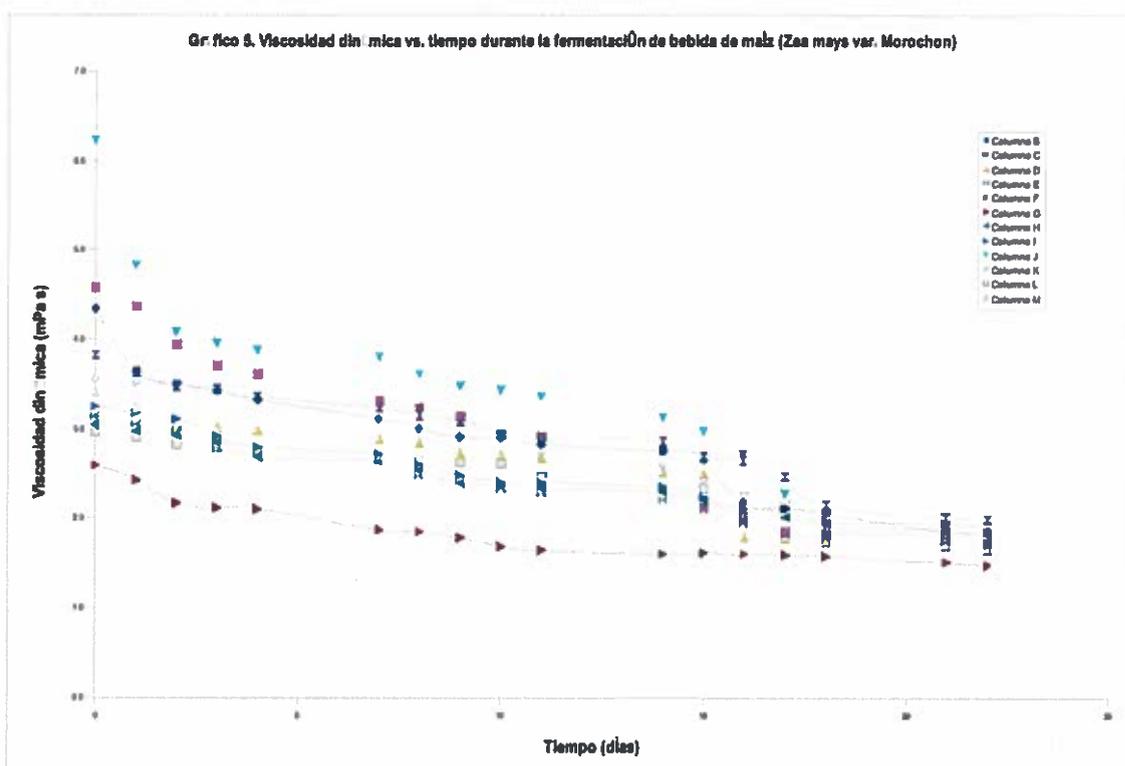
Luego de que se realizó el análisis sensorial, se aplicaron pruebas estadísticas de significancia de Tukey con un nivel de confianza de 0.05, de los resultados obtenidos se concluye que el mejor tratamiento es a2b1c0 (0.05g fungamyl/Kg maíz, 23°Brix ajustados con azúcar, 0.50g levadura/l mosto)

En la muestra del mejor tratamiento seleccionado por el análisis sensorial se realizó: análisis microbiológico, grado alcohólico, análisis cromatográfico y el estudio económico.

Viscosidad

La viscosidad cinemática y dinámica (Gráficos 4 y 5) disminuyen con relación al tiempo, la viscosidad cinemática fue obtenida con el viscosímetro de Cannon.





Análisis microbiológico en el mejor tratamiento a2b1c0 (0.05g fungamyl/Kg maíz, 23°Brix ajustados con azúcar, 0.50g levadura/l mosto)

Del resultado del análisis microbiológico para mohos y levaduras, se desprende que hay ausencia de microorganismos en el mejor tratamiento obtenido por los resultados del análisis sensorial que es a2b1c0 (0.05g fungamyl/Kg maíz, 23°Brix ajustados con azúcar, 0.50g levadura/l mosto), lo cual es un indicativo de que la pasteurización a 65 °C por 20 minutos es un proceso óptimo para inhibir la presencia de hongos, levaduras y otros microorganismos.

Grado alcohólico en el mejor tratamiento a2b1c0 (0.05g fungamyl/Kg maíz, 23°Brix ajustados con azúcar, 0.50g levadura/l mosto)

El valor del grado alcohólico obtenido fue de 10.3°GL, que está dentro del parámetro de acuerdo a la norma INEN 360 para bebidas alcohólicas tipo vino que es de 8 a 18°GL.

