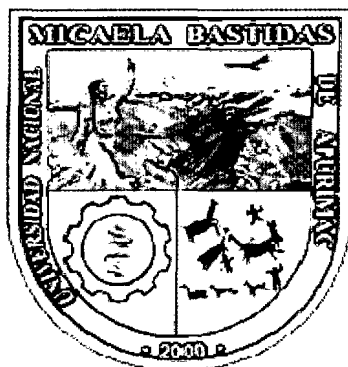


**UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA  
BASTIDAS DE APURIMAC  
FACULTAD DE INGENIERIA**



**ESCUELA ACADEMICO PROFESIONAL DE INGENIERIA  
AGROINDUSTRIAL**

**AISLAMIENTO DE UN CEPA NATIVA  
*Saccharomyces sp* Y DETERMINACION DE  
PARAMETROS EN LA FERMENTACION DE  
LA CHICHA DE JORA.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE INGENIERO  
AGROINDUSTRIAL**

**JORGE PACHECO VARGAS**

Abancay, Diciembre del 2010



UNIVERSIDAD NACIONAL MICAELA BASTIDAS DE APURIMAC	
CÓDIGO	MFN
T IAG P 2010	BIBLIOTECA CENTRAL
FECHA DE INGRESO:	18 OCT. 2012
Nº DE INGRESO:	00285

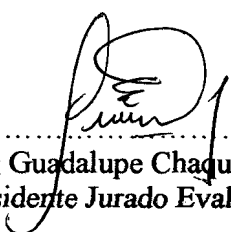


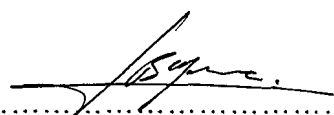
# AISLAMIENTO DE UN CEPA NATIVA *Saccharomyces* *sp* Y DETERMINACION DE PARAMETROS EN LA FERMENTACION DE LA CHICHA DE JORA.


## JORGE PACHECO VARGAS

APROBADO POR:

  
.....  
Asesor  
M.sc Ing. Victor H. Sarmiento Casavilca

  
.....  
M. sc. Ing Guadalupe Chaquilla Quilca.  
Presidente Jurado Evaluador

  
.....  
1<sup>er</sup> Miembro Jurado Evaluador  
Ing. Jorge B. Cáceres Mendoza

  
.....  
2<sup>do</sup> Miembro Jurado Evaluador  
Ing. Ruth M. Ccopa Flores

.....  
Accesitario  
Ing. Didi Flores Cruz

## DEDICATORIA

A mis padres HEBERT y TOMASA por su Amor, Esfuerzo, Apoyo y por ser el primer y mejor ejemplo de excelencia para la vida que Dios me ha dado. A mis hermanos MICHAEL, YANILAS e HIPOLITO, por su cariño y comprensión con los que siempre puedo contar y en especial in memoriam al gran HECTOR, quien se adelantó al lado del todopoderoso, te extraño hermano. A YU, una amiga de verdad a la que nunca olvidaré por ser como fue y es. Al grupo “*Los Doctitos*” y a todos mis amigos y compañeros del código 031 que a través de los cinco años de carrera, ustedes fueron la familia que he tenido en este lugar. Adelante!

**Jorge Pacheco V. (2010)**



## AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por permitirme vivir este momento en el cual se refleja todo el esfuerzo y dedicación que he tenido a lo largo de mi carrera profesional, por acompañarme en todas mis actividades y entregarme la fuerza necesaria para terminar esta importante etapa de mi vida.

Esta tesis ha sido, además del trabajo realizado, una tesis de vida, en la cual he podido hacer balance y reafirmar que lo más importante es la gente que te rodea, que te quiere y a la que quieres. Por eso tengo que agradecer no sólo a aquellas personas que me han podido ayudar más directamente en el trabajo de investigación, sino también a todas las personas (y personitas) que con su existencia, apoyo y amistad me han tenido sobre sus manos y me han elevado en los momentos más difíciles. Aunque resulta imposible dar las gracias a todos citando su nombre, me gustaría mencionar unos pocos.

Estoy muy agradecido en primer lugar y especialmente por su colaboración y asesoría permanente e incondicional del Dr. Ing. Waldir D. Estela Escalante, gracias por su conocimiento, paciencia, compromiso, amistad y apoyo entregado en el desarrollo de esta tesis; así como las ganas de aprender y mejorar que me han transmitido y que tan útiles me han sido y espero que me sigan siendo. Gracias por confiar en mis posibilidades y retarme a esforzarme cada día más. En el camino encontré pocas personas como él, pero no es casual encontrarlas.

Por supuesto, a mi madre y a mi padre, a quienes no he dicho suficientes veces cuánto les quiero y sin los que no sería quien soy. Gracias MAMA, gracias PAPA, por estar siempre “ahí” y vuestro amor, gracias por la confianza puesta en Mí, por su constante



sacrificio forjado en mi camino para seguir adelante y el gran apoyo incondicional realizado para terminar la universidad y este proyecto.

A mi hermano Héctor que en paz descanse, por ser todo lo que fue, “un gran hermano”; a mis hermanos Michael, Yaneth e Hipólito por su cariño, alegría y por sus palabras de aliento. A mi tía Fanny por sus sabios consejos e incondicional apoyo. A mis Abuelitos Hipólito y Celia por todo el amor que me han dado siempre. Y claro, a todo el resto de la familia. Gracias a TODOS.

Al Ing. Victor H. Sarmiento por su apoyo durante la elaboración del informe y a mis jurados evaluadores, Al Ing. Msc. Guadalupe Chaquilla Quilca, Al Ing. Jorge Mendoza Cáceres y al Ing. Ruth M. Ccopa Flores, por sus observaciones que me ayudaron a perfeccionar este proyecto.

A todos los profesores y personal responsable de los laboratorios de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial, por ayudarme en todo lo que he necesitado durante el periodo de desarrollo de esta tesis. Especialmente a la Ing. Marilyn Juro Vargas por estar siempre ahí, proporcionándome todo lo que necesitaba así como por su paciencia durante los análisis fisicoquímicos realizados. A la Blgo. Marilu, Blgo Trifon Oros, Ing Justo Arias, Ing. Zulema I. Ludeña, Ing. Lourdes Salcedo, Ing Rogelio Sillo; por contribuir con las herramientas e instrumentos del laboratorio a su cargo, gracias.



A mis compañeros de laboratorio: LUCIO, ANDERSON, JOSEANTONIO, y JINMER, con quienes formamos un grupo especial de trabajo “Los Doctitos” y de amistad que durará por el resto de nuestros días, nunca los olvidare...

Quiero dar gracias a mis compañeros y amigos de carrera: Humberto, Edith, Alfredo, Henry, Willy y las promociones 2007 y 2008 que me regalaron su amistad y cariño durante el transcurso de esta etapa; agradecer lo hermoso que fue, en especial a mi gran amigo Humber, ya que estos años de Universidad no hubiesen sido los mismos sin su amistad y a NORMA, VERONIKA WILSON Y “El Che” por el hermoso vínculo creado en el desarrollo de nuestra tesis.

Al panel sensorial conformado por: Lissy, Rusbet, Lurdes, Patrichx, Fresnel, Dimber, Felipe, Florchis, Kelly, Frido, “Shaga” gracias a todos por su tiempo y dedicación en el entrenamiento y la cata, sin sus respuestas acertadas no hubiera sido posible darle un buen final al proyecto.

A la dirección de investigación por haber complementado con la financiación para que tenga un buen final este proyecto.

Finalmente, quiero dar las gracias a todas las personas que, de una manera u otra, han contribuido a que este trabajo llegara a buen fin y que me han mostrado su apoyo durante todo el periodo de la investigación.

... Que **DIOS** los bendiga por siempre



## INDICE GENERAL

	<b>Pág.</b>
<b>DEDICATORIA</b>	iv
<b>AGRADECIMIENTO</b>	v
<b>INDICE GENERAL</b>	viii
<b>INDICE DE CUADROS</b>	xii
<b>INDICE DE FIGURAS</b>	xiv
<b>GLOSARIO DE TERMINOS Y ABREVIATURAS</b>	xv
<b>RESUMEN</b>	xvi
<b>ABSTRACT</b>	xvii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
<b>II. MARCO TEÓRICO</b>	3
2.1. Selección e identificación de levaduras	3
2.1.1. Aislamiento de levaduras	3
2.1.1.1. Consideraciones generales	3
2.1.1.2. Periodos de aislamiento de levaduras	4
2.1.1.2.1. Periodo de inducción o fase I	4
2.1.1.2.2. Fermentación tumultuosa o fase II	5
2.1.1.2.3. Fermentación lenta o fase III	5
2.1.2. Identificación de levaduras	6
2.1.2.1. Estudio fisiológico de las levaduras	7
2.1.2.2. Pruebas bioquímicas	7
2.2. Generalidades de la elaboración tradicional y artesanal de la chicha de jora.	8
2.2.1. Características fisicoquímicas de la chicha de jora elaborada artesanalmente	11
2.3. Etimología y definición	12
2.4. Proceso tecnológico para la elaboración de la chicha de jora.	12
2.4.1. Tecnología para la elaboración de la jora o malta de maíz ( <i>Zea mays L.</i> ).	12
2.4.1.1. Consideraciones generales	12
2.4.1.2. Definiciones de malteo	13
2.4.1.3. Materia prima: maíz	13
2.4.1.3.1. Características generales	13
2.4.1.4. Elaboración de la jora o malta de maíz ( <i>Zea mays L.</i> )	16
2.4.1.4.1. Selección del grano	16
2.4.1.4.2. Remojo	16
2.4.1.4.3. Germinado	17
2.4.1.4.3.1. Cambios fisiológicos y bioquímicos durante la germinación	18
2.4.1.4.4. Secado.	19
2.4.2. Tecnología para la elaboración de chicha de jora.	20
2.4.2.1. Materia prima: jora	20
2.4.2.2. Molienda.	21
2.4.2.3. Maceración.	22
2.4.2.4. Filtrado.	26
2.4.2.5. Cocción	27
2.4.2.6. Enfriado	28
2.4.2.7. Fermentación.	28
2.4.2.8. Características organolépticas de la chicha de jora	30
2.4.2.8.1. Color	30



2.4.2.8.2.	Aroma	30
2.4.2.8.3.	Olor	31
2.4.2.8.4.	Sabor	31
2.5.	Bioquímica de la fermentación alcohólica	31
2.5.1.	Definición	31
2.5.2.	Consideraciones generales	32
2.5.3.	Factores que afectan el desarrollo de la fermentación alcohólica	33
2.5.3.1.	Composición del mosto	33
2.5.3.1.1.	Concentración de azúcares	33
2.5.3.1.2.	Contenido en materia nitrogenada	34
2.5.3.1.3.	Factores de crecimiento	35
2.5.3.1.4.	Oxígeno y factores de supervivencia.	35
2.5.3.2.	Microflora asociada al proceso	36
2.5.3.3.	Temperatura e importancia del control durante la fermentación alcohólica	37
2.5.3.4.	pH	38
2.6.	Microorganismos de la fermentación alcohólica.	39
2.5.1.	Características generales de <i>sacharomyces cerevisiae</i>	39
2.7.	Biosíntesis de la fermentación alcohólica	42
2.8.	Productos secundarios de la fermentación alcohólica	42
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y METODOS</b>	<b>44</b>
3.1.	Lugar de desarrollo	44
3.2.	Materia prima	44
3.3.	Cepa utilizada	44
3.4.	Equipos, materiales y reactivos	45
3.4.1.	Equipos	45
3.4.2.	Materiales	45
3.4.3.	Reactivos	46
3.4.4.	Medio de cultivo	46
3.5.	Pruebas que se desarrollo	47
3.5.1.	Aislamiento e identificación de levaduras nativas	47
3.5.1.1.	Aislamiento de levaduras nativas	47
3.5.1.2.	Identificación y estudio fisiológico de cepas de levadura aisladas	48
3.5.1.2.1.	Estudio morfológico de cepas aisladas	48
3.5.1.2.2.	Estudio fisiológico de levaduras.	48
3.5.2.	Mantenimiento de cepas aisladas	49
3.5.3.	Estudio de la tolerancia al etanol, ácido acético y producción de etanol	49
3.5.3.1.	Tolerancia al etanol	50
3.5.3.2.	Tolerancia al ácido acético	51
3.5.3.3.	Estudio de producción de etanol	52
3.5.4.2.3.	Preparación de inóculo	53
3.5.4.2.4.	Fermentación del medio sintético y mosto de jora.	53
3.5.4.2.5.	Métodos de análisis en los ensayos de fermentación del medio sintético y mosto de jora	54
3.5.4.1.7.1.	Determinación de pH	54
3.5.4.1.7.2.	Determinación de acidez total	54



3.5.4.1.7.3.	Determinación de etanol	54
3.5.4.	Tecnología de elaboración de chicha de jora.	54
3.5.4.1.	Obtención de malta de maíz	54
3.5.4.1.1.	Materia prima.	55
3.5.4.1.2.	Limpieza	55
3.5.4.1.3.	Remojo	55
3.5.4.1.4.	Germinado	56
3.5.4.1.5.	Secado.	56
3.5.4.1.6.	Almacenado	57
3.5.4.1.7.	Métodos de análisis en la obtención de jora.	57
3.5.4.1.7.1.	Determinación de humedad	57
3.5.4.1.7.2.	Determinación del poder diastásico	57
3.5.4.2.	Elaboración de chicha de jora utilizando cepas nativas	57
3.5.4.2.1.	Molienda de la jora	57
3.5.4.2.2.	Maceración.	58
3.5.4.2.3.	Filtración	59
3.5.4.2.4.	Cocción.	59
3.5.4.2.5.	Enfriamiento	59
3.5.4.2.6.	Fermentación de la chicha de jora utilizando cepas nativas	59
3.5.4.2.6.1.	Preparación de inóculo.	60
3.5.4.2.6.1.1.	Cepa	60
3.5.4.2.6.1.2.	Preparación de inóculo.	60
3.5.4.2.6.2.	Fermentación en biorreactor	60
3.5.4.2.7.	Clarificado	61
3.5.4.2.8.	Envasado	61
3.5.5.	Evaluación de la calidad de la chicha de jora	61
3.5.5.1.	Evaluación fisicoquímica	62
3.5.5.1.1.	Determinación de pH	62
3.5.5.1.2.	Determinación de acidez total	62
3.5.5.1.3.	Determinación de etanol	62
3.5.5.1.4.	Determinación de densidad	62
3.5.5.2.	Evaluación sensorial	62
3.5.6.	Análisis estadístico.	63
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>65</b>
4.1.	Aislamiento e identificación de levaduras nativas	65
4.1.1.	Estudio morfológico de levaduras	65
4.1.2.	Estudio fisiológico de levaduras	66
4.2.	Estudio de la tolerancia al etanol, ácido acético y producción de etanol	71
4.2.1.	Tolerancia al etanol	71
4.2.2.	Tolerancia al ácido acético	75
4.2.3.	Estudio de producción de etanol.	77
4.2.4.	Selección final y características de la cepa seleccionada.	83
4.4.	Tecnología para la elaboración de chicha de jora	84
4.4.1.	Obtención de malta de maíz (jora).	84
4.4.2.	Elaboración y evaluación fisicoquímica durante la fermentación de la chicha de jora con una cepa nativa <i>saccharomyces sp.</i>	88



4.4.3.	Evaluación sensorial de la chicha de jora elaborada con una cepa nativa <i>saccharomyces sp.</i>	104
4.4.4.	Determinación de parámetros de fermentación estudiados.	110
4.4.4.1.	Sabor ácido	110
4.4.4.2.	Sabor alcohólico.	111
4.4.4.3.	Sabor a levadura	113
4.4.4.4.	Sabor agrio.	113
4.4.4.5.	Sabor a jora.	114
4.4.4.6.	Intensidad de aroma.	115
4.4.4.7.	Intensidad color pardo oscuro.	115
4.4.4.8.	Aceptabilidad General.	116
<b>V.</b>	<b>CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES</b>	<b>117</b>
5.1.	Conclusiones	117
5.2.	Recomendaciones	119
<b>VI.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>120</b>
6.1.	<b>ANEXOS Y APÉNDICES</b>	<b>135</b>



## INDICE DE CUADROS

CUADRO	DESCRIPCION	Pág.
01	Especies microbiológicas aisladas en muestras de Chicha de Jora obtenidas artesanalmente.	10
02	Porcentaje de levaduras aisladas de “chicha de jora” de Apurímac y Lambayeque.	10
03	Producción y valor de maíz amiláceo grano – Apurímac campaña 2002 – 2003	14
04	Composición de las distintas partes del grano de maíz	15
05	Cambios en la composición del Maíz cancha de Huaraz/100g de jora	21
06	Evaluación de la velocidad de filtración de los mostos de jora con diferentes tamaños de partícula.	22
07	Producción de carbohidratos solubles (g/100ml) por $\alpha$ y $\beta$ amilasas durante la maceración.	24
08	Acción de temperatura y pH sobre las amilasas	25
09	Comparación de rendimiento de hidrólisis con ácidos, enzimas comerciales, y enzimas de malta.	26
10	Evaluación físico-química de la influencia del afrecho en la cocción.	27
11	Evaluación físico-química de la cocción del mosto de jora elaborado por métodos cerveceros.	28
12	Evaluación físico-química del proceso de fermentación de la chicha de jora elaborada en una planta piloto	29
13	Clasificación Taxonómica de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	40
14	Temperaturas y tiempos utilizados en el método de maceración por infusión	59
15	Representación esquemática del diseño experimental	64
16	Evaluación de la capacidad fermentativa de azúcares por levaduras aisladas	68
17	Codificación De Cepas Nativas Aisladas	70
18	Producción de CO <sub>2</sub> y formación de film por cepas aisladas en medio con etanol absoluto	72
19	Producción de CO <sub>2</sub> y formación de film por cepas aisladas en medio con ácido acético exógeno	76
20	Características finales del mosto sintético de glucosa fermentadas con cepas nativas.	77
21	Características finales del mosto de jora fermentadas con cepas nativas.	79
22	Variación de humedad durante el remojo de maíz morocho ( <i>zea mays</i> l. var. morochon) a 21°C $\pm$ 1°C	84
23	Variación de características fisicoquímicas durante la fermentación de la chicha de jora a 20°C y 0 L/min de volumen de aireación.	89
24	Variación de características fisicoquímicas durante la fermentación de la chicha de jora a 20°C y 0,8 L/min de volumen de aireación.	92
25	Variación de características fisicoquímicas durante la fermentación de la chicha de jora a 30°C y 0 L/min de volumen de aireación.	94
26	Variación de características fisicoquímicas durante la fermentación de la chicha de jora a 30°C y 0,8 L/min de volumen de aireación.	97



