

Elaboración de bebida alcohólica de *Inga feuillei* “guaba” suplementado con panela y fermentado con *Saccharomyces cerevisiae*

Development of alcoholic from *Inga feuillei* “guava” supplemented with brown sugar and fermented with *Saccharomyces cerevisiae*

O desenvolvimento de bebida alcoólica de *Inga feuillei* “goiaba” suplementado com açúcar mascavo e fermentado com *Saccharomyces cerevisiae*

Meregildo Silva Ramirez¹, Polito M. Huayama Sopla², Maria I. Izquierdo Pacheco³

Resumen

Se estudió la elaboración de bebida alcohólica fermentada tipo “vino” a partir de pulpa de guaba (*Inga feuillei*) en función de las variables: Concentración de panela, concentración de sulfato de amonio y tiempo de fermentación. La variable respuesta fue el mayor rendimiento de etanol durante la producción de bebida alcohólica de guaba, empleando un cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* variedad *ellipsoideus* MIT L-51, como agente fermentativo. Los valores de las variables evaluadas fueron 50, 100 y 140 g de panela/L; 120, 150 y 180 mg de sulfato de amonio/L y 2, 4 y 6 días de fermentación. Se empleó el diseño experimental de Box-Behnken y se obtuvo una concentración máxima de etanol de 87,09 g/L de medio (13,5 % vol. etanol), cuando los valores de las variables fueron: 100 g de panela/L de medio, 180 mg de sulfato de amonio/L de medio y 2 días de fermentación. A los resultados se les aplicó el análisis de regresión múltiple para determinar los coeficientes de las ecuaciones polinomiales, los máximos y mínimos de cada ecuación y seleccionar la ecuación que tenga el mínimo y el máximo, para con ella obtener líneas de superficie de respuesta para la concentración de etanol (g/L). Los gráficos estadísticos se elaboraron según el software Statgraphics V. 5.1; con el que se predijo una concentración máxima de 13,4949 % vol. de etanol si se trabaja con un medio que contiene 102,078 g panela/L, 180 mg sulfato de amonio/L y se fermenta durante 2 días. Con estos valores óptimos se elaboró bebida alcohólica de guaba, la que fue sometida a evaluación organoléptica y análisis físicoquímicos, de acuerdo a las normas INDECOPI, las pruebas dieron resultados satisfactorios para esta bebida, habiéndose obtenido 13,5 % vol. de etanol.

Palabras clave: fermentación, *Inga feuillei*, panela, sulfato de amonio, vino.

Abstract

We studied the production of fermented alcoholic beverage type "wine" from pulp of guava (*Inga feuillei*) as a function of the variables: Concentration of panela, ammonium sulfate concentration and fermentation time. The response variable was the highest yield of ethanol for the production of alcohol from guava, using a *Saccharomyces cerevisiae* growing variety *ellipsoideus* MIT L - 51, as a leavening agent. The values of the variables evaluated were 50, 100 and 140 g of brown sugar / L, 120, 150 and 180 mg ammonium sulfate / L and 2, 4 and 6 days of fermentation. Experimental design was used Box - Behnken and yielded a maximum ethanol concentration of 87.09 g / L of medium (13.5% vol. Ethanol), when the values of the variables were: 100 g brown sugar / L medium, 180 mg of ammonium sulfate / L of medium 2 days of fermentation. In the results was applied multiple regression analysis to determine the coefficients of polynomial equations, the maximum and minimum of each equation and select the equation that has the minimum and maximum for her obtain response surface lines for ethanol

¹Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Univ. Nac. Torib. Rodríg. de Mendoza, Amazonas, mere_kennedy@hotmail.com

²Facultad de Ingeniería y Biotecnología, Univ. Nac. Torib. Rodríg. de Mendoza, Amazonas.

³Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias, Univ. Nac. Torib. Rodríg. de Mendoza, Amazonas.