Análisis cromatográfico en el mejor tratamiento a2b1c0 (0.05g fungamyl/Kg maíz, 23°Brix ajustados con azúcar, 0.50g levadura/l mosto)

El análisis de alcoholes por el método de Cromatografía de Gases, realizado en el laboratorio de Control de Calidad de LICORESA presenta un valor de 0.005% de metanol; según la norma INEN 347 se establece un valor máximo de metanol en %(V/v) de 0.02; por lo que el valor obtenido está dentro de la Norma.

Análisis económico en el mejor tratamiento a2b1c0 (0.05g fungamyl/Kg maíz, 23°Brix ajustados con azúcar, 0.50g levadura/l mosto)

Se realizó el estudio económico del mejor tratamiento que dio como resultado un valor de precio de venta al público de la botella de 750 ml de U\$ 2.89 dólares, con un gasto de U\$ 2.13 dólares en materiales directos e indirectos. La producción a escala industrial disminuiría significativamente los costos.

CONCLUSIONES

Se evaluó el efecto de las diastasas de malta y jora; y de alfa amilasa (Fungamyl 2500 BG) sobre las cadenas de almidón del maíz, mediante un seguimiento de los cambios de concentración en el tiempo. Por ejemplo, al analizar el comportamiento de las enzimas de malta y jora a una misma concentración (8Kg enzima/100Kg maíz) y a una misma temperatura (50°C) se observó similitud entre resultados, $\ln(k_a) = - 2.382$ y $\ln(k_a) = - 2.310$, es decir que el comportamiento de las enzimas de malta y jora fue similar. Relacionando las enzimas de malta y jora con fungamyl 2500BG a la misma temperatura (50°C) y con la concentración de enzima (0.05 g/Kg maíz) se tuvo como resultado $\ln(k_a) = - 1.887$, por lo que se concluye que al trabajar con fungamyl 2500BG utilizando un 0.06% del peso requerido para malta y jora, se reducen notablemente los tiempos de reacción, de 150 minutos para malta y jora a 75 minutos para fungamyl 2500BG, así como el porcentaje de desdoblamiento de almidones, para malta y jora de un 72% a 90% para fungamyl 2500BG.

Se utilizó la levadura (*Saccharomyces cerevisiae* RM. 78654-AMT) específica para maíz en dos concentraciones que fueron: 0.5 g/l y 0.75 g/l, en base al análisis estadístico de la respuesta experimental °Brix, se concluyó que la mejor concentración es 0.75 g/l.

Los resultados del análisis sensorial permitieron concluir que el mejor tratamiento es a2b1c0 (0.05g fungamyl/Kg maíz, 23°Brix ajustados con azúcar, 0.50g levadura/l mosto)

El análisis microbiológico en el mejor tratamiento dió como resultado la ausencia de mohos y levaduras, lo que significa que el proceso de pasteurización (65°C x 20 minutos) inhibió la presencia de microorganismos