<b>CUADRO</b>	<b>DESCRIPCION</b>	<b>Pág.</b>
27	Promedio de puntuaciones obtenidas del análisis descriptivo cuantitativo en la chicha de jora obtenida con una cepa nativa <i>Saccharomyces sp.</i>	106
28-I	Resumen de la comparación múltiple de Duncan ( $p < 0,05$ ) para los atributos sensoriales evaluados	112
28-II	Resumen de la comparación múltiple de Duncan ( $p < 0,05$ ) para los atributos sensoriales evaluados	112



## INDICE DE FIGURAS

FIGURA	DESCRIPCION	Pág.
01	Frecuencia de especies de <i>Lactobacillus</i> de chicha de jora aisladas de Lambayeque.	11
02	Estructura del grano de maíz.	14
03	Raza Cuzco Cristalino Amarillo.	15
04	Raza Alazán.	15
05	Micrografía electrónica de barrido de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	41
06	Ciclo de la glicolisis o de Embden-Meyerhof-Parnas	43
07	Flujograma de obtención de jora maíz	55
08	Flujograma de elaboración tecnológica de la chicha de jora	58
09	Apariencia de las colonias de levaduras nativas aisladas sobre MSA, pH=5,6	66
10	Vista microscópica de células de cepas nativas aisladas de chicha de jora a 40X.	67
11	Comparacion de parametros fisicoquimicos y % de etanol entre las cepas nativas aisladas en un medio sintetico fermentadas 29°C ± 1°C	79
12	Comparacion de parametros fisicoquimicos y % de etanol entre las cepas nativas aisladas fermentadas en mosto de jora a 29°C ± 1°C.	81
13	Variacion del porcentaje de humedad en el remojo del Maiz morocho ( <i>Zea mays</i> L. var. morochon) a 21°C ± 1°C.	85
14	Variación de pH, Acidez y Etanol en la Fermentación a 20°C y 0 L/min de aireación de Chicha de Jora utilizando una cepa nativa de <i>Saccharomyces sp</i>	90
15	Variación de pH, Acidez y Etanol en la Fermentación a 20°C y 0,8 L/min de aireación de la Chicha de Jora Utilizando cepa nativa de <i>Saccharomyces sp</i>	93
16	Variación de pH, Acidez y Etanol en la Fermentación a 30°C y 0 L/min de aireación de la Chicha de Jora Utilizando cepa nativa de <i>Saccharomyces sp</i>	95
17	Variación de pH, Acidez y Etanol en la Fermentación a 30°C y 0,8 L/min de aireación de la Chicha de Jora Utilizando cepa nativa de <i>Saccharomyces sp</i>	98
18	Variación del pH durante los cuatro tratamientos en la elaboración de chicha de jora utilizando una cepa nativa de <i>Saccharomyces sp</i>	99
19	Variación del acidez durante los cuatro tratamientos en la elaboración de chicha de jora utilizando una cepa nativa de <i>Saccharomyces sp</i>	101
20	Variación del % Etanol durante los cuatro tratamientos en la fermentacion de chicha de jora utilizando una cepa nativa de <i>Saccharomyces sp</i>	102
21	Variación de la densidad durante los cuatro tratamientos en la fermentación de chicha de jora utilizando una cepa nativa de <i>Saccharomyces sp</i>	104
22	Análisis Descriptivo Cuantitativo de cuatro tipos de Chicha de Jora obtenida con <i>Saccharomyces sp</i>	108



## GLOSARIO DE TERMINOS Y ABREVIATURAS

Abreviatura	Significado
pH	Potencial de hidrogeno
rpm	Revoluciones por minuto
°Brix	Grado Brix
FTU	
°P	Grados plato
°C	Grados Celsius
$\alpha$ , $\beta$	Alfa, beta
A.B.M.A.	Association of Brewing master of America
°SRM	por sus siglas en ingles Standard Reference Method ( °EBC= 2.65 x (°SRM) – 1.2)
CO <sub>2</sub>	Anhídrido carbónico
<i>et al.</i>	y colaboradores
h.	Hora
NFA	Nitrógeno Fácilmente Asimilable
v/v/m	Volumen de soluto/volumen de medio/masa
mg/L	Miligramo por litro de volumen
g/L	Gramos por litro de volumen
%v/v	Porcentaje de volumen soluto por volumen total
%p/v	Porcentaje de peso de soluto por volumen total
g, mg, $\mu$ g	gramo, miligramo, microgramo
ml, ml,L	microlitros, mililitros, litros
w	Watts
Ed.	Editorial
LSA	Levadura Seca Activa
$\mu$	Micra
A.O.A.C.	Association of Official Analytical Chemists
etc.	etcétera



## RESUMEN

La presente investigación pretende valorar la elaboración y consumo de las bebidas tradicionales y autóctonas del Perú, por lo que estuvo enmarcada en el objetivo de aislar e identificar una cepa nativa de chicha de jora elaborada tradicionalmente por fermentación espontánea para utilizar como inóculo y evaluar la influencia de la temperatura de fermentación (20°C y 30°C) y el volumen de aireación (0 L/min y 0,8 L/min) en las características sensoriales de la chicha de jora (Sabor ácido, sabor alcohólico, sabor agrio, sabor a levadura, sabor a jora, intensidad de aroma. Intensidad de color pardo oscuro y aceptabilidad general). El aislamiento se realizó utilizando un medio selectivo (solución Raulin); para luego identificar a nivel género a través de pruebas morfológicas y fisiológicas; además se obtuvo una malta a partir de maíz morocho (*Zea mays* L. var. Morocho) y el inóculo se propagó en un agitador orbital (Shaker), con lo cual se realizó la fermentación, controlando características fisicoquímicas durante la fermentación y una evaluación sensorial con 08 jueces semientrenados al producto final. Los resultados obtenidos demostraron que se aisló e identificó una cepa nativa *Saccharomyces sp* que tolera etanol exógeno de hasta 8,5% (v/v), produce etanol hasta concentración de 8.0% (v/v); por otro lado a una temperatura de fermentación de 20°C y 0 L/minutos de volumen de aireación, la chicha de jora elaborada con *Saccharomyces sp*, presenta la mejor aceptabilidad general de acuerdo a los jueces, por poseer buena intensidad de aroma, menor sabor ácido y agrio; mientras que la temperatura de fermentación que mejor sabor alcohólico y mejora la intensidad de color pardo oscuro en la chicha de jora obtenida con *Saccharomyces sp*. es de 20°C y 0,8 L/minutos; sin embargo, se encontró que una temperatura de fermentación de 30°C y con 0,8 L/minutos de volumen de aireación influye en la puntuación alta del sabor ácido y sabor agrio por la acidez formada y que disminuye su aceptabilidad general; no obstante, altas temperaturas de fermentación (30°C) y sin aireación mejoran la puntuación del sabor a jora de la chicha de jora elaborada con cepas nativas de *Saccharomyces sp*.

**Palabras Clave:** Levaduras nativas, Chicha de Jora, sabor, temperatura de fermentación y volumen de aireación. xii



## ABSTRACT

This research aims to assess the production and consumption of traditional beverages and native of Peruvian, which was framed in order to isolate and identify a native strain of traditionally prepared chicha by spontaneous fermentation for use as inoculum and to evaluate the influence fermentation temperature (20°C and 30°C) and volume of ventilation (0 L/minute and 0.8 L/minute) on sensory characteristics of chicha (acid taste, flavor, alcohol, sour taste, flavor yeasty, improves flavor, aroma intensity. dark brown color intensity and overall acceptability). The isolation was performed using a selective medium (Raulin solution), and then identify genus level by morphological and physiological tests, also was obtained from corn malta morocho (*Zea mays* L. var. Morochon) and the inoculum was propagates in an orbital shaker (Shaker), which fermentation was carried out, controlling physical and chemical characteristics during fermentation and sensory evaluation with 08 semi-trained judges to the final product. The results showed that isolated and identified a native strain *Saccharomyces* sp exogenous ethanol-tolerant up to 8.5 % (v/v) ethanol to produce concentration of 8.0% (v/v), on the other side at a temperature of fermentation 20°C and 0 L/min volume aeration, chicha made from *Saccharomyces* sp, offers the best overall acceptability according to the judges, by having good intensity of flavor, the less taste sour and bitter, while the temperature fermentation alcohol taste better and improves the intensity of the dark brown chicha obtained with *Saccharomyces* sp. is 20°C and 0.8 L/min, however, found that a fermentation temperature of 30°C and 0.8 L/minute volume of ventilation influences the high score of acidic and sour taste by the acid formed and decreasing its general acceptability, however, high fermentation temperatures (30°C) and without aeration improves improves flavor score of chicha made with native strains of *Saccharomyces* sp.

**Keywords:** Yeast native Chicha of Jora, flavor, fermentation temperature and aeration volume.



## I. INTRODUCCIÓN

El Perú, un país cuya identidad está basada en la extraordinaria riqueza y variedad biológica y cultural donde aún subsisten, procedimientos tradicionales de fermentación de una variedad de alimentos y bebidas como la “chicha de jora”, cuyo origen se pierde en la historia precolombina y actualmente empieza a tener relevancia, por la tendencia mundial de utilizar nuevos alimentos y bebidas mejoradas científicamente; además de que las milenarias estrategias para la fabricación de bebidas fermentadas y para la preservación de alimentos que se incluyen en la biotecnología clásica, están ajustadas hoy en día a las más recientes técnicas de la producción industrial, debido a que el uso de cultivos iniciadores con propiedades fermentativas, son alternativas importantes para mejorar y controlar la calidad de alimentos y bebidas de origen tradicional como la chicha de jora, así como la cuidadosa selección de cepas nativas de bacterias lácticas y levaduras a partir de fuentes naturales, podrían ser utilizadas para producir “chicha de jora” de óptima calidad con propiedades organolépticas, nutritivas y sanitarias adecuadas.

La “chicha de jora” una de las bebidas milenarias de Perú, se caracteriza por ser ligeramente ácida pH 4.0 – 4.5, de color pardo claro o amarillento y sabor sui géneris, con bajo contenido alcohólico entre 4% a 6%, contiene además azúcares residuales, proteínas entre otros. Ciertamente, los usos de la “chicha de jora” considerada sagrada, han sido de los más variados: para celebrar victorias guerreras, para inspirar los presagios de los adivinos, homenajear a los antepasados, acompañar trabajos comunales, fiestas costumbristas y finalmente porque tuvieron en el consumo de esta bebida, además de su efecto embriagante una fuente de alimentación y un elemento fundamental de cohesión, socialización y hospitalidad.

En este contexto, el objetivo principal de la investigación fue aislar una cepa nativa y determinar parámetros de fermentación de chicha de jora para obtener un producto con características sensoriales adecuadas; evaluando para tal fin la influencia de la temperatura de fermentación (20°C y 30°C) y la velocidad de aireación (0L/minuto y 0,8L/minuto) durante el proceso de fermentación en las características sensoriales de la chicha de jora; así mismo evaluar la aceptabilidad del producto final relacionado a sus características sensoriales.

La metodología consistió en aislar una cepa nativa proveniente de una fermentación espontánea de la chicha de jora y se identificó a nivel género a través de pruebas morfológicas y fisiológicas. Para la elaboración de la chicha de jora se obtuvo malta en un germinador construido para este fin y fue fermentada con la cepa nativa aislada manipulando la temperatura de fermentación y velocidad de aireación en el proceso, controlando durante la fermentación el pH, acidez y el etanol producido. El producto final fue evaluado a través de una prueba descriptiva con un panel semientrenado conformado por 08 jueces las características de sabor ácido, sabor alcohólico, sabor agrio, sabor a jora, sabor a levadura, intensidad de aroma, intensidad de color pardo oscuro y aceptabilidad general; y a los resultados obtenidos se realizó el análisis de varianza y una comparación múltiple de medias de DUNCAN a un nivel de significancia del 0.05% utilizando el programa estadístico STATISTICA 8,0 y el SPSS 15.0.

Por tal razón, la obtención de una chicha de jora con propiedades sensoriales adecuadas utilizando una cepa nativa como inóculo, representa una alternativa para mejorar tecnológicamente y controlar la calidad de la chicha de jora, contribuyendo en la estandarización y creación de normas técnicas que determinen el proceso de elaboración de la chicha de jora a nivel industrial.

## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. SELECCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS

La selección de levaduras nativas requiere del aislamiento e identificación de las levaduras asociadas a procesos fermentativos espontáneos como etapas previas al proceso de selección sustentado en la evaluación de ciertas propiedades tecnológicas indicativas de su potencial capacidad para uso (Pérez *et al.*, 1999).

#### 2.1.1. AISLAMIENTO DE LEVADURAS

##### 2.1.1.1. CONSIDERACIONES GENERALES

Para seleccionar una levadura propia de una zona, el primer paso es conocer la flora autóctona de esta zona. Diversos estudios ecológicos (Schütz y Gafner, 1994; Versavaud *et al.*, 1995; Sabaté *et al.*, 1998; Beltran *et al.*, 2002), confirman que muchas cepas de *Saccharomyces* llevan a cabo las fermentaciones alcohólicas espontáneas, aunque muy pocas son predominantes al final de fermentación. Por lo cual Constantí *et al.*, 1997; Beltran *et al.*, 2002; refieren que para realizar un estudio ecológico, se debe hacer un seguimiento de fermentaciones espontáneas que se realicen en la zona a estudiar, pero no sólo eso, sino que se elijan para este estudio, si es posible, bodegas donde nunca se haya inoculado, porque así se garantiza que las cepas que se aislarán serán cepas autóctonas de estas zonas.

Puesto que la mayoría de las levaduras son mesófilas, los medios selectivos o de enriquecimiento empleados se suelen incubar a temperaturas que oscilan entre los 20°C y los 28 °C. Según establecen Van der Walt y Yarrow 1984; los métodos para el aislamiento de levaduras serían los siguientes:



1. Aislamiento basado en el empleo de medios ácidos (pH 3.5–5.0).
2. Aislamiento basado en el uso de medios con elevada concentración de azúcares.
3. Aislamiento por uso de antibióticos y otros compuestos inhibidores.
4. Aislamiento mediante técnicas de filtración por membrana.
5. Purificación y mantenimiento de cultivos celulares.

#### **2.1.1.2. PERIODOS DE AISLAMIENTO DE LEVADURAS**

Para aislar la flora levaduriforme de un mosto determinado se han de efectuar en tres momentos muy bien definidos del proceso fermentativo (Lagos, 1999):

##### **2.1.1.2.1. PERIODO DE INDUCCIÓN O FASE I**

El primero de los aislamientos, se ha de efectuar en el **Periodo de Inducción o Fase I**, cuando el elevado número de especies presentes en el medio van a desarrollarse de forma activa al tiempo que mediante este desarrollo inician la fermentación y el desprendimiento de anhídrido carbónico no es perceptible. En este momento, las condiciones del medio prácticamente no se modifican para una serie de parámetros tales como el pH y los nutrientes. Sin embargo, y de una forma muy rápida, la concentración de oxígeno en el mosto disminuye a causa del consumo celular. El medio anaerobio inhibe el crecimiento de las especies oxidativas, favoreciéndose por el contrario el de las especies de menor poder fermentativo. Como especie de alto poder fermentativo más representativa que se aísla de forma habitual en esta fase cabe destacar a *Saccharomyces Cerevisiae* (Lagos, 1999).

#### 2.1.1.2.2. FERMENTACIÓN TUMULTUOSA O FASE II

Un segundo análisis del mosto, del contenido levaduriforme, se ha de realizar cuando se encuentra en **Fermentación Tumultuosa o fase II** y el desprendimiento de CO<sub>2</sub> es máximo. En este momento la temperatura del mosto crece de forma considerable, y la velocidad fermentativa es máxima. En esta fase no se suele encontrar un predominio claro entre las especies de alto y bajo poder fermentativo. Sin embargo, ya a este nivel si se origina una importante disminución de la diversidad de especies que permanecen viables en el mosto (Lagos, 1999).

Generalmente, aparecen en este momento especies de poder fermentativo intermedio del tipo *Saccharomyces rosei*, *Saccharomyces uvarum* y *Kluyveromyces veronae*. De idéntica forma que en la primera fase, la especie de alto poder fermentativo predominante es *Saccharomyces cerevisiae*. El desarrollo del proceso fermentativo hace que la concentración de alcohol vaya incrementándose. Este aumento del grado alcohólico origina una disminución de la multiplicación celular y suprime las levaduras poco tolerantes al mismo (Sánchez *et al*, 1985).

#### 2.1.1.2.3. FERMENTACIÓN LENTA O FASE III

Finalmente un tercer aislamiento se ha de realizar en la fase post fermentación tumultuosa que se corresponde con el descenso en la intensidad fermentativa (**Fermentación Lenta o fase III**). La fermentación se hace lenta, y una patente disminución en el desprendimiento de CO<sub>2</sub> nos indica el inicio de esta tercera fase. En este momento, la concentración de etanol suele ser muy elevada, los nutrientes escasos y el pH bastante bajo (Lagos, 1999).

En estas condiciones el número de especies que son capaces de sobrevivir en el mosto-vino es mínimo, no resultando extraño que las especies aisladas en esta fase se reduzcan

a una sola especie predominante, generalmente *Saccharomyces cerevisiae*, quien finalmente es la responsable de terminar la fermentación (Lagos, 1999).

### 2.1.2. IDENTIFICACION DE LEVADURAS

Una vez se tiene una colección de cepas aisladas de la zona y distinguidas las colonias que son *Saccharomyces* de las que no lo son, el siguiente paso, es identificarlas a nivel de cepa. Se entiende por cepa todos aquellos individuos provenientes de un mismo origen, y que por tanto, mantienen unas características uniformes a nivel genético con su antecesor.

Su morfología es uno de los caracteres utilizados en la identificación (Navarre, 1994; De Rosa, 1997). Sin embargo tradicionalmente, los métodos utilizados para la identificación y caracterización de especies y cepas de levadura se han basado en sus características morfológicas, sexuales y bioquímicas (Kreger-Van Rij, 1984; Barnett *et al.*, 1990), pero estas características están muy influenciadas por las condiciones del cultivo y pueden dar resultados poco precisos (Yamamoto *et al.*, 1991). En los últimos años, diversas técnicas de Biología Molecular han sido desarrolladas para la identificación de especies y cepas de levaduras. La aplicación de estas técnicas ha demostrado que hay una amplia diversidad genética entre las cepas vínicas de *S. cerevisiae* (Querol *et al.*, 1992a; Versavaud *et al.*, 1995; Quesada y Cenis, 1995).