Recibido, 14 de octubre de 2015
Aceptado, 30 de noviembre de 2015

concentration (g / L) all these calculations and statistical graphs were made to the software Statgraphics V. 5.1; with that predicted maximum concentration 13.4949% vol. of ethanol by working with a medium containing panela 102.078 g / L, ammonium sulfate 180 mg / L and fermented for 2 days. With these optimal values alcoholic beverage was prepared guava, which was subjected to sensory evaluation and physicochemical analysis, according to the standards INDECOPI tests gave satisfactory results for this drink, having obtained 13.5% vol. of ethanol.

Keywords: wine, brown sugar, ammonium sulfate, fermentation.

Resumo

A preparação de fermentado tipo de bebida alcoólica "vinho" foi estudada a partir de goiaba de polpa (*Inga feuillei*) dependendo das variáveis: Concentração de panela, a concentração de sulfato de amônio e tempo de fermentação. A variável de resposta era o rendimento mais elevado de etanol para a produção de bebidas alcoólica de goiaba, utilizando uma cultura de *Saccharomyces cerevisiae ellipsoideus* variedade MIT L - 51 como agente de fermentação. Os valores das variáveis avaliadas foram 50, 100 e 140 g de açúcar mascavo / L; 120, 150 e 180 mg de amônio / L e sulfato de 2, 4 e 6 dias de fermentação. O delineamento experimental foi empregado Box - Behnken e concentração de etanol máximo de 87,09 g / L médio foi obtido quando os valores das variáveis foram: 100 g de açúcar mascavo / L (etanol 13,5% vol.) média, 180 mg de sulfato de amônio / L de meio e 2 dias sulfato de fermentação. Nos resultados foi aplicada a análise de regressão múltipla para determinar os coeficientes das equações polinomiais, o máximo eo mínimo de cada equação e selecione a equação que tem o mínimo e máximo para ela obter linhas de superfície de resposta para a concentração de etanol (g / L) todos esses cálculos e gráficos estatísticos foram criados no software Statgraphics 5.1 V .; com uma concentração máxima de 13,4949% vol previsto. etanol se trabalhar com um meio contendo 102,078 açúcar mascavo / L g, 180 mg de amônia / L de sulfato e fermentado por 2 dias. Com esses valores ótimos guaba bebida alcoólica foi desenvolvido, que foi submetido a avaliação sensorial e análises físico-químicas, de acordo com as normas INDECOPI, os testes deram resultados satisfatórios para esta bebida, tendo obtido 13,5% vol. etanol.

Palavras-chave: vinho, açúcar mascavo, sulfato de amônio, a fermentação.

Introducción

La guaba (*Inga feuillei*) es una especie nativa de América tropical, distribuida en todos los países de la cuenca amazónica. En el Perú, se cultiva en toda la selva y en Amazonas en las siete provincias, la planta se adapta a todos los tipos de suelos existentes en la amazonia desde los más fértiles, hasta los más ácidos e infértiles. Es un árbol pequeño de 3-8 m. de altura; fuste de 15-40 cm. de DAP, muy ramificado, casi desde la base y corteza externa lisa de color pardo grisáceo. Hojas compuestas, alternas, paripinnadas, con estípulos decíduas y ráquis alado pardo tometoso.

El arilo de la semilla de los frutos maduros es comestible; es pulposo, succulento y dulce. Se consume directamente al estado fresco. Se utiliza también en la preparación de refrescos, y tiene potencial en la producción de alcohol de buena calidad. Tradicionalmente, los frutos de segunda calidad son consumidos por el ganado vacuno, porcino, aviar y en piscicultura; la semilla contiene proteínas en cantidad importante, que le dan potencial como ingrediente en alimentación animal. Los frutos con madurez fisiológica no se desprenden de la planta. La cosecha es del árbol en pie, manualmente se recolectan los frutos bajos y los frutos elevados, trepando al árbol y con ayuda de varas provistas de ganchos de madera especialmente adaptados. El fruto es perecible, de 3-5 días después de la cosecha el fruto se deteriora (FAO. 1987).

Las bebidas alcohólicas se elaboran a partir de líquidos azucarados sometidos a fermentación alcohólica por adición de levaduras que, en condiciones de anaerobiosis, van a metabolizar los azúcares reductores a CO₂ y etanol. Su producción y consumo es una de las actividades más antiguas desarrolladas por el hombre y a lo largo de los años han dado lugar a una gran diversidad de bebidas alcohólicas (Asticiarán y Martínez, 2005).