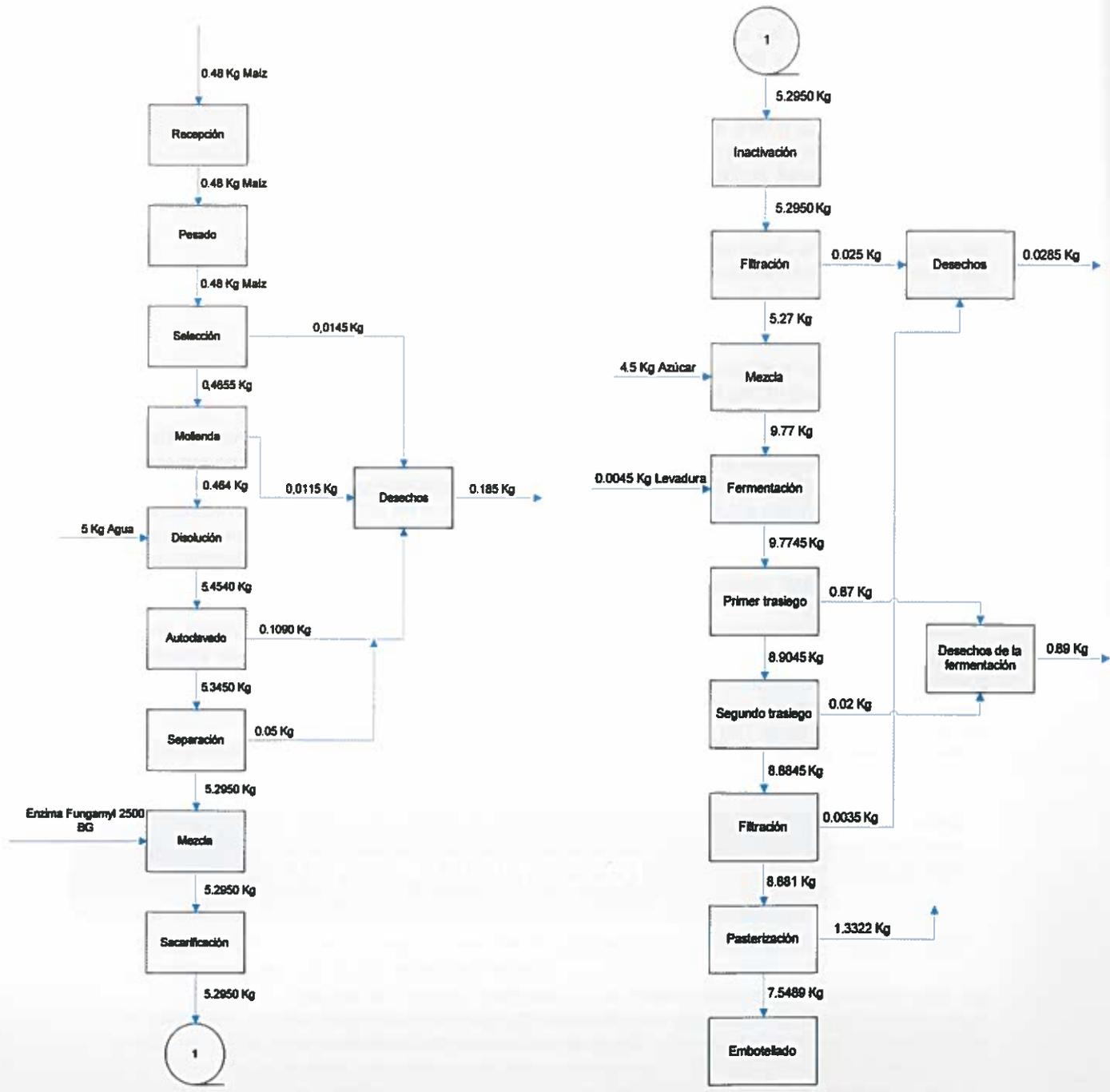
El grado alcohólico en el mejor tratamiento dió 10,3 °GL, valor que se encuentra dentro del parámetro establecido por la norma INEN 360 para bebidas alcohólicas tipo vino

Del estudio económico del mejor tratamiento a2b1c0 (0.05g fungamyl/Kg maíz, 23°Brix ajustados con azúcar, 0.50g levadura/l mosto), en las condiciones del experimento realizado, se establece que el precio de venta al público podría ser de U\$ 2.89/botella de 750 ml.

RECONOCIMIENTO

Se deja constancia del agradecimiento a: Universidad Técnica de Ambato, Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Centro de Investigaciones (CENI), por el apoyo institucional y auspicio económico. A QUIFATEX por las enzimas y al Ing. Tomás Soria por las levaduras proporcionadas para el estudio. A todas las personas que colaboraron y prestaron su contingente para el cumplimiento de los objetivos planteados.

DIAGRAMA 1. BALANCE DE MATERIALES DE LA ELABORACIÓN DE BEBIDA ALCOHÓLICA DE MAÍZ (Zea mays var. Morochon) TRATAMIENTO a2b1c0 (0.05g fungamyl/Kg maíz (Zea mays var. Morochon), 23°Brix ajustados con azúcar, 0.50g levadura/l mosto)



REFERENCIAS

1. CENGEL, Y y CIMBALA, J. 2006. "Mecánica de fluidos, fundamentos y aplicaciones". 1Ra edición. Editorial MCGRAWHILL. México. pp. 46-50
2. [http:// www.ecuarural.gov.ec/ecuagro/paginas/semillas/SS17.htm](http://www.ecuarural.gov.ec/ecuagro/paginas/semillas/SS17.htm)
3. [http:// www.fao.org/DOCREP/003/X7650S/x7650s03.htm](http://www.fao.org/DOCREP/003/X7650S/x7650s03.htm)
4. [http:// www.fao.org/DOCREP/003/X7650S/x7650s07.htm](http://www.fao.org/DOCREP/003/X7650S/x7650s07.htm)
5. Kent, N.L. 1971. "Tecnología de los cereales". s/ed. Editorial Acribia SA. Zaragoza – España. pp. 249.
6. KRETZSCHMAR, Hermann. 1961. "Levaduras y Alcoholes". s/ed. Editorial Reverté SA. España. pp. 160, 161, 319.
7. PARSONS, David. 1999. "Maíz". Cuarta edición. Editorial Trillas. México. pp. 9,11,12,14,16,17 ,18,19,20,21,22 ,23,24.
8. Reventós, P. 1962. "Destilación de alcoholes". Segunda edición. Editorial Sintés. Barcelona – España. pp. 29 – 41, 79.
9. Revista Novo Nordisk. 1995. "Enzimas – campos de aplicación". pp. 5, 26.