La caracterización de levaduras hasta el nivel de especie es de relevancia desde el punto de vista industrial, debido a que muchos grupos forman parte de la microflora natural de alimentos y bebidas fermentadas y/o participan en el proceso de obtención de éstos (Fernández *et al.*, 2000). Las áreas de comparación taxonómica en las cuales se enmarca la taxonomía de levaduras incluyen la Morfología, Fisiología, Genética, Bioquímica, Ecología y Biología Molecular (Boekhout y Kutzman, 1996).

### 2.1.2.1. ESTUDIO FISIOLÓGICO DE LAS LEVADURAS

Las principales pruebas fisiológicas utilizadas en identificación de levaduras son las de fermentación, asimilación de fuentes de carbono, asimilación de compuestos nitrogenados, requerimientos vitamínicos, resistencia a cicloheximida y termotolerancia. Éstas no siempre son estables ni reproducibles, debido a que las fuentes de carbono y nitrógeno pueden metabolizarse por rutas comunes y en ocasiones su metabolismo es controlado por varios genes (Boekhout y Kutzman, 1996; Loureiro y Querol 1999). La prueba de fermentación de azúcares no es muy exacta debido a que las levaduras de fermentación lenta no liberan el CO<sub>2</sub> de forma tan inmediata para que sea atrapado en un tubo Durham, lo cual ha provocado que especies consideradas durante mucho tiempo no fermentativas, hayan tenido que reclasificarse (Boekhout y Kutzman 1996).

De forma convencional, la identificación de levaduras se ha basado en criterios morfológicos o fisiológicos (Barnett *et al*, 1990; Kreger-van, 1984). Sin embargo, estas características pueden variar en función de las condiciones de cultivo (Yamamoto *et al*, 1991), y en ocasiones, las especies están delimitadas por una única característica fisiológica controlada por un solo gen.

### 2.1.2.2. PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Entre las diversas características bioquímicas utilizadas en la clasificación de las levaduras podemos citar (Quesada y Cenis, 1995; Suárez, 1997):

- ✦ El tipo de azúcares que pueden fermentar.
- ✦ El rendimiento en alcohol, las hay que para producir 1 grado de alcohol consumen de 17 a 18 g de azúcar, otras en cambio con menor rendimiento metabolizan de 21g a 22 g.

- ✚ Su poder alcohológico, o grado máximo de alcohol que pueden alcanzar, algunas detienen su actividad a los 5% v/v mientras que otras llegan a 17% v/v o 18% % v/v.
- ✚ Productos secundarios de la fermentación.
- ✚ Resistencia al anhídrido sulfuroso.
- ✚ Capacidad para asimilar diferentes sustancias nitrogenadas.

Los métodos bioquímicos para la diferenciación de levaduras, están basados en el análisis de proteínas totales de la célula (Vacanneyt *et al*, 1991) patrones de isoenzimas (Duarte *et al*, 1999) de Resonancia Magnética Nuclear, el número de unidades de isopreno en la coenzima Q (Boekhout y Kutzman, 1996; Loureiro y Querol, 1999), y análisis de ácidos grasos por cromatografía de gases (Moreira da Silva *et al*, 1994). Estos métodos son más rápidos y más fácilmente estandarizables. Sin embargo, la reproducibilidad de estas técnicas es cuestionable ya que depende del estado fisiológico de las levaduras que puede variar según las condiciones de cultivo (Golden *et al*, 1994, Boekhout y Kutzman, 1996; Loureiro y Querol, 1999).

## **2.2. GENERALIDADES DE LA ELABORACION TRADICIONAL Y ARTESANAL DE LA CHICHA DE JORA.**

En la mayoría de las localidades de la región Apurímac y a nivel nacional, la producción de chicha de jora sigue siendo de manera artesanal, observándose variaciones en el uso de insumos y métodos de elaboración.

Tal es así que, desde la obtención de jora se utilizan procedimientos tradicionales, de tal manera que el remojo se realiza en materiales acondicionados, pozos de piedra rectangulares y arena con una pendiente ligera y con un agujero de desagüe; del mismo

modo, el germinado se desarrolla en las mismas pozas de remojo después de que los granos se hinchen y previo escurrido, se cubren con espato o ichu, hojas de plantas aromáticas como: eucalipto y regados periódicamente hasta un periodo de 5-10 días, dependiendo de la temporada; y finalmente el secado tanto en la sierra como en la costa se realiza por secado natural solar.

Tal como sostiene Muelle, J. 1945; en la sierra sur del Perú se utiliza para la molienda de la jora piedras que tienen 1.20m de largo, denominadas “batan” que producen partículas muy pequeñas, desconociendo la importancia de la granulometría que debe tener la jora molida para la maceración y su posterior cocción; por ello la Association of Brewing Master of America, 1977; señala que cuando se realiza una molienda que produce partículas muy pequeñas, se obtiene durante la cocción una excesiva caramelización de azúcares.

Viñas, 1958; señala que las cantidades para la dilución varían enormemente en la elaboración tradicional, tal es así que la relación agua/jora es de 3:1 a 10:1, a la que añade que el tiempo de cocción dura de 6 o 8 horas a 24 horas.

Así mismo la fermentación en la mayor parte de la región y del país es llevada a cabo por levaduras “salvajes”, a las que Manrique de Sáenz, I. 1978; define como aquellas que intervienen en diversos procesos fermentativos espontáneos de la chicha de jora, a la vez comprende una amplia gama de levaduras a la que, denomina "levaduras nativas". En el cuadro 01 se observa algunas especies microbiológicas aisladas de diferentes muestras de chicha de jora.

### CUADRO 01

#### Especies microbiológicas aisladas en muestras de Chicha de Jora obtenidas artesanalmente.

Especie aislada	Número de muestras
<i>S. cerevisiae</i>	42
<i>S. carlsbergensis</i>	1
<i>S. tropicalis</i>	7
<i>S. exigens</i>	1
<i>B. anomalus</i>	8
<i>S. heterogenus</i>	1
<i>T. famata</i>	5
<i>S. fructicum</i>	5
<i>C. solari</i>	4
<i>S. pasteurianus</i>	6
<i>S. hanseii</i>	12

Fuente: Manrique de Sáenz, I. 1978.

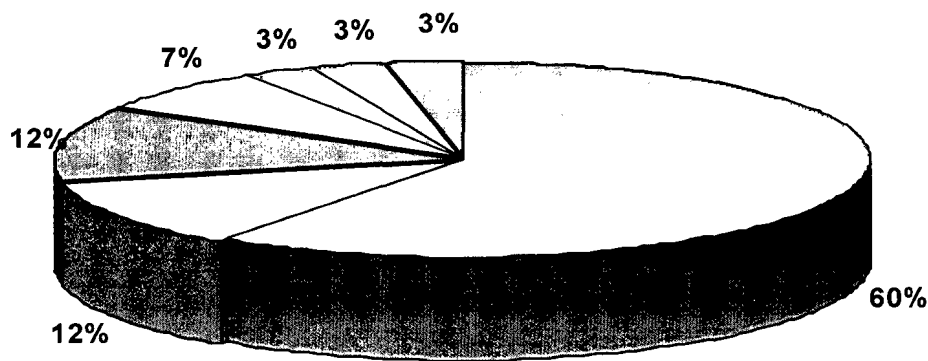
Sin embargo, a través de sus investigaciones Quillama, E. 1993; Quillama *et al.*, 1995 ha logrado comprobar que durante la fermentación de “chicha de jora” procedentes de Chalhuanca (Apurímac) e Illimo y Mórrope (Lambayeque) intervienen levaduras y bacterias lácticas nativas, predominando las especies *Saccharomyces cerevisiae* y *Lactobacillus plantarum*, las mismas que se muestran en la cuadro 02 y figura 01.

### CUADRO 02

#### Porcentaje de levaduras aisladas de “chicha de jora” de Apurímac y Lambayeque.

Nº de cepas	Agente	Porcentaje (%)
40	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Serotipo Iab. Patrón Antigénico 1, 18, 18 <sup>a</sup> , p.	24
51	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> no serotipadas	31
6	<i>Saccharomyces</i> sp	4
20	<i>Hansenula anomala</i>	12
10	<i>Candida glabrata</i> Patrón antigénico 1, 4, 6, 34.	6
16	<i>Candida</i> sp	10
5	<i>Pichia</i> sp	3
5	<i>Kloeckera</i> sp	3
2	<i>Brettanomyces</i> sp.	1
10	Levaduras no identificadas	6

Fuente: Quillama, E. 1993, Quillama *et al.*, 1995



- *Lactobacillus plantarum*
- *Lactobacillus acidophilus*
- *Lactobacillus maltaromicus*
- *Lactobacillus buchneri*
- *Lactobacillus brevis*
- *Lactobacillus fermentum*
- *Lactobacillus delbrueckii*

**Fig. 01:** Frecuencia de especies de *Lactobacillus* de chicha de jora aisladas de Lambayeque. (Quillama, E. 1993, Quillama *et al.*, 1995)

### 2.2.1. CARACTERISTICAS FISCOQUIMICAS DE LA CHICHA DE JORA ELABORADA ARTESANALMENTE

Viñas, E. 1958; encontró en la Chicha de Jora valores de 1,2% a 10,6% de alcohol en volumen; sin embargo Manrique de Sáenz, I. 1978, encontró que los grados alcohólicos en las muestras de Chicha de Jora van desde 0,8% – 13,2% de alcohol en volumen, encontrándose que el 80% del total de valores están por debajo de 5,8% v/v. Con respecto a la acidez, el 80% de los valores hallados se encuentran por debajo de 3,97%. Así mismo, los valores de pH encontrados en las muestras fluctúan entre 3,5 – 5,4; siendo el valor más alto el registrado entre 4,3 – 4,6 (30% del total).

No obstante, para Quillama, E. 1993; la chicha de jora una de las bebidas milenarias de Perú, se caracteriza por ser ligeramente ácida pH 4.0 – 4.5, de color pardo claro o amarillento y sabor sui géneris, con bajo contenido alcohólico 4% a 6%, contiene además azúcares residuales, proteínas entre otros.



### **2.3. ETIMOLOGIA Y DEFINICION:**

Gargurevich, J. 2002; propone que a pesar de ser una bebida de tiempos inmemoriales, su etimología no está en el quechua sino en la lengua de los indios cuna de Panamá: reducción de la frase: “*chichah co-pah*”, en la cual el primer término significa maíz y el resto, bebida.

Simunovic, Y. 1999, define como *bebida “suigeneris”, que no ha completado su fermentación, muy dulce y con bajo contenido de alcohol clasificando como vino especial*; y Zapata S., 2006 define como una bebida artesanal fermentada de maíz y ancestral que se elabora en el Perú, llamado en quechua como «*aqha*» o «*aswa*», en lengua aymara como «*kusa*» y en lengua moche, como «*cutzhio*», «*cochi*» o «*kocho*».

### **2.4. PROCESO TECNOLOGICO PARA LA ELABORACION DE LA CHICHA DE JORA.**

El proceso tecnológico para la elaboración de la chicha de jora se distingue dos etapas bien definidas:

- I. Tecnología para la elaboración de la Jora o malta de Maíz *Zea mays L.*
- II. Tecnología para la elaboración de la chicha de Jora.

#### **2.4.1. TECNOLOGIA PARA LA ELABORACION DE LA JORA O MALTA DE MAÍZ (*Zea mays L.*).**

##### **2.4.1.1. CONSIDERACIONES GENERALES**

El grano seleccionado para maltear debe estar sano, tener alto poder germinativo y estar libre de pajas, granos rotos y hongos. El proceso de malteo trata fundamentalmente de solubilizar el almidón, proteínas, productos de degradación enzimáticos, vitaminas, minerales, componentes responsables del color y del aroma, y enzimas (Broderick,

1977; Briggs *et al.*, 1981). En este sentido para Bellmer, 1975; la calidad de la malta será adecuada si presenta: bajo contenido en proteína, buena modificación, gran poder enzimático, extracto alto y alto contenido en sustancias reductoras.

#### **2.4.1.2. DEFINICIONES DE MALTEO**

Houg *et al.* 1990; menciona que el malteo consiste en germinar el grano en condiciones controladas de tal manera que ocurran formaciones de enzimas y que el material de reserva, principalmente almidón y proteína, sufran cierta degradación por ellas y sirvan así de alimento al embrión en diferentes etapas metabólicas; sin embargo Hosney I., 1991; manifiesta que el objetivo del malteado es producir alta actividad enzimática y el sabor característico, con una mínima pérdida de peso seco; mientras que para Hornsey Ian; 1999; el objetivo del malteado es preparar y transformar las reservas nutritivas del grano a sustratos apropiados para la producción de bebidas alcohólicas fermentadas.

#### **2.4.1.3. MATERIA PRIMA: MAIZ**

##### **2.4.1.3.1. CARACTERISTICAS GENERALES**

El genero *Zea* es el único con valor alimenticio en las especies americanas y esta representada por una sola especie: *Zea mays* Linneo (*Zea*: vivir, *mays*: que contiene sustancia).

En el Perú la mayor producción se da desde el mes de Abril hasta Agosto (INEIA, 1996). En el departamento de Apurímac, en cuanto a maíz amiláceo grano, en la campaña 2002 – 2003 se alcanzo una producción total de 25,932 TM aportando un valor de S/. 20'808,430 y las provincias con mayor área cosechada han sido: Andahuaylas (40.4%), con 10233 Has.; Abancay (18.9%), con un 4792 Has. y Chincheros (17.4%), con un 4414 Has. (Ver cuadro 03).

### CUADRO 03

#### Producción y valor de maíz amiláceo grano – Apurímac campaña 2002 – 2003

	Rendimiento Kg/Ha	Precio S/. X Kg.	Producción		Superficie	
			TM	%	Has	%
Abancay	1141	0,72	5467	21,1	4792	18,9
<b>Andahuaylas</b>	<b>957</b>	<b>1,01</b>	<b>9795</b>	<b>37,8</b>	<b>10233</b>	<b>40,4</b>
Antabamba	1423	0,50	1180	4,6	835	3,3
Aymaraes	901	0,29	2238	8,6	2484	9,8
<b>Chincheros</b>	<b>1017</b>	<b>0,98</b>	<b>4489</b>	<b>17,3</b>	<b>4414</b>	<b>17,4</b>
Cotabambas	963	0,49	1476	5,7	1533	6,05
Grao	1279	0,48	1287	5,0	1047	4,13
<b>TOTAL</b>	<b>1023</b>	<b>0,802</b>	<b>25932</b>	<b>100</b>	<b>25338</b>	<b>100</b>

Fuente: Dirección Sub Región Agraria Andahuaylas (2005)

El grano de maíz (*Zea mays* L.) contiene carbohidratos (70% - 77%), proteínas (7% - 10%) y grasas (3% - 5%), además de minerales, oligoelementos y pigmentos (FAO, 1995). Esta estructura está integrada por distintos tejidos, como puede observarse en la figura 02.

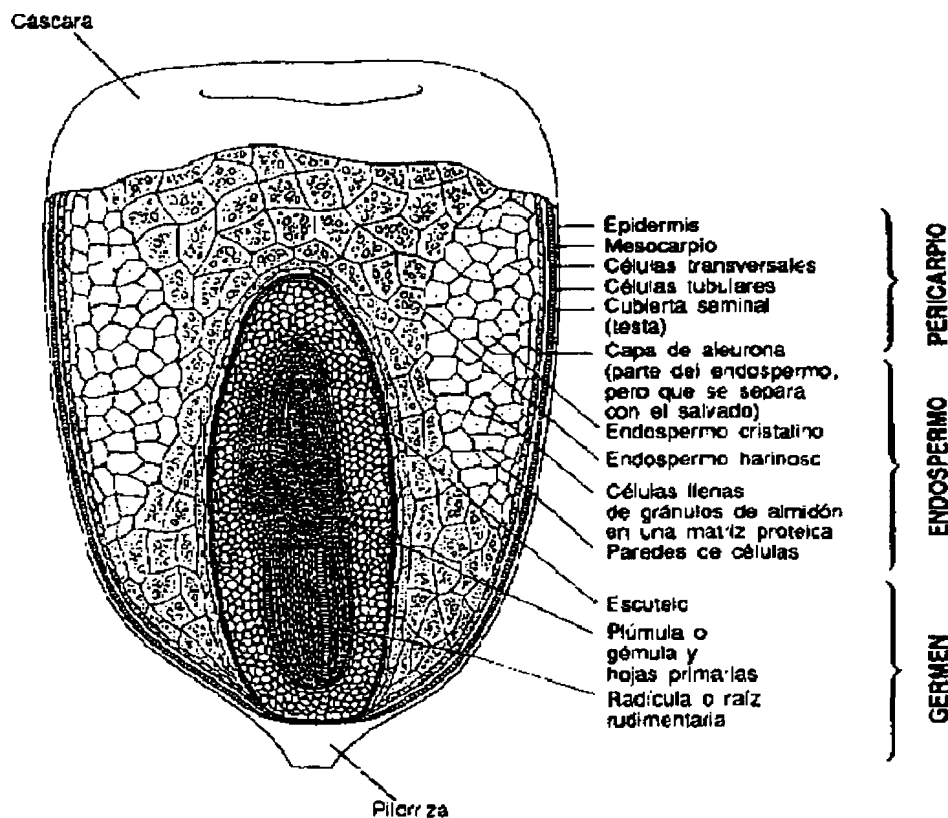


Figura 02: Estructura del grano de maíz (FAO, 1995)

La composición química del grano de maíz (*Zea mays* L.), es variable y está relacionada con: estadio, raza, variedad, tecnología del cultivo y clima, parte del grano que se analice, técnicas y métodos de análisis (Cámara y Arancibia *et al.*, 1996), tal como se muestra en el Cuadro 04.

#### CUADRO 04

##### Composición de las distintas partes del grano de maíz

Composición	Endospermo (%)	Embrión (%)	Pericarpio (%)	Escutelo (%)
Almidón	87,6	8,3	7,3	5,3
Grasas	0,8	33,2	1,0	3,8
Proteínas	8,0	18,4	3,7	9,1
Cenizas	0,3	10,1	0,8	1,6
Azúcares	0,6	10,8	0,3	1,6
Otros componentes	2,7	18,8	86,9	78,6
% materia seca	83,0	11,0	5,2	0,8

Fuente: FAO, 1995

En el Perú, Valdez, 1982; describe cinco formas distintas de consumo de maíz para grano seco, trece formas de consumo de grano tierno y nueve formas de consumo como harinas. En Cusco y Apurímac la raza Cuzco Cristalino Amarillo se usa para producir chicha de jora; es de endospermo amarillo (Fig.03). En la costa norte la chicha de jora se hace preferentemente de Alazán (Fig. 04).