En la obtención de bebidas alcohólicas, se produce una fermentación que es extremadamente compleja, no solo se modifican los azúcares fermentables (glucosa y fructosa), sino una serie de compuestos presentes en el mosto. Además, de los productos principales de la fermentación que son alcohol y dióxido de carbono, se forman glicerina, ácido succínico, ácidos volátiles, butilenglicol, alcoholes superiores (esencia fusel), acetaldehído, ácido láctico y ésteres. Para llevar a cabo la fermentación, las levaduras segregan enzimas y diastasas; siendo las principales del primer grupo la sucrasa o invertasa y la zimasa; mientras que en el segundo grupo se encuentran las proteasas, las fosfatasas, la oxidasa y la reductasa (Calwana, 1991).

La producción de vino de fruta es similar a la de vino de uva, con la diferencia que siempre se ha de emplear azúcar para hacer un vino acabado con 11 a 13 % de alcohol; estos vinos se estabilizan con facilidad, no existe en ellos el problema de la precipitación del tartrato y pueden ponerse en el mercado con gran seguridad inmediatamente después de producirse.

La temperatura de fermentación, para que la levadura se desarrolle y trabaje en buenas condiciones deberá estar comprendida entre 18 y 22 °C, y no debe exceder los 35 °C, ya que por encima de esta temperatura, además de hacerse perezosas las levaduras, se permite el desarrollo de contaminantes que desfavorecen el producto. Es recomendable que la temperatura del mosto no deba ser superior a 20 °C, para permitir el máximo desarrollo de ésteres en el vino pues debido a que la fermentación es un proceso exotérmico, fácilmente podría incrementarse la temperatura y detener la fermentación (Kolb, 2002).

En la presente investigación se optimizó los valores de las variables: mg de sulfato de amonio, g de panela por litro de jugo de guaba y tiempo de fermentación; empleando el diseño experimental de Box – Behnken, para elaborar una bebida alcohólica a partir de pulpa de guaba fermentado por *Saccharomyces cerevisiae* MIT L-51.

Material y métodos

Las plantas de Guaba (*Inga feuillei*) provienen del Distrito de Chirinos, Provincia de San Ignacio, Región Cajamarca. El cultivo de *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* MIT L-51, para uso en la industria de los vino fue obtenido del laboratorio de microbiología de la Univ. Nac. Torib. Rodríg. de Mendoza, Amazonas(UNTRM-A). La panela procede del caserío de Zubiata Puquio del Distrito de Huambo, Provincia de Rodríguez de Mendoza, Región Amazonas.

Reactivación de la cepa. La cepa de *Saccharomyces cerevisiae* estuvo contenida en bolsas de plástico en forma peletizada, se tomó (0,3-0,5 g/L de mosto), se diluyó en un

vaso de precipitación a 35 °C en agua pasteurizada para activar y obtener biomasa para luego ser incorporada a cada biorreactor para el inicio de la fermentación.

Preparación del medio base. Se clasificó y seleccionó las guabas en base a su característica física (tamaño, forma y color), seguidamente se las lavó y peló manualmente con cuchillo. Se extrajo la pulpa separando de la semilla, se licuo la pulpa con agua hervida fría en una relación de 1 de pulpa y 4 de agua, luego se lo filtró sobre telas de tocuyo, separando el filtrado de los restos sólidos.

La dilución pulpa-agua viene a ser el medio base o mosto, con un pH de 3,44; luego, se realizó el pasteurizado de la dilución a 60 °C por 30 minutos, inmediatamente después se suplementó con panela y sulfato de amonio, según los valores dados en la Tabla 1, de acuerdo a lo necesario para cada experimento indicado en la Tabla 2. Se bajó la temperatura a 35 °C y se procedió a la inoculación de (0,3 – 0,5 g/L de mosto) de *Saccharomyces cerevisiae* MIT L – 51, para el proceso de fermentación de acuerdo al diseño experimental de Box – Behnken (Tabla 2)

Tabla 1. Valor de las variables a evaluar con el diseño estadístico de Box – Behnken.