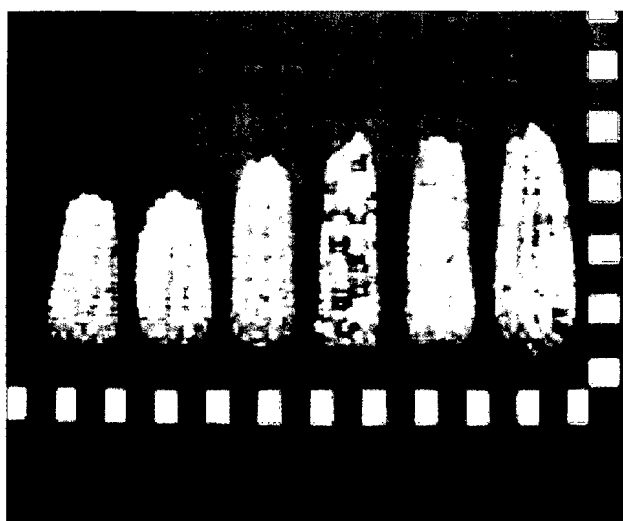


Figura 03. Raza Cuzco Cristalino Amarillo (INIEA, 2006)

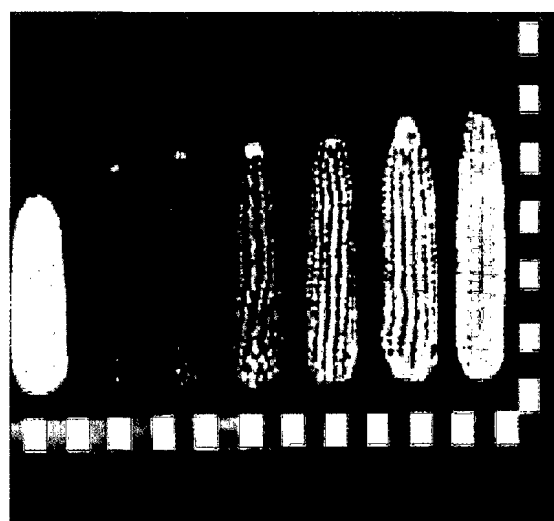


Figura 04. Raza Alazán (INIEA, 2006).

Entre las variedades más utilizadas para la obtención de Jora se encuentran: maíz amarillo común y maíz alazán.

#### **2.4.1.4. ELABORACIÓN DE LA JORA O MALTA DE MAÍZ (*Zea mays* L.)**

El malteado de Maíz (*Zea mays* L.), es una fase previa a la elaboración de la chicha de jora y constituye un proceso ligada a la producción de la misma.

La producción de malta de Maíz (*Zea mays* L.) consta de cuatro etapas: selección de grano, remojo, germinación y secado. Estas operaciones tienen por objetivo principal desencadenar una serie de reacciones enzimáticas (producción de enzimas como las  $\alpha$  y  $\beta$  amilasas,  $\beta$ -glucanasas y proteasas) cuya función primordial es hidrolizar el almidón, proteínas y  $\beta$ -glucanos para que sean transformados en azúcares y otros compuestos sencillos que serán el sustrato de la levadura durante la fermentación.

##### **2.4.1.4.1. SELECCIÓN DEL GRANO**

Se realiza con la finalidad de eliminar las impurezas del maíz, granos deteriorados, granos picados, semillas y cuerpos extraños. En este sentido, el uso de grano del mismo tamaño permite disminuir la variabilidad en el proceso de absorción de agua durante el remojo y la germinación (Yepez Silva, 2001).

##### **2.4.1.4.2. REMOJO**

Esta etapa del malteo, tiene por objeto lograr que el grano recupere el agua pérdida a partir del fin de su maduración en la planta hasta alcanzar contenidos de humedad entre 42% - 46%, con periodos de drenado (Hornsey I., 2003). Para Hough S. J.; 1990; el remojo se realiza con el fin de romper el estado durmiente en el grano y así activar las

enzimas que se encargan de romper el almidón y las proteínas en pequeñas estructuras fácilmente consumibles por las levaduras.

Según resultados encontrados por Velásquez M., 1982; a temperaturas mas altas de remojo, mayor es el grado de ablandamiento del grano de Maíz cancha de Huaraz, es así, que entre 24°C y 27°C fue de 43% - 45% y entre 15°C y 19°C fue de 40% - 42%, lo que se observa en el aumento de volumen y peso que experimenta el grano debido a la dilatación de las moléculas de las proteínas solubles. El mismo autor concluye que la temperatura optima durante el proceso de remojo del Maíz cancha de Huaraz es de 25°C.

En tanto Hornsey I., 2003, manifiesta que si el agua es muy escasa en la fase de remojo, los granos desarrollan un germen o embrión débil (es decir, raicillas largas) y deficiente degradación (y finalmente poco extracto cervecero). Agrega a que el remojo excesivo, produce super degradación y altas pérdidas en el malteado e incluso la muerte del germen. Por otro lado un remojo excesivo puede afectar la respiración del grano y puede afectar la producción de enzimas, reflejando una baja producción de extracto (Bavaria, 1980).

Los granos cuando muestran los primeros signos de germinación, en forma de un pequeño brote, se transfieren entonces a la zona de germinación.

#### **2.4.1.4.3. GERMINADO**

Los granos se colocan en capas de un grosor de unos 20cm - 25 cm (Hornsey, 2003 y Hough S., 1990), en germinadoras colocando sobre ello los granos (Velásquez M. 1982).

Según Mayer 1963, la germinación de maíz requiere de una temperatura mínima de 8°C – 10°C, óptima de 32°C - 35°C y máxima de 40°C - 44°C, lo que concuerda con los resultados obtenidos por Blacklow M. 1972(a), referidos a la velocidad de crecimiento de radícula y el brote.

Estudios de Velásquez, M. 1982, confirman que cuando la temperatura es más alta, el porcentaje de germinación es menor y a mayor tiempo éste se incrementa debido a que cuando más altas son las temperaturas de germinación, la acción catalítica de las enzimas que contiene el grano en germinación va disminuyendo alcanzando por lo tanto menores niveles de germinación, además el porcentaje de peso (%) y de radícula (mm) aumentan conforme transcurre el tiempo de germinación.

La germinación se detiene cuando la plántula alcanza una altura de más o menos 2 cm., aunque esta medida no es exacta y está sujeta a diversas variables: tamaño del grano, características fisicoquímicas del mismo y forma de malteo (Riaggio Luy, 1966).

### **1.3.3.1. CAMBIOS FISIOLÓGICOS Y BIOQUÍMICOS DURANTE LA GERMINACION**

La germinación es caracterizada por el desarrollo del embrión del grano, manifestando por el crecimiento de las raíces y el incremento de longitud del retoño, y por lo tanto la modificación de los contenidos del endospermo registrando de esta manera algunos cambios fisiológicos (Hornsey I., 2003).

Uno de los fenómenos más importantes de la germinación es la producción de la enzima amilolítica o diastasa; es así que para Hornsey I., 2003, con el desarrollo del embrión, se inicia la producción de diastasa que hidroliza y moviliza el almidón del grano a cuyas

expensas se duplica la cantidad de sacarosa y dextrosa y que por acción de la oxidasa se realiza la combustión del azúcar invertido en el proceso respiratorio.

A medida que transcurre el tiempo de germinación, se presenta una disminución del porcentaje de almidones, debido al desdoblamiento de  $\alpha$  y  $\beta$  amilasas; además, la mayor degradación de los almidones de maíz cancha de Huaraz se da germinados a 33°C (Velásquez M., 1982). No obstante Figueroa Cárdenas, 1985, refiere además que durante la germinación, se producen enzimas  $\beta$  - glucanasas encargadas de romper las cadenas de  $\beta$  - glucanos a carbohidratos más sencillos; sin embargo, aún en el mosto puede haber cantidades significativas de  $\beta$  - glucanos causando problemas durante la filtración previa a la fermentación del mosto; y se asocia a problemas de turbidez y el empobrecimiento del extracto cervecero (R. B, Vis, K. Lorenz, 1996). Por lo tanto, como sostienen algunos estudios (Schmitt, L., 2008 y Jones L., 2008); algunas de las enzimas necesarias para convertir las reservas de la semilla en los componentes de la malta están presentes en el grano maduro, mientras que las otras son sintetizadas en el embrión durante la germinación.

#### **2.4.1.4.4. SECADO.**

Según Cook, 1966; los objetivos del secado son: Fijar en el grano aquellas propiedades deseables de la malta verde las cuales se han elevado durante la germinación; Preservar la malta; e Introducir propiedades características como: sabor, olor, aroma y especialmente la friabilidad de la malta.

En efecto, el secado estabiliza la malta verde debido a la desnaturalización de las proteínas y disminuyendo considerablemente la actividad de los enzimas. Durante este proceso de deshidratación controlada, que tiene lugar normalmente a temperaturas bien

especificadas, se desarrolla el color deseado y el aroma de la malta (Briggs *et al.*, 1981). Las  $\alpha$ -amilasas son menos inactivadas durante el secado que las  $\beta$ -amilasas (Runkel D., 1983).

Velásquez M., 1982, afirma que la temperatura de secado influye decididamente e inversamente sobre el poder diastásico de la jora; tal es así que muestras germinadas a 33°C por 24 horas y 36 horas y secadas a 40°C, llegaron hasta 100°linthner - 103°linthner, respectivamente; sin embargo, las semillas germinadas a 25°C por 36 horas y secadas a 40°C, llegaron a 72,5°linthner, y, las germinadas a 28°C con el mismo tiempo y temperatura de secado alcanzaron a 60° Linthner. El mismo autor considera que a temperaturas bajas de secado (25°C – 30°C), se prosigue la segregación de enzimas y se logra una mayor actividad diastásica.

#### **2.4.2. TECNOLOGIA PARA LA ELABORACION DE CHICHA DE JORA.**

La chicha de jora, al igual que la cerveza, es sometida a fermentación pero no a destilación (Hough S., 1990). La chicha de jora no se somete al proceso de pasteurización como se realiza la cerveza madurada por los efectos negativos en las características sensoriales (De Florio E., 1986). Las materias primas que intervienen en el proceso son agua y jora; y comprende una serie de procesos básicamente: molienda, maceración, filtrado, cocción, enfriado, fermentación, envasado.

##### **2.4.2.1. MATERIA PRIMA: JORA**

La materia prima fundamental para la elaboración de chicha, es la “jora” o maíz germinado, responsable de las características físicas y organolépticas de la chicha.

Sánchez Campos, 1966; define con la palabra “Jora”, al producto de la germinación controlada de los granos para limitar el desarrollo del tallito y la radícula.

La malta proporciona sustratos y enzimas apropiados para obtener un extracto soluble o mosto y su composición es fundamental para el éxito de la fermentación y sobre el desarrollo del aroma, color y estabilidad de la bebida (Hough S., 1990).

En la cuadro 05, se muestran los cambios ocurridos en algunos compuestos de Maíz cancha de Huaraz cuando se transforma en “JORA”, mediante germinación controlada.

#### CUADRO 05

##### Cambios en la composición del Maíz cancha de Huaraz (100 g de jora).

Compuesto	Maíz Seco	Jora
Agua (g)	10,6	15,6
Proteína (g)	9,4	6,5
Grasa (g)	4,3	3,6
Carbohidratos (g)	74,4	72,5
Fibra (g)	1,8	0,3
Ceniza (g)	1,3	1,8
Hierro (mg)	2,5	0,4
Vitamina A (mg)	70,0	10,0
Tiamina (mg)	0,43	0,29
Rivoflavina (mg)	0,10	0,32
Niacina (mg)	1,9	5,0
Calcio (mg)	9,0	21,0
Fosforo (mg)	290,0	313,0

**Fuente:** Velásquez M., 1982

#### 2.4.2.2. MOLIENDA.

Tiene por objeto una adecuada hidratación y la liberación de enzimas y otros compuestos celulares (Hough S., 1990). En este sentido la molienda consiste en destruir el grano, respetando la cáscara o envoltura y provocando la pulverización de la harina (Hornsey I., 2003); de tal manera que es necesario que la cascarilla permanezca tan entera como sea posible y que, en cambio el endospermo se muele hasta un tamaño

de partícula que permita la fácil liberación del extracto. Si se desintegra mucho, la cascarilla no puede formar un filtro suficientemente eficaz y permeable durante la recuperación del mosto a partir de la masa (Hough S., 1990). Madrid *et al.*, 2001, sostiene que posteriormente las cáscaras servirán como lecho filtrante para la separación del mosto.

Teniendo en cuenta el método de maceración y la velocidad de filtración, De Florio E., 1986; concluye que la jora se debe moler hasta un tamaño de partícula triturado (78% del producto se encuentra en la malla N° 10 y N° 18) para obtener una separación y velocidad de filtración lenta (tiempo de filtración mayor a 1 hora), como se aprecia en el cuadro 06.

**CUADRO 06**  
**Evaluación de la velocidad de filtración de los mostos de jora con diferentes tamaños de partícula.**

PRODUCTO DE LA MOLIENDA	CARACTERISTICAS DEL PRODUCTO	EVALUACION
MALLA N° 100	Harina (polvorienta)	(*) No se logra separar totalmente el afrecho. La filtración es muy lenta.
MALLA N° 60	Harina (polvorienta)	(*) No se logra una buena separación de afrecho. Velocidad de filtración muy lenta.
MUY TRITURADO	Granos aplastados, partículas grandes, presenta harina.	Se logra una buena separación de afrecho. Velocidad de filtración muy lenta.
TRITURADO	78% del producto se encuentra en la malla N° 10 y N° 18.	Una separación y una velocidad de filtración lenta.

\*se refiere fundamentalmente a que al examinar el cuerpo de mosto obtenido, se detectan partículas de afrecho.

**Fuente:** De Florio E., 1986

#### 2.4.2.3. MACERACION.

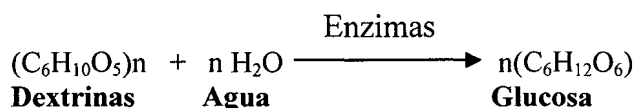
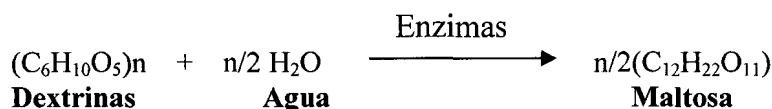
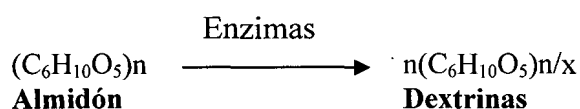
Es la operación más importante en la producción del mosto, su objetivo es solubilizar la mayor cantidad de materias hidrosolubles de la malta (Callejo J., 2002), obtener alto

rendimiento de extracto, de la mayor calidad posible (Canales *et al*, 2003), generando un mosto que contenga todos los ingredientes necesarios para la fermentación (Bamforth, 2005),

Según Canales *et al*, 2003, para la obtención de un grado de extracción óptimo y que afectan este proceso son la temperatura, pH del medio y tiempo de maceración, así como la relación enzima/substrato. Adicionalmente Kolusheva T y Marinova A. 2007, añade la concentración de sustrato; además los valores óptimos de estos parámetros varían en función de la fuente de obtención de la enzima.

Otro aspecto fundamental en la maceración es la relación de agua: jora, es así que a diluciones menores de 4:1, no se puede determinar la duración de la filtración (De Florio, E., 1986). Típicamente un macerado tiene un espesor de tres partes de agua por una parte de malta (Bamforth, 2005), sin embargo en la elaboración tecnológica se utiliza diluciones de 5:1 a 8:1.

El proceso de extracción, consta de dos partes; la sacarificación, a lo largo de la cual se activan los enzimas de la malta y la extracción de los compuestos solubles de la malta (Varman *et al.*, 1997), de todas estas transformaciones, la más importante es el desdoblamiento del almidón en maltosa y dextrina, que tiene lugar de acuerdo con las siguientes reacciones:



Para Hough I., 1990; a medida que las partículas de endospermo se van hidratando los enzimas renuevan su ataque a las reservas nutritivas de la malta, parcialmente degradada y altamente vulnerable. La  $\alpha$  y  $\beta$  amilasas actúan coordinadamente, degradando la amilosa y la amilopectina para liberar azúcares fermentescibles y dextrinas no fermentescibles (Cuadro 07). Todas estas transformaciones ya comenzaron en el malteado y continúan durante el macerado.

**CUADRO 07**

**Producción de carbohidratos solubles (g/100ml) por  $\alpha$  y  $\beta$  amilasas durante la maceración.**

<b>Tiempo (min.)</b>	<b>Azúcares Fermentescibles</b>	<b>Dextrinas no Fermentescibles</b>
0	1,1	3,5
25	4,0	2,8
50	6,9	4,3
100	10,8	3,7
150	11,2	4,0

**Fuente:** Hough I., 1990

Se requieren varias enzimas para conseguir la completa conversión del almidón a glucosa. La  $\alpha$ -amilasa cataliza la hidrólisis al azar los enlaces  $\alpha$ -1,4 glucosídicos de la región central de la cadena de amilosa y amilopeptina, exceptuando las moléculas cercanas a la ramificación, obteniendo como resultando maltosa y oligosacáridos de varios tamaños (Crueger y Crueger, 1993), la  $\beta$  - amilasa también hidroliza enlaces  $\alpha$  1,4, la  $\beta$  amilasa separa unidades de maltosa a partir de los extremos no reductores de esta por hidrólisis alterna de enlaces glucosídicos (Pedroza, 1999). Las  $\beta$  amilasas atacan la amilosa solo desde un extremo a la vez, y, a causa de ello, son mucho menos efectivas que las  $\alpha$  amilasas (Baker, 1994); además, Debido a que está enzima esta imposibilitada para hidrolizar los puntos ramificados  $\alpha$ -1,6 en la molécula de almidón,

los productos finales de la acción sobre el sustrato son maltosas y dextrinas, formándose pocas cantidades de maltotriosa y glucosa (Mariño, 1989); por otro lado la dextrinasa límite, ataca los enlaces  $\alpha$  1,6 de las cadenas laterales de amilopeptina (Bamforth, 2005). El Cuadro 08 muestra la temperatura y pH óptimos de las amilasas.

Las glucoamilasas o  $\alpha$ -1,4-glucohidrolasas son enzimas carbohidrolasas no específicas, de acción externa, rompen enlaces glucosídicos  $\alpha$ -1,3,  $\alpha$ -1,4 y  $\alpha$ -1,6, generando glucosa a partir de los enlaces terminales no reductores de la cadena de almidón, por tanto son enzimas sacarificantes. (Chica, 1996).

### CUADRO 08

#### Acción de temperatura y pH sobre las amilasas

Enzimas	Temperatura °C		pH	
	Optimo	Destrucción	Optimo	Destrucción
$\alpha$ - amilasa	72 - 75	80	5,6 – 5,8	---
$\beta$ - amilasa	62 - 65	70	5	5,7

Fuente: Callejo, 2002

La pululanasa es una enzima desramificante que actúa sobre los enlaces  $\alpha$ -1,6 de la amilopeptina liberando como único producto la maltosa (Byong, 2000). Son utilizadas para mejorar la sacarificación, elevando el rendimiento de la liberación de glucosa (Maarel *et al.*, 2002). Además de la acción amilolítica, se producen también ataques proteolíticos, cuya temperatura optima es de 50°C; si la malta ha sido bien desagregada (Houg I., 1990).

Algunas de las ventajas que presenta la hidrólisis enzimática del almidón son, alta tasa de reacción, alta estabilidad de las enzimas y disminución de la viscosidad del medio de reacción (Kolusheva T y Marinova A. 2007) sin embargo también presentan altos rendimientos (Carioca B., y Arora L., 1984) (Cuadro 09).

## CUADRO 09

**Comparación de rendimiento de hidrólisis con ácidos, enzimas comerciales, y enzimas de malta.**

	<b>Hidrolisis acida (%)</b>	<b>Hidrólisis enzimática (%)</b>	
		Enzimas comerciales	Malta
<b>Rendimiento de hidrólisis<sup>(*)</sup></b>	43-73	95	70-74

(\*) Rendimiento basado en la producción teórica de glucosa (Carioca B., y Arora L., 1984).

Al ser la maceración una etapa donde se mezcla la malta molida con agua; se lleva a cabo con distintos rangos de temperatura y tiempo hasta alcanzar los 76°C para activar las enzimas, que darán como resultado el mosto (Hornsey, I. S., 2003). Éste es una solución compleja de carbohidratos fermentables, aminoácidos y minerales, que sirven de sustrato para el crecimiento de las levaduras y producción de etanol (Varnam, A. H., Sutherland, J. P. 1997).

#### 2.4.2.4. FILTRADO.

El filtrado consiste en separar el líquido que contiene los azúcares disueltos que se encontraban presentes en las cáscaras y materiales sólidos (afrecho, trubs), se realiza en caliente o en frío y está fuertemente ligada al tamaño de la molienda (Varman, A. H. 1997).

El incremento de la relación de agua con respecto a la jora permite una velocidad de filtración rápida (De Florio E., 1986). Además, refiere que la filtración a 78°C y la cocción sin afrecho, dan resultados satisfactorios en la elaboración de mosto de jora por métodos cerveceros, por que se obtiene mejores rendimientos, filtración rápida, protección contra posible contaminación y un ahorro de energía, como se aprecia en el Cuadro 10:

Tal como se realiza en la filtración de mosto de cebada, en dos fases: primero el escurrido del mosto y luego la operación de lavado del extracto que contiene el afrecho (Verstrepen, 2003), es aplicable también al mosto obtenido de la jora.

**CUADRO 10**  
**Evaluación físico-química de la influencia del afrecho en la cocción.**

Análisis	Mosto sin Afrecho		Mosto sin Afrecho	
	Filtrado a 78°C	Filtrado a 20°C	Filtrado a 78°C	Filtrado a 20°C
pH	5,0	5,0	5,0	5,0
Extracto original (°P)	13,0	11,9	13,2	12,9
Azúcares reductores (%)	6,38	6,3	6,4	6,36
Azúcares totales (%)	10,3	9,9	10,47	8,2
Proteínas (%)	0,90	0,93	0,96	0,95
Dextrinas (%)	3,2	3,2	3,25	3,2
Grado de claridad	Muy turbia	Turbia	Turbia	Turbia

**Fuente:** De Florio E., 1986

#### 2.4.2.5. COCCION

Con la cocción del mosto dulce se cubren siete objetivos tecnológicos; evaporación del exceso de agua (concentración), ebullición que permite el ajuste de la densidad y suele durar de 30 a 90 minutos (Callejo, 2002), destrucción de los enzimas de la malta, esterilización del mosto, eliminación de los compuestos volátiles indeseables, formación de los compuestos responsables del aroma, del sabor y del color mediante la reacción de Maillard (Varman *et al.*, 1994), y, coagular y precipitar las proteínas y otros compuestos.

La A.B.M.A., 1977; señala que basta una simple ebullición a un pH de 5,2 por espacio de 15 minutos para esterilizar el mosto.

Para Bamforth, 2005; típicamente la composición aproximada de los azúcares de un mosto después de la cocción, sería 45% maltosa, 15% de maltotriosa, 10% de glucosa, 5% de sacarosa, 2% de fructosa y un 23% de dextrinas,  $\beta$ -glucanos, pentosas, y oligosacáridos (azúcares no fermentables).

### CUADRO 11

**Evaluación físico-química de la cocción del mosto de jora elaborado por métodos cerveceros.**

Análisis	30 minutos	60 minutos	90 minutos	120 minutos
Color (°SRM)	19,4	20,9	22,0	22,0
Proteínas (%)	0,448	0,476	0,443	0,442
Turbidez (FTU)	740	-	-	520
pH	5,0	5,0	-	4,9
Grado de claridad	Turbio	Opalescente	Opalescente	Opalescente

**Fuente:** De Florio E., 1986

#### 2.4.2.6. ENFRIADO

Luego de la ebullición del mosto, los precipitados proteicos son eliminados por sedimentación, filtración o centrifugación; el mosto es enseguida enfriado a la temperatura de inoculación de la levadura, esta temperatura depende del tipo de levadura empleada (Hough I., 1990).

#### 2.4.2.7. FERMENTACION.

De Florio E., 1986, refiere que vigorosamente la fermentación de la chicha de jora utilizando como inóculo 1% de *Saccharomyces carlsbergensis* del volumen del mosto, se da entre las 24 y horas a una temperatura de 9°C, produciendo 5,5% v/v de alcohol; además a las 48 horas, el extracto consumido es de 50% y se detiene la fermentación cuando este solo alcanza 70% a las 72horas; los demás cambios fisicoquímicos de la chicha de jora encontrados por este autor, a través del tiempo se muestran en la Cuadro 12.

## CUADRO 12

### Evaluación físico-química del proceso de fermentación de la chicha de jora elaborada en una planta piloto

Análisis	Tiempo	0 horas (mosto)	24 horas	48 horas	72 horas	96 horas
Color (°SRM)		8,7	8,7	8,7	8,7	8,7
Extracto fermentado (%)		0	31,95	65,38	69,73	69,96
pH		4,48	4,42	4,1	4,0	4,0
Proteínas (%)		0,86	-	-	-	-
Azúcares reductores		8,64	5,25	2,11	1,94	1,9
Acidez (% de Ac. láctico)		2,36	2,44	2,67	2,67	2,7
Alcohol (% en Vol.)		-	4,0	5,5	7,0	7,0
Extracto Real (°P)		15,65	12,6	7,04	6,8	6,8

**Fuente:** De Florio E., 1986

Durante la fermentación, se distinguen dos procesos muy diferentes en el metabolismo de la levadura. El primero es el proceso de crecimiento o multiplicación celular, el cual es caracterizado por un incremento en el número de células. El segundo es el proceso del extracto, es decir, consumo del extracto y formación de alcohol (Klimovitz, 2002).

En la fermentación alcohólica las levaduras degradan algunas moléculas de azúcar por vía respiratoria: el metabolismo sigue la ruta de la glicólisis, pasando el ácido pirúvico formado al ciclo de Krebs con una elevada producción de energía, que permite una rápida multiplicación de las levaduras alcanzando una gran biomasa (Mezas, J. and M. Alegre. 1999). Esta etapa se mantiene hasta agotar el oxígeno disuelto en el mosto. Una vez agotado el oxígeno, las levaduras comienzan a seguir la vía fermentativa. En la ruta fermentativa, el ácido pirúvico formado en la glicólisis se descarboxila a etanal y éste a su vez, se reduce posteriormente, a etanol (Jaccques, K., *et al.*, 1999).

Simultáneamente y de forma asociada a esta degradación de los azúcares se produce la transformación de otros compuestos, fundamentalmente materia nitrogenada y compuestos azufrados, necesarios para el mantenimiento de las estructuras celulares y la multiplicación de las levaduras (Lambrechts y Pretorius, 2000).

El pH disminuye aproximadamente una unidad a partir de un valor inicial de 5,2. Muchos ácidos, especialmente el ácido acético, formado por oxidación del acetaldehído, contribuye a esta caída del pH (Ward, 1991).

#### **2.4.2.8. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DE LA CHICHA DE JORA**

El producto de la fermentación no recibe ningún tratamiento posterior excepto en algunos casos en que se agrega azúcar. Las características organolépticas que se evalúan son el color, olor, grado de claridad y sedimento (Manrique de Sáenz, I. 1978).

En la fermentación natural de la chicha de jora como en la dirigida, las mejores características sensoriales se dan a las 48 horas de fermentación (De Florio E., 1986).

##### **2.4.2.8.1. COLOR**

El color es variado y depende de las materias primas utilizadas en su elaboración; Sin embargo, el color predominante es el pardo claro y varía a través del tiempo de duración de la fermentación, iniciándose con el color pardo oscuro y tornándose a pardo claro (De Florio E. 1986) o amarillento (Quillama, E. 1993).

##### **2.4.2.8.2. AROMA**

Manrique de Sáenz, 1978 lo describe como un aroma "sui generis", esto probablemente por las características particulares de los productos volátiles responsables del aroma de

la chicha de jora. De Florio E., 1986; reporto que el aroma no varia a lo largo del tiempo de fermentación.

#### **2.4.2.8.3. OLOR**

León M., 1979; describe el olor de la chicha de jora como particular agradable.

#### **2.4.2.8.4. SABOR**

El sabor de la chicha de jora es agridulce y agradable (León, M. 1979). Manrique de Sáenz, 1978, lo señala como agradable particular. El sabor es fuertemente influenciado por la fermentación, esta característica se inicia como a maíz dulce pasando por el agridulce y terminando con agrio, poco dulce y ácido (De Florio Ramírez, E. 1986), sui géneris (Quillama, E. 1993).

## **2.5. BIOQUÍMICA DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA**

### **2.1. DEFINICION**

Se define la fermentación alcohólica, como el proceso bioquímico por el cual las levaduras transforman los azúcares del mosto en etanol y CO<sub>2</sub> (Navarre, 1994, Mezas Alegre 1999); además, se produce cierta cantidad de otros compuestos, que en gran medida contribuyen al sabor y aroma final de las bebidas (Navarre, 1994; Suárez, 1997), que puede ser de la utilización de diferentes sustratos ricos en carbohidratos como: caña de azúcar, maíz, arroz y remolacha (Zaldivar, *et al.*, 2005; Karimi, *et al.*, 2006).

## 2.2. CONSIDERACIONES GENERALES

Para que la fermentación alcohólica tenga lugar, el mosto ha de hallarse en condiciones de limitación de oxígeno. En condiciones de aerobiosis las levaduras se multiplican abundantemente con un rendimiento en biomasa muy alto ya que se consigue 1 g de levadura por cada 4 g de azúcares consumidos. En anaerobiosis las levaduras realizan la fermentación, es decir degradan los azúcares de forma incompleta generando etanol, CO<sub>2</sub> y energía. En estas condiciones el rendimiento en biomasa es de tan sólo 1 g de levadura por cada 100 g de azúcares consumidos (Navarre, 1994; Mezas y Alegre 1999).

La producción de etanol se puede realizar por diferentes tipos de fermentaciones como: batch o discontinua, continua y lote alimentado (Doran, 1995; Caylak y Vardar, 1998).

Por tanto, el curso de la fermentación puede ser diferente en función de las características fisiológicas de la levadura, las características físico-químicas del sustrato y las condiciones ambientales en que se desarrolle, que influirán en la producción y funcionalidad de los enzimas presentes (Boulton *et al.*, 1996), microflora asociada al proceso y tecnología empleada (Santamaría *et al.*, 1998).

Además, es un proceso del que son responsables las levaduras provenientes de la flora de la zona, o bien puede ser llevado a cabo mediante la inoculación de “starters” de levaduras seleccionadas (Delteil, 1992). En la actualidad existe una tendencia a realizar fermentaciones controladas, empleando levaduras seleccionadas para mejorar la calidad de las bebidas y evitar, de esta forma, variaciones debidas al crecimiento de microorganismos silvestres no deseables (Delfini y Bardi, 1990; Giudizi y Zambonelli, 1992; Melero, 1992). Para este fin, a pesar de la existencia de levaduras seleccionadas

comerciales, es preferible el empleo de levaduras autóctonas seleccionadas. (Suárez e Iñigo, 1992; Melero, 1992).

### **2.3. FACTORES QUE AFECTAN EL DESARROLLO DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA**

El desarrollo de la fermentación alcohólica, y en consecuencia la calidad de la bebida alcohólica resultante, está condicionada por la calidad del mosto y ésta a su vez por la de la materia prima: variedad, procedencia, estado sanitario, etc. (Longo *et al.*, 1991), por la tecnología aplicada en su elaboración y por la población microbiana responsable de la fermentación (Santamaría *et al.*, 1998). Varios autores (Regodón *et al.*, 1997; Gutiérrez, *et al.* 2001), manifiestan que un mosto desequilibrado no podrá dar lugar a una bebida alcohólica óptimo aunque la tecnología de elaboración sea la más adecuada y las levaduras se desarrollen y adapten correctamente al medio. Del mismo modo otros autores (Suárez Lepe, 1997, Ribéreau- Gayon, 1999; Masneuf, 2003); refieren que partiendo de un mosto excelente puede malograrse el producto final por una incorrecta elaboración o por la falta de adaptación de las levaduras involucradas en el proceso.

#### **2.5.3.1. COMPOSICIÓN DEL MOSTO**

La composición química del mosto influye en el desarrollo de la fermentación alcohólica de distintas maneras:

##### **2.5.3.1.1. CONCENTRACIÓN DE AZUCARES**

La concentración de azúcar va a ser la que determine fundamentalmente la duración de la fase de multiplicación celular, de la fase estacionaria y de la fase de declive. Para que

las fermentaciones se desarrollen en las mejores condiciones, y adquiera el grado alcohólico deseado, es conveniente que los azúcares sean degradados durante las fases de multiplicación y estacionaria, en las cuales la casi totalidad de la población es viable y muy activa, lo que suele ocurrir sin dificultad cuando la concentración de azúcares no sobrepasa los 200 mg/l (Suárez Lepe, 1997). Teóricamente se puede obtener a partir de 1 gramo de glucosa 0,511 g de etanol. Cuando se fermentan sustratos puros el rendimiento es del 95% y se reduce al 91% cuando se utilizan materias primas grado industrial. 100 gramos de glucosa pura producirán 48,4 gramos de etanol, 46,6 gramos de CO<sub>2</sub>, 3,3 gramos de glicerol y 1,2 gramos de biomasa, bajo condiciones ideales (Karimi, *et al*, 2006).

#### **2.5.3.1.2. CONTENIDO EN MATERIA NITROGENADA**

Las levaduras necesitan cierta cantidad de materia nitrogenada para formar sus estructuras celulares y reproducirse. En el mosto hay distintas fuentes de materia nitrogenada, por orden de preferencia están: el nitrógeno amoniacal (NH<sub>3</sub>) y los aminoácidos básicamente. El nitrógeno fácilmente asimilable (NFA), constituye la principal fuente de materia nitrogenada utilizada por las levaduras, especialmente por *S. cerevisiae* que asimila con facilidad (Fleet y Heard, 1993); y las necesidades de NFA se incrementan con el aumento de la concentración de azúcares en el mosto y puede variar significativamente en función de la cepa de levadura (Jiranek *et al.*, 1995; Julien *et al.*, 2001). La deficiencia en NFA puede conducir a la disminución de la velocidad de la fermentación y paradas precoces de la misma, ya que el nitrógeno se utiliza en la biosíntesis de las proteínas que participan en el sistema de transporte de los azúcares (Gagner *et al.*, 2002).

### **2.5.3.1.3. FACTORES DE CRECIMIENTO**

Los factores de crecimiento son sustancias requeridas en pequeñísimas cantidades y que desempeñan el papel de metabolitos esenciales, siendo indispensables para la multiplicación y la actividad celular de los microorganismos. Su carencia dificulta el desarrollo de las últimas generaciones de levaduras y en consecuencia, el acabado de la fermentación (Ribéreau-Gayon, 1999). Destaca la vitamina B1 o tiamina, requerida para muchas de las descarboxilaciones, siendo un factor determinante en el metabolismo de los glúcidos (paso de ácido pirúvico a etanal, formación de butanodiol-2,3) (Hidalgo Togores, 2003).

### **2.5.3.1.4. OXÍGENO Y FACTORES DE SUPERVIVENCIA.**

El oxígeno tiene una gran influencia en la composición de ácidos grasos, debido a que la ausencia de oxígeno como ocurre en condiciones de anaerobiosis, impide la síntesis de ácidos grasos insaturados y esteroides (O'Connor-Cox y Ingledew, 1990). Así, la inhibición de la biosíntesis de estos compuestos, trae como consecuencia, una clara disminución del crecimiento celular, la viabilidad y la actividad fermentativa (Youngs y Rose, 1989).

La influencia del oxígeno en la fermentación alcohólica conducida por levaduras aerobias facultativas, puede ser inhibitoria o estimulante, según las dosis. Así, en *Saccharomyces cerevisiae*, por encima de un determinado umbral de glucosa (estimado entre 0.1-1 g/l, dependiendo de la cepa), incluso en presencia de oxígeno, el metabolismo es fermentativo (Delia-Dupuy y Strehaiano, 1996). Este efecto positivo del oxígeno está ligado a su participación en la biosíntesis de esteroides y ácidos grasos insaturados de cadena larga que sólo se produce en aerobiosis, denominados “factores

de supervivencia”, que se encuentran en las membranas mitocondrial y citoplasmática jugando un papel fundamental en su integridad y permeabilidad.

El ergosterol es el principal esteroide de la membrana plasmática de *S. cerevisiae* y se sabe que la eficiencia fermentativa y la resistencia a etanol están normalmente relacionados con un aumento en la relación ergosterol/fosfolípidos y con una disminución del índice de saturación de los ácidos grasos en células de levadura (Chi, Z. *et al.*, 1999). En el caso de que la proporción de ergosterol sea baja se potencian los efectos tóxicos del etanol dificultándose, entre otros, la captación de glucosa (Jackson, R.S., 1994). Sin embargo, la síntesis de esteroides y de ácidos grasos de cadena larga se encuentra inhibida en ausencia de oxígeno. Por lo que Salmon M. y Ortiz A., 2007; concluye que los esteroides de la membrana plasmática desempeñan una función importante a la hora de conservar la membrana como barrera permeable, especialmente al final de la fermentación alcohólica, cuando las condiciones ambientales se vuelven perjudiciales para la célula.