Concentración	(NH ₄) ₂ SO ₄ (mg/L)A	Panela(g/L)B	Ferment.(días)C
Alta(+)	180	140	6
Media(0)	150	100	4
Baja(-)	120	50	2

Fase prefermentativa

Acondicionamiento de los biorreactores. Los biorreactores se hicieron de botellas descartables de plástico de 1500 mL

Tabla 2. Diseño estadístico de Box – Behnken para evaluar las tres variables independientes.

Experimento	Variables		
	A	B	C
1	0	0	0
2	+	0	-
3	+	-	0
4	-	+	0
5	+	0	+
6	+	+	0
7	0	0	0
8	0	0	0
9	-	0	-
10	-	0	+

11	0	-	-
12	-	-	0
13	0	+	-
14	0	+	+
15	0	-	+

Fase fermentativa: Proceso de producción de etanol. A cada biorreactor se colocó 1000 mL de medio base, se suplementó con panela y sulfato de amonio, de acuerdo a lo establecido en el diseño de Box – Behnken (Tabla 2). Luego se homogenizó y se selló herméticamente el biorreactor, dejando un respiradero de purga para eliminar el CO₂ producto de la reacción

Fase post-fermentativa. Después de cada período fermentativo fueron tomadas muestras de los mostos para determinar la concentración de etanol (g/L). Luego se trasvasó a envases de vidrio para la pasteurización a una temperatura de 65 °C durante 30 minutos para detener la fermentación. Se dejó enfriar y se esperó 7 a 8 días para que sedimente el vino y se clarifique para realizar el trasiego.

Optimización del proceso de fermentación. Existen diversas variables de las cuales depende el proceso de fermentación; para esta investigación se han considerado como las más importantes a las variables concentración de panela, concentración de sulfato de amonio y tiempo de fermentación.

Producción de bebida alcohólica de guaba de mayor rendimiento en etanol. Después de haber optimizado los valores de las variables que influyen en el mayor rendimiento en etanol, durante la producción de la bebida alcohólica de pulpa de guaba.

Controles diarios de: pH, utilizando el pH-metro, Concentración de azúcares reductores mediante el método de Fehling. Brix, realizando la lectura con el refractómetro portátil y la densidad, método del picnómetro.

Análisis físicos y químicos del vino de guaba

Para determinar el grado alcohólico se utilizó la destilación simple y en seguida la destilación fraccionada.

Resultados

De los resultados mostrados en la Tabla 3, los valores de las variables independientes del experimento 2 son lo que permitieron obtener la mayor concentración de etanol en g/L.

Tabla 3. Rendimientos promedio de etanol de cada medio de diferente concentración de componentes, aplicando el diseño estadístico de Box – Behnken.

N° Expe- riment	Variables			Rendimiento	
	Sulfato de amonio (mg/L)	Panela (g/L)	Tiempo(días) C	Etanol(%vol).Y1	Concentración de etanol(g/L) Y2
	A	B			
1	150	100	4	9,3	76,35
2	180	100	2	13,5	87,09
3	180	50	4	8,2	74,31
4	120	140	4	12,1	86,43
5	180	100	6	10,2	83,18
6	180	140	4	12,6	83,50
7	150	100	4	9,3	76,35
8	150	100	4	9,3	76,35
9	120	100	2	6,4	72,43
10	120	100	6	12,1	86,43
11	150	50	2	6,2	67,41
12	120	50	4	3,6	61,87
13	150	140	2	8,7	74,09
14	150	140	6	13,2	86,31
15	150	50	6	4,3	70,35

Discusión

En la elaboración de bebida alcohólica a partir de sauco *Sambucus peruviana* HBK, se suplementó el mosto con 323,5 g de azúcar/L y 175 mg de fosfato de amonio/L de mosto a pH 3,5 habiéndose obtenido una concentración de etanol de 14,17 °G.L y los azúcares reductores disminuyeron de 26 a 9,9 ° Brix (Columna, 1991). En el presente trabajo de investigación se suplementó a la pulpa de guaba diluida, con 100 g de panela/L, que viene a ser prácticamente menos de la mitad de la empleada para el mosto de sauco. En cuanto a la fuente de nitrógeno, empleamos sulfato de amonio