Es así, que en concentraciones altas de oxígeno disuelto la fermentación de azúcar a etanol es inhibida. Esta situación fue observada por Pasteur en 1867, y se denomina el efecto “Pasteur” (Fiechter, *et al.*, 1981); sin embargo, en medios muy bien oxigenados pero con altas concentraciones de azúcares fermentables se reprime la síntesis y actividad de las enzimas respiratorias y se produce etanol, lo que se denomina efecto “crabtree” (Aycachi R., 2009).

### **2.5.3.2. MICROFLORA ASOCIADA AL PROCESO**

La transformación del mosto en bebidas es el resultado de la fermentación alcohólica conducida por las levaduras y se han llegado a identificar un gran número de especies

con características fisiológicas diferentes, corroborando así su complejidad (Suárez e Iñigo, 1992).

La localización de estas levaduras puede ser diverso: la superficie de las materias primas (Fleet y Heard, 1993), el material de vendimia y transporte de la misma (Quesada *et al.*, 1995a; Lema, 1995), el ambiente de bodega (máquinas, depósitos, utensilios, etc.) (Boulton *et al.*, 1996), y en la actualidad, la inoculación con cultivos comerciales de levaduras secas activas (LSA) (Constantí *et al.*, 1997). La importancia de la aportación en cantidad y diversidad de especies, de cada uno de los orígenes citados, ha sido motivo de controversia entre autores (Versavaud *et al.*, 1995; Van der Westhuizen *et al.*, 2000).

### **2.5.3.3. TEMPERATURA E IMPORTANCIA DEL CONTROL DURANTE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA**

Para Fleet y Heard, 1993; la temperatura a la que se lleva a cabo la fermentación alcohólica afecta: al crecimiento de las levaduras y por tanto, a la duración de la fermentación, a la importancia de unas determinadas especies respecto a otras, y a las reacciones bioquímicas del metabolismo de las levaduras y por tanto, a la composición química del producto obtenido.

En este sentido, la temperatura óptima de crecimiento de las levaduras especialmente de *Saccharomyces cerevisiae* es de 30°C a 35°C. La temperatura afecta el crecimiento de manera notable, principalmente porque los microorganismos de una especie dada solo pueden crecer en un rango restringido de temperaturas, esto afecta de manera importante el crecimiento microbiano (Quintero, 1981); sin embargo, Tuite y Oliver, 1991; refieren que para la producción de etanol la temperatura puede estar en el rango de 30°C – 39°C, sin embargo, cerca de 39°C se presenta pérdida de viabilidad de las

células; ya que la temperatura óptima de crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* es entre 28°C a 30°C. Teóricamente la temperatura óptima para la producción de etanol debe ser de 5°C a 10°C más elevada que la temperatura de crecimiento, esto para incrementar el rendimiento del proceso de fermentación.

La velocidad de fermentación aumenta generalmente con la temperatura entre los 15°C y los 35°C, y los niveles de glicerol, acetona, buteno-2-3-diol, acetaldehído, piruvato y 2- cetoglutarato (Ward, 1991), de los caldos de fermentación también aumenta conforme lo hace la temperatura; además, disminuye la duración de la fase de latencia como también el incremento de la velocidad de consumo de azúcar y nitrógeno (Ribéreau-Gayon *et al.*, 2000).

Por tanto; el principal efecto tanto de las bajas como de las altas temperaturas se produce en la membrana plasmática (Suutari *et al.*, 1990). La temperatura afecta la fluidez de membrana y por tanto, al transporte. Las bajas temperaturas reducen la fluidez y restringen los cambios conformacionales de los transportadores mientras que las altas temperaturas causan los efectos contrarios, es decir, aumentan la fluidez, lo que puede resultar en una excesiva disociación de la estructura de los transportadores comportando un menor control de la permeabilidad de los substratos por parte de la membrana (Bisson, 1999).

#### **2.5.3.4. pH**

El pH es la medida de la concentración de iones hidrógeno y tiene un marcado efecto en la velocidad de crecimiento y el rendimiento, que comprende un rango óptimo de 4.0 a 6.0 para algunas especies de las levaduras; y tiene una gran influencia en los productos finales del metabolismo anaeróbico (Quintero, 1981).

Los valores comprendidos entre 3 y 6 son la mayoría de las veces favorables al crecimiento y actividad fermentativa; esta última es mayor cuanto mayor sea el pH (Santander, 2006); sin embargo, Tuite y Oliver, 1991; mencionan que en los procesos de fermentación los valores de pH deben ser controlados entre 4 y 5 para reducir el riesgo de contaminación bacteriana.

## **2.6. MICROORGANISMOS DE LA FERMENTACION ALCOHOLICA.**

El principal microorganismo utilizado en la fermentación alcohólica es *Saccharomyces cerevisiae*, que aunque es efectivo en la producción de etanol está limitado en cuanto a los sustratos que puede utilizar, al igual que otros microorganismos como: *Mucor indicus*, *Candida shehatae*, *Pichia stipitis*, *Zymomonas mobilis*, *Trichoderma sp*, algunos microorganismos como *Escherichia coli* y *Klebsiella oxytoca* han sido modificados por ingeniería genética para la producción eficiente de etanol a partir de hexosas y pentosas presentes en los polímeros de hemicelulosa (Zaldivar, *et al.*, 2005; Becker y Boles, 2003).

### **2.1. CARACTERISTICAS GENERALES DE *Sacharomyces cerevisiae***

El nombre de *Saccharomyces* significa azúcar de hongos. Producen una fermentación vigorosa y es conocida como la levadura de la cerveza, sirve como fuente de enzimas (invertasa), como extracto de levadura autolisado para sustituir los sabores naturales del extracto de carne, hace fermentar la masa del pan, interviene en la fabricación del vino y como fuente de proteína, vacunas, ácidos grasos y aceites (Ariza y González, 1997). La clasificación taxonómica de la levadura se observa en la cuadro 13.

### CUADRO 13

Clasificación Taxonómica de *Saccharomyces cerevisiae*.

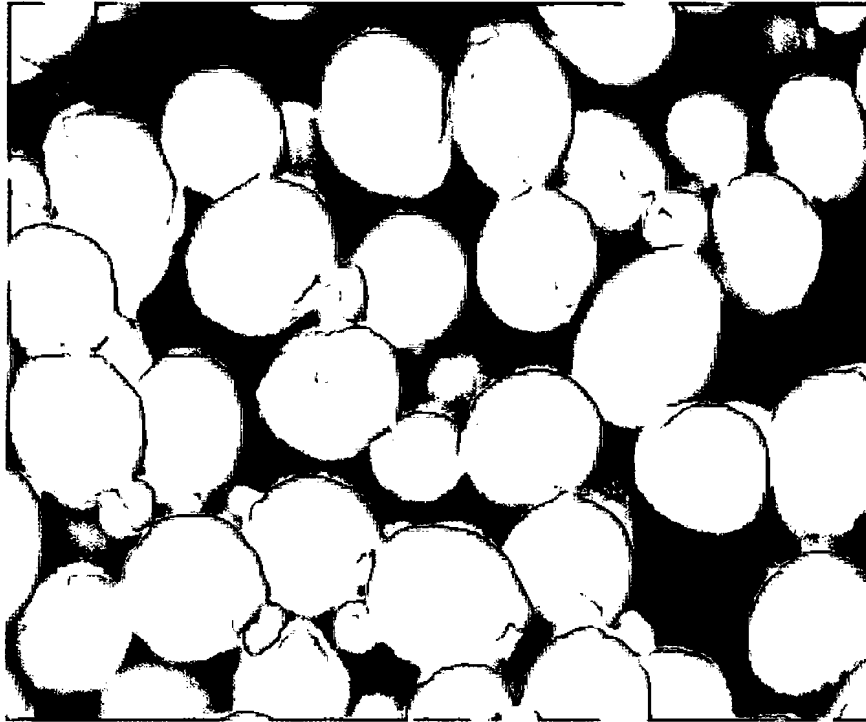
Reino	Fungi
División	Ascomycetes
Clase	Amastogomycota
Subclase	Hemiascomycetidae
Orden	Endomycetales
Familia	Sacchaomycetaceae
Subfamilia	Saccharomycetidae
Género	<i>Saccharomyces</i>
Especie	<i>cerevisiae</i>

Fuente: (Carballo, 2000).

Morfológicamente son esféricas o elipsoidales, con un diámetro aproximado de 8  $\mu\text{m}$ , sus dimensiones son: 2.5  $\mu\text{m}$  – 10  $\mu\text{m}$  de ancho y 4.5  $\mu\text{m}$  – 21  $\mu\text{m}$  de largo, forman ascas típicas en forma de tétrada, son persistentes y usualmente contienen de 1 a 4 ascosporas (Barnett, 1992).

*Saccharomyces cerevisiae* es una levadura cuya colonia en Agar Sabouraud es de color crema o blanco, apariencia húmeda y brillante, de bordes irregulares (White, 1995), puede vivir aislada o formando colonias (Aguilar, 2003). Microscópicamente se observan redondas y ovoides, elipsoides, a veces cilíndricas y filamentosas (Figura 05). Fermenta glucosa, galactosa, sacarosa y maltosa y no fermenta lactosa. Asimila galactosa, sacarosa, maltosa y rafinosa. La aireación óptima es de 0.6 vvm – 0.9 vvm (Ariza y González, 1997). Se reproducen por gemación multipolar mediante la producción de ascosporas (Jay M., 2003). Cuando las condiciones son adversas la mayor parte de las levaduras pueden reproducirse sexualmente generando ascosporas (Mezas y Alegre, 1999); y por su composición en aminoácidos, es un suplemento útil que puede ser empleado con otros concentrados proteicos.





**Figura 05:** Micrografía electrónica de barrido de *Saccharomyces cerevisiae* (Calzada *et al.*, 2000)

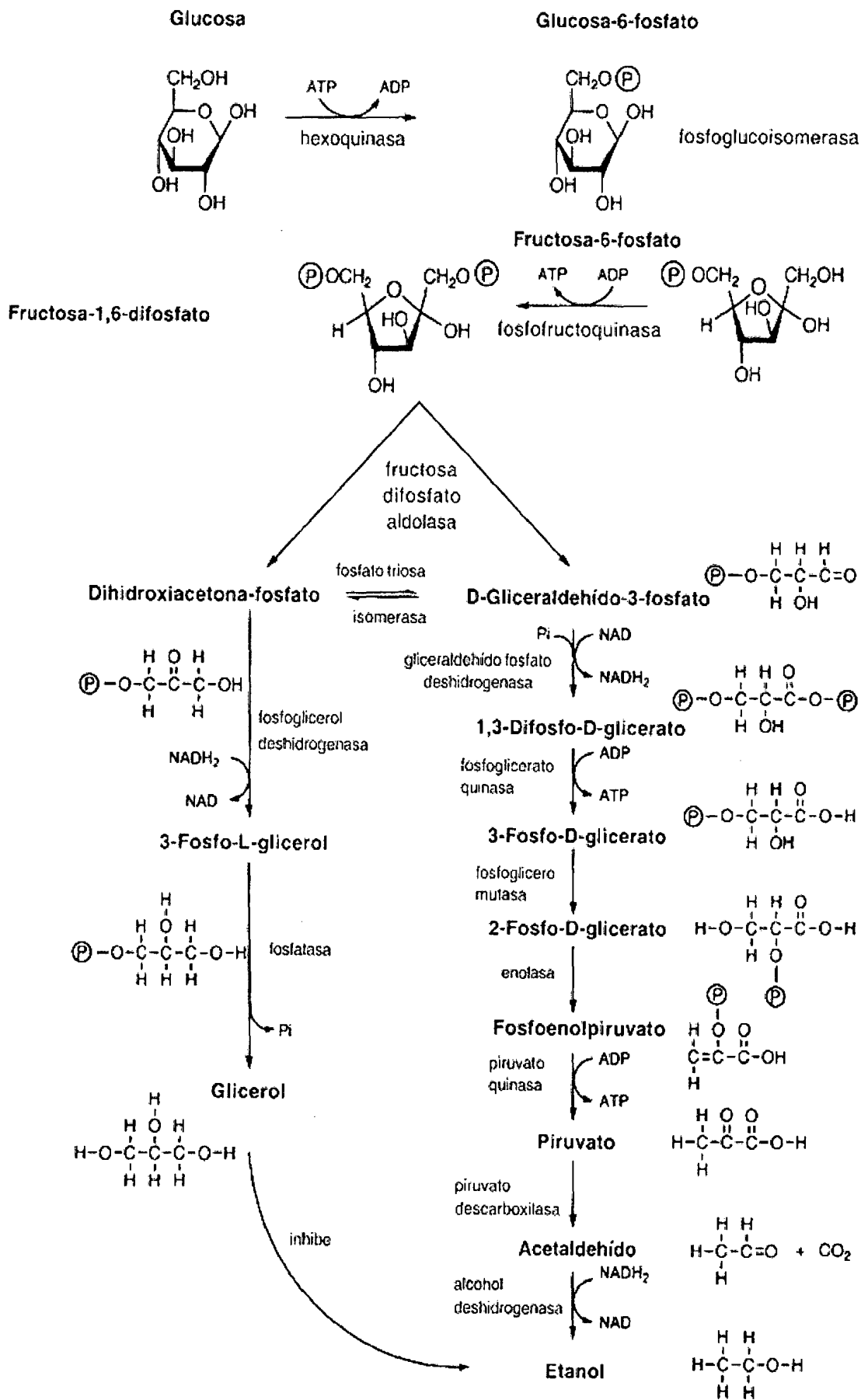
En la industria se utiliza la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, al ser considerada como la mayor productor de etanol a nivel mundial. Además de su capacidad de respiración tanto aerobia como anaeróbica, y la utilización de sustratos como glucosa, fructuosa, galactosa, maltosa, entre otros (Tuite y Oliver, 1991), no es patógeno (Ostergaard *et al.*, 2000). Así mismo, posee un gran potencial para la producción de etanol fermentando la glucosa, soportando altas concentraciones de la misma, logrando altos niveles de producción y rendimiento (Chandrakant y Bisaria, 2000).

## 2.7. BIOSINTESIS DE LA FERMENTACION ALCOHOLICA

Uno de los mecanismos por donde se lleva a cabo la fermentación alcohólica se conoce como glicólisis, vía que se realiza en el citoplasma de las levaduras, generando energía para mantener el crecimiento y el metabolismo de éstas. La glicólisis participan 10 reacciones intermedias en las que el producto final es el ácido pirúvico, posteriormente este es descarboxilado a acetaldehído y finalmente es reducido a etanol (Stryer *et al.*, 2002; Ramírez, 2006). La vía metabólica de la glicolisis se presenta en el figura 06 y *Saccharomyces cerevisiae* convierte la glucosa a etanol a través de la ruta de la glicólisis.

## 2.8. PRODUCTOS SECUNDARIOS DE LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Durante la fermentación alcohólica, en adición a la producción de etanol y CO<sub>2</sub> se genera una serie de compuestos como son: glicerol, acetaldehído, ácido acético, ácido succinico, ácido láctico, ácido propionico, ácido fórmico, alcoholes superiores, ésteres, aldehídos, cetonas, entre otros. Estos compuestos son conocidos como metabolitos secundarios, su presencia influye en las propiedades organolépticas del producto final. (; Peynaud, 1989; Navarre, 1994; Suarez, 1997 Ramírez, 2006).



**Figura 06:** Ciclo de la glicolisis o de Embden-Meyerhof-Parnas (Hornsey I., 2003).

### III. MATERIALES Y METODOS

#### 3.1. LUGAR DE DESARROLLO

El trabajo experimental se desarrolló en el Laboratorio de Biotecnología Agroindustrial y Laboratorio de Química de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac.

La evaluación sensorial se desarrollo en el Laboratorio de Biotecnología Agroindustrial de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial, previamente acondicionado con cabinas personales y condiciones básicas.

#### 3.2. MATERIA PRIMA

Para la obtención de jora, se utilizo el maíz variedad morocho (*Zea mays* L. var. morochon), de la cosecha durante los meses de Mayo - Junio 2009, fue adquirido en la feria dominical y procede de la provincia de Andahuaylas.

#### 3.3. CEPA UTILIZADA

En la investigación se utilizo cepas de levaduras nativas aisladas de una fermentación espontánea de la chicha de jora producida en la Provincia de Andahuaylas, región Apurímac; Luego de ello se considero necesario realizar un estudio de identificación basado en técnicas morfológicas y fisiológicas, considerados como estudios básicos pero no definitorios, razón por lo cual no se ha optado por definir la especie a la que corresponden las levaduras, sin embargo sirvió para confirmar que se trabajo con una cepa especifica. La metodología del aislamiento e identificación de las cepas nativas se detalla en el numeral 3.5.1.1 y 3.5.1.2 respectivamente.

### 3.4. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

#### 3.4.1. EQUIPOS

- Agitador Orbital (Shaker)
- Autoclave
- Balanza analítica, marca: OHAUS, con sensibilidad de 0,0001 g; capacidad máximo de 210 g.
- Balanza electrónica de precisión 0.01g marca CITIZEN CT 602 capacidad máxima 600g
- Biorreactor tamaño estándar de 25L
- Bomba de aire capacidad 0,8L/h.
- Bomba de aire capacidad 68L/h.
- Desecador
- Estufa, marca: Memmert, modelo: 200-800, rango de temperatura 30°C-250°C
- Incubadora
- Microscopio marca Revelatium 3, USA
- Molino de mano marca MIAG
- Potenciómetro digital marca SYNSON 653
- Refrigeradora marca LG
- Termohigrómetro Infrarrojo marca EXTECH INSTRUMENT

#### 3.4.2. MATERIALES

- Asa de Kolle
- Bureta semiautomática
- Fiolas de 250ml, 100ml, 500ml
- Gradilla
- Matraz erlenmeyer de 50ml, 100ml y 250ml
- Mechero Bunsen
- Micropipetas de 10 uL, 100ul
- Picnómetro de 25ml
- Pipetas de 0,5ml, 1ml, 2ml, 5ml y 10ml

- Pizeta, baguetas
- Placas petri
- Probetas volumetricas de 50ml, 100ml
- Refractómetro marca
- Termómetros rango de medición de -10°C a 132°C
- Tubos de Durham
- Tubos de ensayo de 15ml, 20ml
- Gargantas de cisne

### 3.4.3. REACTIVOS

- |   |                                  |
|---|----------------------------------|
| • Acetato de sodio  | • Galactosa                      |
| • Acido acético Glacial                                   | • Glucosa                        |
| • Acido acético puro                                      | • Hidróxido de sodio 0,1N        |
| • Acido nítrico concentrado                               | • Hidróxido de sodio al 10%      |
| • Acido sulfúrico 96% p.a.                                | • Lactosa                        |
| • Acido sulfúrico al 10%                                  | • Maltosa.                       |
| • Almidón   | • Peptona                        |
| • Amoniaco diluido  | • Potasio sodio tartrato hidrato |
| • Azul de metileno  | • Sacarosa                       |
| • Bifluoruro de amonio                                    | • Sodio Hidróxido lentejas       |
| • Cloruro de sodio 0.5%                                   | • Solución de almidón            |
| • Cloruro de sodio (NaCl)                                 | • Solución Felhing A y B         |
| • Cobre II sulfato 5-hidrato                              | • Tiosulfato de sódico 0.1N      |
| • Etanol Absoluto   | • Tungstato sódico al 15%        |
| • Fosfato disódico (Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )    | • Yoduro de potasio al 15%       |
| • Fosfato monopotásico (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> ) |                                  |

### 3.4.4. MEDIO DE CULTIVO

- Agar Maltosa Saboraud (SMA)
- Extracto de Levadura
- Melaza de caña
- Peptona

### **3.5. PRUEBAS QUE SE DESARROLLO**

#### **3.5.1. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS NATIVAS**

Para realizar el aislamiento de levaduras, se tomó chicha de jora procedente de la chichería “La Estancia”, ubicada en la Provincia de Andahuaylas, Región Apurímac – Perú. La muestra que se recolectó fue tomada de nichos naturales y procede de prácticas artesanales de elaboración de chicha de jora, las mismas que se guardaron en botellas de vidrio estériles y herméticamente cerradas, transportándolas inmediatamente al laboratorio.