180 mg/L, mientras que para el mosto de sauco 175 mg de fosfato de amonio/L. El pH al que trabajamos fue de 3,44 y los °Brix bajaron de 14 a 6,9, siendo esto muy similar al empleado para el mosto de sauco. Sin embargo, a pesar de haber empleado casi la mitad de azúcares se obtuvo prácticamente casi la misma concentración final de etanol: 13,5 °G.L. Podemos decir que la levadura convirtió más eficientemente los azúcares reductores de la pulpa de guaba y los aportados por la panela, que los azúcares reductores del sauco y del azúcar adicionado.

Conclusiones

Se ha elaborado una bebida alcohólica a partir de pulpa de guaba, con resultados satisfactorios en la evaluación fisicoquímica y organoléptica.

Los valores óptimos de las variables independientes son: Sulfato de amônio (180 mg/L), panela (100 mg/L) y tiempo de fermentación 2 días .

Las condiciones de operación finales para elaborar la bebida alcohólica de pulpa de guaba fueron; pulpa de guaba de pH 3,44, suplementado con sulfato de amonio (180 mg/L) y panela (100 g/L), fermentado por *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* MIT L - 51 durante 2 días a 18 – 25 °C. Este vino alcanzó un contenido de 13,5 % en volumen de etanol.

La bebida alcohólica de guaba, por sus características fisicoquímicas, cumple con la Norma Técnica para vinos de uva, de INDECOPI.

El proceso biotecnológico es adecuado para dar valor agregado a la guaba que se produce en la Región Amazonas.

Referencias bibliográficas

- Asticiarán I. y Martínez A. (2005). *Alimentos Composición y Propiedades* (2da ed.). Madrid, España: Editorial. Mc. Graw Hill Interamericana..
- Bailón, S. (2001). *Influencia del sulfato de amonio, nitrato de potasio y úrea en la producción de proteína unicelular de Candida utilis. Var. major*. Tesis para optar el grado de Maestro en Ciencias. Mención Microbiología Industrial y Biotecnología, Universidad Nacional de Trujillo. Perú.
- Beltrán, C. y Carvajal, L. (1995). *Elaboración de vino a partir de piña (Smooth cayene)*. Tesis Ing. Química. UNT, Trujillo- Perú.
- Bremond E. (1966). *Técnicas modernas de vinificación y de conservación de vinos*. Barcelona, España: Editorial Sintet.
- Calwana, J. N. (1991). *Elaboración de una bebida alcohólica a partir de sauco (Sambocus peruviana HBK)*. Tesis Ingeniería de Industrias Alimentarias UNALM – Lima. 171 pp.
- Daniel, L. E. (1976). *Application of response surface optimization techniques to polyene macrolide fermentation studies in shake flask*. Dev. Ind. Microbiology.

- FAO. (1987). *Especies forestales productoras de frutas y otros alimentos. 3. Ejemplos de America Latina*. Estudio FAO Montes 44/3. Roma. pp. 123-125.
- García G., M. y López - Munguía C. A. (1993). *Bebidas Alcohólicas no Destiladas*, en: *Biotecnología Alimentaria*, Editores M. García, R. Quintero y A. López Murguía; México: Limusa Noriega Editores.
- Kolb, E. (2002). *Vino de Frutas*. 8^{va}. Edición. Zaragoza España: Editorial Acribia S.A.
- Kretschmar, H., (1961). *Levaduras y Alcoholes*. 1^{ra} Edición. Editorial Reverté S.A. Barcelona.
- Mestanza, C. (2004). *Proyecto "Mejoramiento de la calidad e incremento de la producción de la panela en el caserío de Zubiata Puquio del distrito de Huambo"*. Financiado por el Gobierno Regional de Amazonas.
- Prescott, S.C. y Duna, C.G. (1962). *Microbiología Industrial*. (3^o ed.). Madrid, España: Edit. Aguilar S.A.