##### **3.5.1.1. AISLAMIENTO DE LEVADURAS NATIVAS**

Basado en la metodología utilizada por Estela W., 2004; se tomó 5 ml de chicha de jora y se llevó a un tubo de ensayo, al cual se adiciono 10ml de solución RAULIN (Peptona 0.50 g; NaCl 0.85 g; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 12H<sub>2</sub>O 0.90g; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.15 g; Agua destilada 100 ml y pH=7.6) y se dejó en reposo a 20°C durante 24 horas. El principio de empleo de esta solución fue por la actividad isotónica que produce frente a la pared celular de las bacterias presentes en la chicha de jora haciendo la supervivencia solo de levaduras.

Después de 24 horas, se realizaron diluciones 10<sup>-1</sup>, 10<sup>-2</sup> y 10<sup>-3</sup> en agua peptonada estéril al 1% a partir de la muestra que contiene solución Raulin. De las diluciones se tomaron asepticamente 0,5 ml y se sembró en profundidad en Agar Maltosa Saboraud al cual se le adicionó 300 mg/L de metabisulfito de sodio, a pH 3.5. Luego de ello se llevó a incubación durante 48 horas de 26°C ±2°C.

Las colonias crecidas sobre el Agar Maltosa Saboraud se resembraron en tubos con agar inclinado de la misma composición, variando para este caso solo el pH = 5,6. Luego de ello, los tubos se incubaron durante 48 horas de 26°C ±2°C.

### **3.5.1.2. IDENTIFICACIÓN Y ESTUDIO FISIOLÓGICO DE CEPAS AISLADAS**

La identificación de género de las cepas de levadura aisladas se realizó mediante las técnicas de microscopia y estudio fisiológico. Para la determinación morfológica se utilizó un Microscopio Revelatium 3, USA. Así mismo, para los ensayos de fisiología se utilizó los siguientes azúcares; glucosa, almidón, galactosa, maltosa, lactosa y sucrosa (Krejer Van Rij, 1984).

#### **3.5.1.2.1. ESTUDIO MORFOLÓGICO DE CEPAS AISLADAS**

Se realizó asépticamente un preparado microscópico de las cepas aisladas y mantenidas en Agar Maltosa Sabouraud, observándose al microscopio electrónico a una resolución de 10X y 40X para determinar el color, la textura, la apariencia y la forma de las colonias en Agar. De la misma manera se determinó la forma y el color de las células obtenidas de un medio líquido cuya composición fue: maltosa al 2% w/v, extracto de levadura 0,5% w/v y peptona al 1% w/v (Navarre, 1994; De Rosa, 1997)

#### **3.5.1.2.2. ESTUDIO FISIOLÓGICO DE LEVADURAS.**

El objetivo principal de este estudio fue de caracterizar las cepas nativas aisladas a través de fermentación de mono y disacáridos y evaluar la capacidad fermentativa basada en la metodología de Krejer Van Rij, 1984; la misma que son basados en características morfológicas y fisiológicas.

Para el estudio fisiológico se realizo ensayos de fermentabilidad de fuentes de carbono utilizando la técnica de fermentación en tubos de ensayo conteniendo tubos Durham, para lo cuál se preparó un medio de cultivo líquido con 2 % w/v de fuente de carbono, 1% w/v de peptona, 0.5% w/v de extracto de levadura y un pH = 5,6. De este medio de cultivo liquido se tomó 10 ml a cada tubo de ensayo, posteriormente se esterilizo a

121,1°C durante 15 min, después de enfriar dicho medio contenido en los tubos de ensayo, se inoculo asépticamente cada tubo de ensayo con las cepas aisladas y mantenidas en Agar Maltosa Sabouraud. Luego cada tubo de ensayo fue llevado a incubación durante 48 horas a  $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , periodo en donde se realizó el control de la producción de  $\text{CO}_2$  y film a las 24 horas y 48 horas.

Los ensayos de fermentabilidad se realizaron por triplicado para cada azúcar y cepa aislada.

### **3.5.2. MANTENIMIENTO DE CEPAS AISLADAS**

Las cepas aisladas se mantuvieron en Agar inclinado (SMA) a  $6^{\circ}\text{C}$  con la finalidad de disminuir la variabilidad genética. Así mismo, se realizaron repiques de cada cepa cada 3 meses en medio nuevo de la misma composición (González R., 2002).

### **3.5.3. ESTUDIO DE LA TOLERANCIA AL ETANOL, ÁCIDO ACÉTICO Y PRODUCCIÓN DE ETANOL**

En las fermentaciones alcohólicas el producto principal es el etanol. El sabor y aroma de las bebidas alcohólicas esta constituido por este alcohol además de gran variedad de compuestos que se encuentran en cantidades mucho menores con respecto a este (Pinhas M., 1981), como alcoholes superiores, carbonilos, ácidos orgánicos, esterres y compuestos azufrados, que en conjunto reciben el nombre de congenéricos (Erikson J., 1986; Nykanen L., 1986; Garcia M., y Lopez A., 1993). El origen de los congenéricos es diverso, el tipo y la concentración esta determinado por diversos parámetros como cepa de levadura, otros microorganismos que se encuentren presentes durante la fermentación, la composición de la materia prima, el uso de adjuntos, factores

ambientales como: la temperatura de fermentación, la concentración de oxígeno en el medio y la agitación (Engan S., 1981; Nykanen L., 1986; Romano H., 1986).

En este sentido, se realizó el estudio de tolerancia al etanol y ácido acético con la finalidad de determinar la capacidad fermentativa de las cepas de levadura aisladas en presencia de estos metabolitos producidos por ellas mismas durante la fermentación alcohólica. Así mismo, se realizó ensayos de producción de etanol como estudios previos e indicadores para preparar un medio de cultivo de similar composición al mosto de jora y evaluar la cantidad de etanol que producen la cepa nativa de *Saccharomyces* sp.

### **3.5.3.1. TOLERANCIA AL ETANOL**

Para determinar la tolerancia al etanol exógeno por las cepas aisladas se evaluó su capacidad alcohol fermentativa, para ello se utilizó la técnica de fermentación en tubos de ensayo conteniendo tubos Durham en un medio líquido con 2 %w/v de fuente de carbono, 1% w/v de peptona, 0.5% w/v de extracto de levadura y un pH = 5.6. Se traspaso 10 ml del medio a cada tubo de ensayo y se esterilizo durante 15 min a 121,1°C, luego de enfriado se añadió asépticamente con una micropipeta etanol a 97% v/v hasta alcanzar concentraciones en los tubos de 5% v/v, 6% v/v , 7% v/v, 7.5% v/v , 8 % v/v, 8,5 % v/v, 9% v/v y 9,5 % v/v respectivamente, posteriormente se inoculo asépticamente con las cepas aisladas de levadura y finalmente se llevó a incubación durante 48 horas a 29°C ± 1°C, donde cada 24 horas se evaluó la producción de CO<sub>2</sub> y la formación de film en los tubos de ensayo. (White, 1978).

### 3.5.3.2. TOLERANCIA AL ÁCIDO ACÉTICO

Los ácidos orgánicos son los principales responsables de la acidez total de las bebidas, siendo este uno de los parámetros organolépticos más importantes (Boulton *et al.*, 1996; Jackson, 1994; Ramón-Portugal *et al.*, 1999), ya que participa en la estabilidad, color, sabor y aroma (Dartiguenave *et al.*, 2000). Aunque los principales ácidos orgánicos presentes, proceden del mosto, durante la fermentación alcohólica, la concentración de éstos puede modificarse por procesos metabólicos (Nagel y Herrick, 1989; Fowles, 1992).

La importancia del estudio de la tolerancia al ácido acético, recae por que durante la fermentación de azúcares producen normalmente ácido acético, se producen concentraciones que no sobrepasan 1g/L (en vinos), sin embargo estas concentraciones son suficientes para inhibir el crecimiento de las levaduras y detener la fermentación alcohólica (Acevedo *et al* 2003); pero que esta relacionados con la naturaleza de la cepa, la temperatura de fermentación y la composición del medio de fermentación (Bellisimi y Ingledew, 2004).

Los ensayos de tolerancia al ácido acético por las cepas aisladas, se estudio evaluando su capacidad fermentativa en presencia de este ácido orgánico, para se utilizó la técnica de fermentación en tubos de ensayo conteniendo tubos Durham en un medio líquido con 2% w/v de fuente de carbono, 1% w/v de peptona, 0.5% w/v de extracto de levadura, a un pH = 5.6. Se traspaso 10 ml del medio a cada tubo de ensayo y se esterilizo durante 15 min a 121,1°C, luego de enfriado el medio de cultivo se añadió asépticamente utilizando micropipetas el ácido acético glacial 98% v/v, en concentraciones de 300 mg/L, 500 mg/L, 600 mg/L, 700 mg/L, 800 mg/L y 900 mg/L respectivamente, posteriormente se inoculo asépticamente con las cepas aisladas de levadura y finalmente

se llevó a incubación durante 48 horas a  $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , donde cada 24 horas se evaluó la producción de  $\text{CO}_2$  y la formación de fil en los tubos de ensayo (Acevedo *et al* 2003).

### 3.5.3.3. ESTUDIO DE PRODUCCIÓN DE ETANOL

En este trabajo se utilizó un medio sintético de composición química definida (Glucosa) y un mosto natural (mosto de jora).

Debido a que la fermentación está influenciada por varios factores como la temperatura, pH, concentración de azúcares y otras variables que influyen en el crecimiento de los microorganismos responsables (Corpodib, 2003; Caridi, 2003) y siendo la glucosa la fuente de carbono y energía preferida por *Saccharomyces cerevisiae* (Kruckeberg L. *et al.*, 1998; Rolland F. *et al.*, 2002); este estudio preliminar se desarrollo con el único objetivo de encontrar algunos parámetros que podrían ser referentes en la fermentación de chicha de jora utilizando cepas aisladas de nichos naturales en un medio sintético compuesto de glucosa en 170 g/L y en mosto de jora de 170 g/L de sólidos solubles; por la referencia de la tolerancia al etanol por las cepas estudiadas; conociendo que la mayor parte de las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* tienen un poder fermentativo superior al 14 % (v/v), pudiendo llegar algunas al 18%-19% (Giudici y Zambonelli, 1992a); además, la síntesis de etanol continúa hasta el final de la fermentación y se detiene hasta que la fuente de carbono se agote o hasta que el efecto inhibitorio de alguno de los compuestos producidos durante la fermentación afecte el metabolismo fermentativo de la célula.

Los resultados obtenidos en esta parte de la investigación contribuyen a conocer el comportamiento fermentativo de las cepas nativas aisladas y elegir entre ellas aquella más adecuada para el proceso de elaboración de chicha de jora, aquella que pueda contribuir a desarrollar un perfil sensorial similar y mejor en la chicha de jora



comparado a las cepas de levaduras comerciales; a la vez conocer los principales parámetros que influyen directa e indirectamente en la actividad fermentativa de las cepas aisladas.

Se realizó una fermentación previa bajo las mismas condiciones a las cuales se trabajó durante la etapa experimental (numeral 3.5.4.2.6), con el fin de determinar la duración de la fermentación y la cantidad de etanol que es capaz de tolerar y producir las cepas nativas aisladas de chicha de jora, en dos casos: un medio sintético compuesto básicamente por glucosa y un medio similar al medio que se utilizó en el proceso de fermentación alcohólica de chicha de jora. Los dos medios se preparó de acuerdo a estudios de tolerancia de etanol, donde fue necesario preparar el inóculo.

#### **3.5.4.2.3. PREPARACIÓN DE INOCULO**

El inóculo necesario para los ensayos de fermentación se obtuvo cultivando las cepas aisladas en frascos Erlenmeyer de 250 ml, conteniendo 100 ml de mosto de jora de maíz al 2% w/v, a pH = 5.6. La propagación del inóculo se llevó a cabo en una cámara a  $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , en condiciones de agitación suave de 100 rpm, durante 48 horas en un agitador orbital (Siqueira *et al*, 2008).

#### **3.5.4.2.4. FERMENTACIÓN DEL MEDIO SINTÉTICO Y MOSTO DE JORA.**

La fermentación de los medios ensayados se realizó en frascos Erlenmeyer de 250 ml y 500 ml conteniendo 200 ml y 400 ml de medio líquido estéril respectivamente, acondicionados con gargantas de cisne conteniendo glicerol para asegurar el crecimiento y la fermentación de la cepa nativa aislada. Para ello se utilizó un medio líquido a partir de glucosa USP y malta de jora respectivamente, diluidos hasta alcanzar

17°Brix de sólidos totales y pH = 5.6. Se inoculo asépticamente con el inóculo preparado y fue fermentado a  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Los controles se realizaron cada 12 horas para determinar la concentración de etanol, acidez total (expresado en ácido acético) y el pH final de la fermentación. La fermentación se consideró terminada cuando el peso del medio de cultivo fue constante y no se observó producción de  $\text{CO}_2$ .

### **3.5.4.2.5. MÉTODOS DE ANÁLISIS EN LOS ENSAYOS DE FERMENTACIÓN DEL MEDIO SINTÉTICO Y MOSTO DE JORA**

#### **3.5.4.1.7.1. DETERMINACIÓN DE pH**

Se determinó por el método de la AOAC. 925.10, 1998.

#### **3.5.4.1.7.2. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TOTAL**

Se determinó de acuerdo al método A.O.A.C., 16.023, 1974.

#### **3.5.4.1.7.3. DETERMINACIÓN DE ETANOL**

Se determinó por picnometría desarrollado por American Society of Brewing Chemists. Beer Method 8-A. 1976.

### **3.5.4. TECNOLOGÍA DE ELABORACIÓN DE CHICHA DE JORA.**

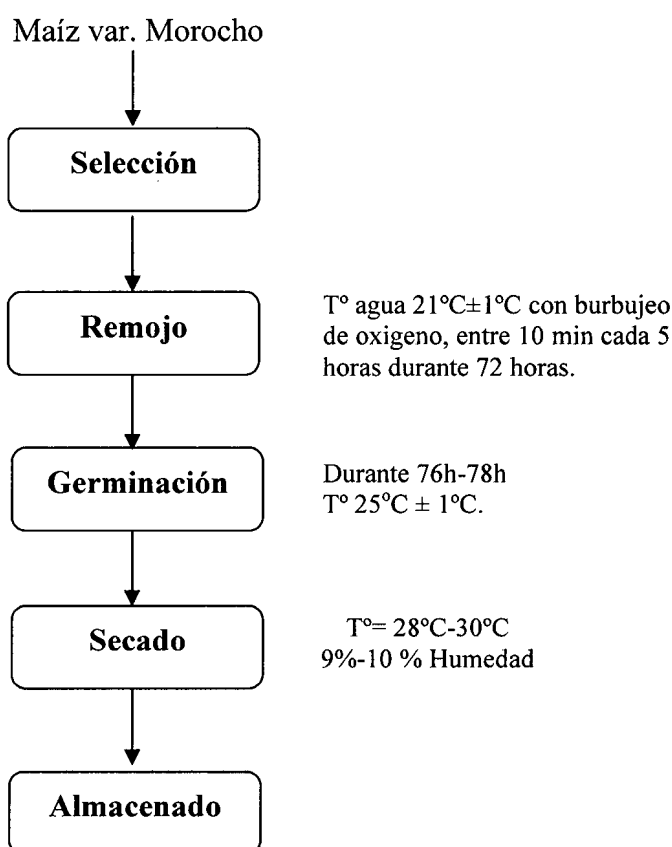
#### **3.5.4.1. OBTENCIÓN DE MALTA DE MAÍZ.**

Se tomó como base el método de malteado del maíz desarrollado por Velásquez M., 1982, como se indica en la figura 07.



### 3.5.4.1.1. MATERIA PRIMA.

El maíz utilizado fue de variedad morocho (*Zea mays* L. var. morochon), proveniente de la Provincia de Andahuaylas, Región Apurímac, de la cosecha Mayo-Junio 2009 en una cantidad de 40 kilogramos.



**Figura 07:** Flujograma de obtención de malta de maíz (Velasquez M., 1982)

### 3.5.4.1.2. LIMPIEZA

Se realizó con la finalidad de eliminar las impurezas del maíz y aquellos granos deteriorados.

### 3.5.4.1.3. REMOJO

Los granos fueron colocados en un balde acondicionado para este propósito, cubriéndolo enseguida con 15L de agua potable a una temperatura de 21°C ± 1°C, con

burbujeo de aire a 68 L/h por un periodo de 10 min cada 4 horas y suspensión en la noche, para que el grano tome oxígeno. El agua se cambio cada 12 horas. El lote fue retirado de remojo después de conseguir que los granos de maíz absorban suficiente cantidad de agua (43%) y se ablanden por la solubilización de algunas de sus proteínas. Al inicio, durante y finalizar el proceso de remojo, se controló la humedad de los granos, el tiempo y la temperatura.

#### **3.5.4.1.4. GERMINADO**

El proceso de germinación se llevo a cabo en un germinador construido para este propósito de dimensiones de 30cmx75cmx45cm. (Ver Anexo 01 foto 01),

Los granos de maíz fueron colocados en capas de un grosor de unos 20cm - 25cm, en las bandejas del germinador, y se le cubrió con tela mojado para permitir el germinado homogéneo y mantener la temperatura de germinación de 32°C-35°C, con una humedad relativa comprendida entre 70% - 75% controlados un termohigrómetro Infrarrojo. Durante el germinado se roció agua cada hora y se volteo los granos cada 12 horas para un germinado homogéneo. La germinación se detiene cuando la raicilla alcanza una altura de  $\pm 2$  cm.

En esta etapa se controló la temperatura y tiempo de germinación, así mismo se constato la longitud de raicillas y humedad relativa.

#### **3.5.4.1.5. SECADO.**

Para el secado del maíz germinado, se utilizó el mismo germinador previsto de ventiladores cuya velocidad del aire fue de 0.4 m/s, y la temperatura del medio ambiente ( $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). La temperatura de secado fue regulado entre  $28^{\circ}\text{C}$  -  $30^{\circ}\text{C}$ , hasta que el peso de los granos fuera permaneció constante (humedad del grano entre 9% - 10%).

Después del secado se determinó el poder diastásico de la malta de jora.

#### **3.5.4.1.6. ALMACENADO**

La jora obtenida fue almacenada en bolsas de polietileno a temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ), hasta su uso en los tratamientos de la investigación.

#### **3.5.4.1.7. MÉTODOS DE ANÁLISIS EN LA OBTENCION DE MALTA DE MAIZ.**

##### **3.5.4.1.7.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD**

Se determino utilizando el método AOAC. 925.17, 1998.

##### **3.5.4.1.7.2. DETERMINACIÓN DEL PODER DIASTASICO**

Se determino utilizando el método A.O.A.C. N° 958.09, 1995.

#### **3.5.4.2. ELABORACIÓN DE CHICHA DE JORA UTILIZANDO CEPAS NATIVAS**

Para la elaboración tecnológica de chicha de jora utilizando una cepa nativa, se desarrollo las siguientes etapas que se muestran en la figura 08.

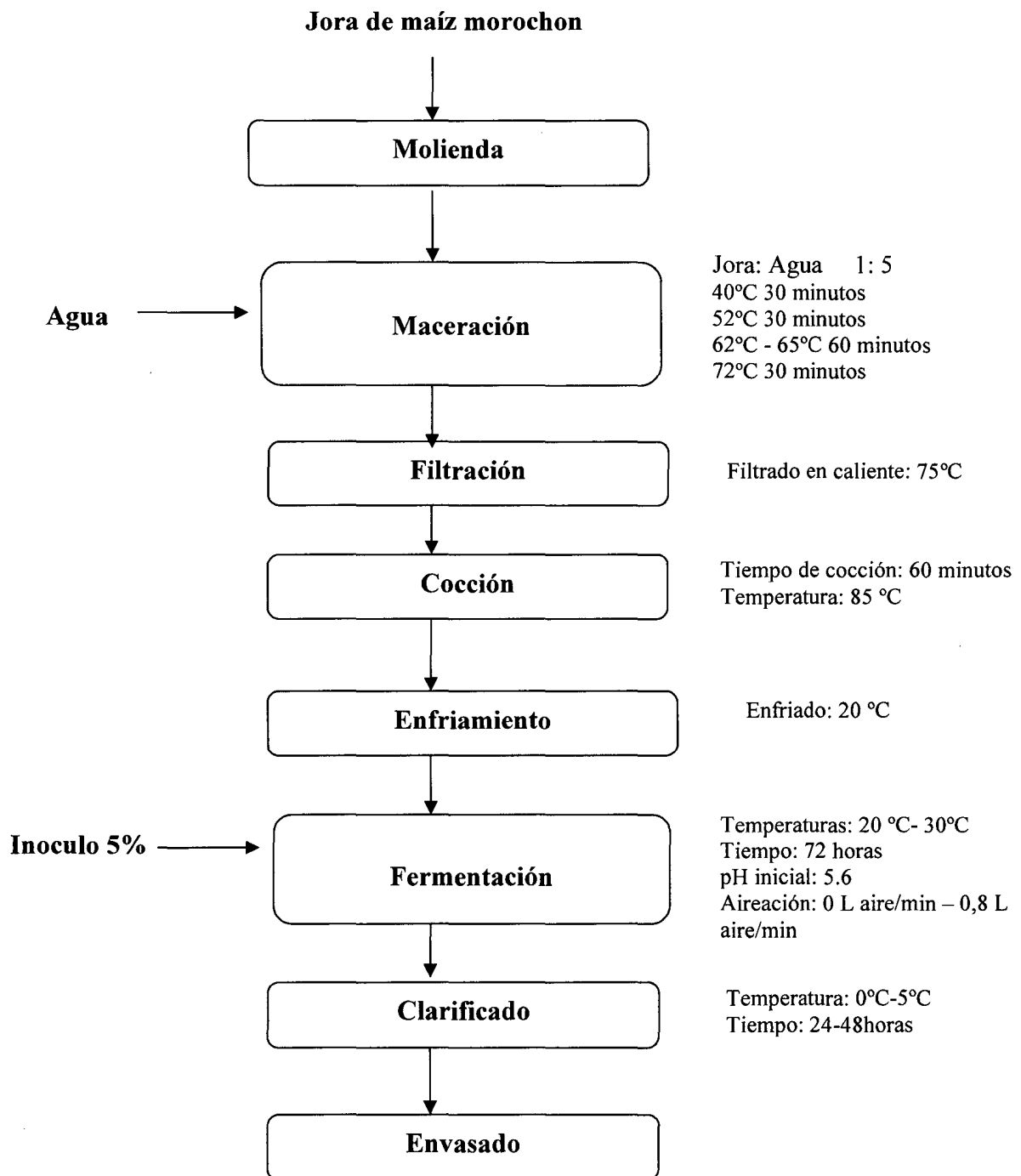
Antes de llevar a cabo los ensayos de fermentación en el biorreactor, se preparo y acondiciono el mosto de jora para el proceso de fermentación.

##### **3.5.4.2.1. MOLIENDA DE LA JORA**

2 Kg. de jora desprovista de raicillas, fue triturada en un molino de mano marca MIAG de fabricación peruana, con el objeto de dar una mejor superficie de contacto entre el grano y el agua de cocimiento para la hidrólisis enzimática.

### 3.5.4.2.2. MACERACIÓN

Se realizo por el Método de Infusión, utilizando una dilución de jora: agua igual a 1:5; utilizando las temperaturas y tiempos que se detallan en la cuadro 14, en una olla de acero inoxidable de 20L de capacidad.



**Figura 08:** Flujoograma de elaboración tecnológica de la chicha de jora



## CUADRO 14

### Temperaturas y tiempos utilizados en el método de maceración por Infusión

Temperatura	Tiempo
40°C - 45°C	30 minutos
50°C - 52°C	30 minutos
62°C - 65°C	60 minutos
72°C - 75°C	30 minutos

**Fuente:** De Florio E., 1986

#### 3.5.4.2.3. FILTRACIÓN

Se realizo en caliente la separación de la materia solida del líquido macerado mediante la utilización de tela fina y el propio afrecho. Sobre el filtrado se controlo el pH y °Brix.

#### 3.5.4.2.4. COCCIÓN

El líquido macerado fue coccionado a temperatura de ebullición durante 60 min.

#### 3.5.4.2.5. ENFRIAMIENTO

Las partículas en suspensión y el coagulo caliente fue separado por una rápida filtración en una tela muy fina e inmediatamente fue llenada al fermentador en donde se enfrió hasta la temperatura de 20°C; con la ayuda por enfriamiento exterior del fermentador con agua fría.

#### 3.5.4.2.6. FERMENTACIÓN DE LA CHICHA DE JORA UTILIZANDO CEPAS NATIVAS

Los ensayos de fermentación se llevaron a cabo en un biorreactor estándar de acero inoxidable de 25L con un volumen de trabajo de 1/5 del volumen total, construido para este propósito (Ver anexo 02), el cual se realizo en dos etapas bien definidas:



### **3.5.4.2.6.1. PREPARACIÓN DE INOCULO.**

#### **3.5.4.2.6.1.1. CEPA**

Se ha utilizado la cepa nativa *Saccharomyces sp.* codificada como Sc BA-IA-2009-III, aislada de la chicha de jora proveniente de la provincia de Andahuaylas, seleccionado mediante criterios tecnológicos descritos en el numeral 3.5.3.

#### **3.5.4.2.6.1.2. PREPARACIÓN DE INOCULO**

Se sembró asépticamente 10 asadas de la cepa nativa *Saccharomyces sp.* en 250 ml de mosto de jora estéril, diluido hasta 8% w/v de concentración de Sólidos totales azúcar, a pH 5.6 y sin complementos nutricionales, en erlenmeyer, incubando con agitación suave de 100 rpm por 24 h a  $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  (Siqueira *et al*, 2008).

El porcentaje de inóculo utilizado para realizar la fermentación fue de 5% v/v con respecto al volumen de fermentación para todos los tratamientos.

#### **3.5.4.2.6.2. FERMENTACIÓN EN BIORREACTOR**

La presente etapa corresponde al estudio experimental, que se realizó con el fin de evaluar la influencia de la temperatura y la velocidad de aireación, en el proceso de fermentación, que permitan obtener chicha de jora con características sensoriales adecuadas empleando una cepa nativa de *Saccharomyces sp.*

Al mosto de jora obtenido utilizando los procesos mencionados en los numerales 3.4.2.1 a 3.4.2.5, ya en el biorreactor y sin realizar ningún ajuste de pH, ni adición de complementos nutricionales al mosto, se inoculó asépticamente con el inóculo preparado (5%). Al inicio de la fermentación el medio se aireó a razón de 68 L/h durante 1 minuto y con una agitación de 156 rpm; luego se dejó fermentar el mosto de acuerdo a la cuadro 15, todos los tratamientos por 72 horas.

Para la aireación en T2 y T4, se utilizó una bomba de pecera de una capacidad de aireación de 0,8L/min, la misma que fue conectada al biorreactor a través de mangueras médicas y con dos filtros de aire conteniendo fibras de vidrio conectados en serie.

Para fermentar, tanto a 20°C y 30°C, se acondicionó el biorreactor en una marmita y focos alrededor de 100W, 50W y 25W, para controlar la temperatura constante, por la inexistencia de una chaqueta en el biorreactor, que ayudado de unos sensores de temperaturas tanto en el interior como en el exterior del tanque de fermentación, ayudaron que la temperatura variara solo en  $\pm 1^\circ\text{C}$ .

Se tomaron muestras cada 12 horas donde se controló: pH, peso específico, acidez y alcohol en volumen en el transcurso de la fermentación y todos los ensayos se realizaron por triplicado.

#### **3.5.4.2.7. CLARIFICADO**

La chicha de jora obtenida después de fermentar en 72 horas, fue recibida en botellas de vidrio estériles, para la sedimentación y clarificación por sedimentación por 24 horas.

#### **3.5.4.2.8. ENVASADO**

El líquido clarificado se envasó por succión a través de una manguera de las botellas contenidas del producto, en frascos de vidrio.

### **3.5.5. EVALUACIÓN DE LA CALIDAD DE LA CHICHA DE JORA**

En esta etapa se determinó la calidad fisicoquímica y sensorial de la chicha de jora elaborada con cepas nativas *Saccharomyces sp.*

### **3.5.5.1. EVALUACIÓN FÍSICOQUÍMICA**

Se evaluó las características fisicoquímicas de la chicha de jora como: acidez total expresada en ácido acético, porcentaje de etanol, pH y densidad.

#### **3.5.5.1.1. DETERMINACIÓN DE pH**

Se determinó por el método de la AOAC. 925.10, 1998.

#### **3.5.5.1.2. DETERMINACIÓN DE ACIDEZ TOTAL**

Se determinó de acuerdo al método A.O.A.C., 16.023, 1974.

#### **3.5.5.1.3. DETERMINACIÓN DE ETANOL**

Se determino por picnometria desarrollado por American Society of Brewing Chemists. Beer Method 8-A. 1976.

#### **3.5.5.1.4. DETERMINACIÓN DE DENSIDAD**

Se determino por picnometria desarrollado por American Society of Brewing Chemists. Beer Method 8-A. 1976.

### **3.5.5.2. EVALUACIÓN SENSORIAL**

El panel de evaluación sensorial estaba compuesto por 08 jueces entrenados: 04 mujeres y 04 varones, con edades entre 20años – 25años.

Los jueces fueron debidamente seleccionados mediante entrevistas personales, pruebas discriminativas y pruebas de ordenamiento como se estableció en el plan de entrenamiento (como se muestra en el anexo 03) para este propósito, el cual a la vez

consto de cuatro (4) sesiones teóricas y diez (10) sesiones prácticas con previa selección de jueces, con una duración de tres (03) semanas.

Para evaluar y caracterizar los atributos sensoriales específicos en términos cuantitativos según su orden de aparición, se utilizó el Análisis Descriptivo Cuantitativo (QDA) desarrollado por Stone *et al.* 1974; por lo tanto se evaluó las características sensoriales específicas de sabor ácido, sabor alcohólico, sabor a levadura, sabor agrio, sabor a jora, intensidad de aroma, intensidad de color pardo oscuro y la aceptabilidad general de la chicha de jora elaborada con cepas nativas de *Saccharomyces sp.*, con el uso de la Escala Coordinada Polar con Medidas de Notas de “Off-Flavor”. La hoja de cata se muestra en el anexo 04.

El volumen de cada muestra fue de 50 ml que fueron servidos en copas de vidrio debidamente codificados con tres dígitos aleatorizados. En la prueba se dispuso a cada panelista de vasos con agua, servilletas y vasos para el desperdicio. Así mismo, se les proporcionó un lapicero y hojas de evaluación.

Cabe resaltar que la evaluación sensorial se hizo con la finalidad de evaluar la aceptabilidad de la chicha de jora y no compararla con alguna chicha de jora comercial específica; y evaluar la variabilidad entre tratamientos.

### **3.5.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

La evaluación de los tratamientos de determinación de parámetros óptimos de fermentación se realizó mediante un diseño experimental completamente aleatorizado, en un análisis factorial 2 x 2; con 2 factores: temperatura de fermentación y volumen de aireación, en dos niveles cada uno: 20°C y 30°C; 0L/minutos y 0,8L/minutos

respectivamente; con tres repeticiones por tratamiento; las combinaciones se muestran en la cuadro 15.

**CUADRO 15**  
**Representación esquemática del diseño experimental**

N° de tratamientos	Factores			
	Temperatura de fermentación		Volumen de aireación	
	Niveles			
	20°C	30°C	0 L/minutos	0.8 L/minutos
T1	20°C		0 L/minutos	
T2	20°C		0.8 L/minutos	
T3	30°C		0 L/minutos	
T4	30°C		0.8 L/minutos	

Para el análisis estadístico de los datos provenientes de la prueba sensorial se empleó un análisis de varianza (ANOVA) a un nivel de significancia del 0.05%. La comparación entre las medias fue realizada mediante una prueba de comparación múltiple de medias de DUNCAN utilizando el programa estadístico STATISTICA (versión 8,0), esto a fin de determinar diferencias significativas, entre cada uno de los tratamientos evaluados y las variables medidas en el panel. Estas variables fueron sabor ácido, sabor alcohólico, sabor a levadura, sabor agrio, sabor a jora, intensidad de aroma, intensidad de color pardo oscuro y la aceptabilidad general de la chicha de jora elaborada con cepas nativas de *Saccharomyces sp.* así mismo se utilizó el SPSS 15.0 y Microsoft Office Excel 2007TM.



## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la primera parte del trabajo, se resumen los resultados del aislamiento e identificación de la cepa nativa con la que se desarrollo la investigación, así como de la malta utilizada y su posterior tratamiento para fermentar la chicha de jora utilizando una cepa nativa *Saccharomyces sp.*

### 4.1. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS NATIVAS

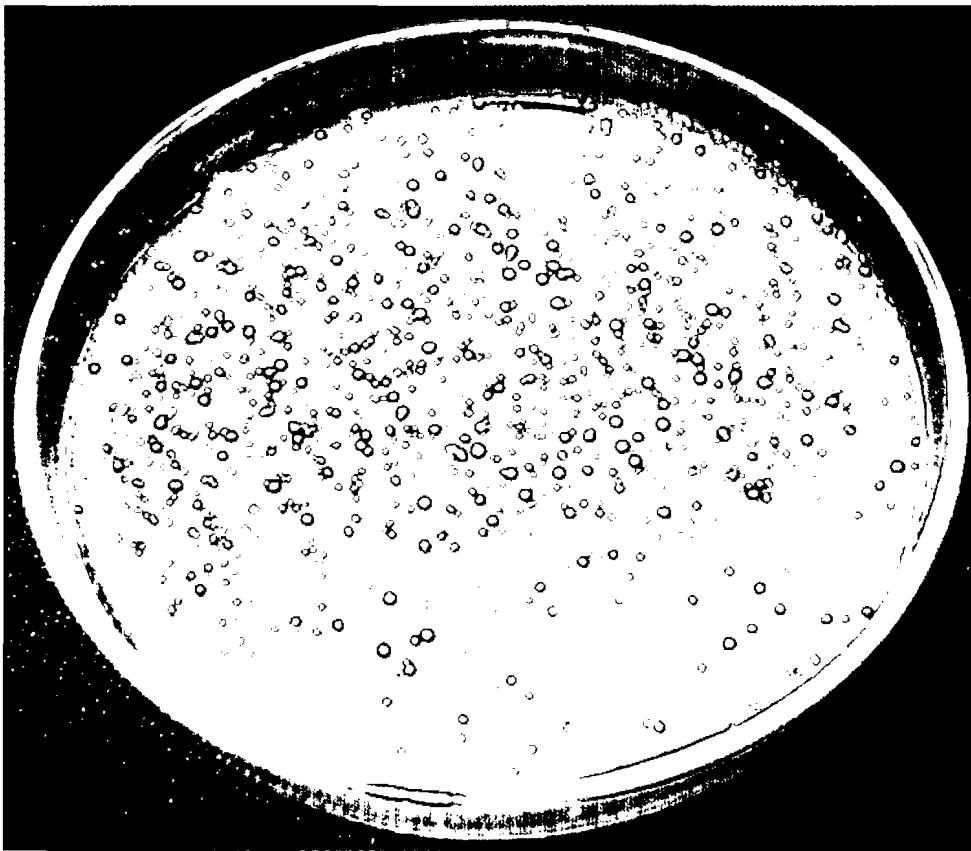
#### 4.1.1. ESTUDIO MORFOLÓGICO DE LEVADURAS

Tal como se menciona en el numeral 3.5.1.1, la utilización de la solución Raulín como medio selectivo, es por la actividad isotónica que produce frente a la pared celular de las bacterias presentes en la chicha de jora haciendo la supervivencia solo de levaduras; por otro lado, el uso de metabisulfito de sodio ( $\text{Na}_2\text{SO}_5$ ), por estudios de Estela W., 2004; refiere que es un agente inhibidor del crecimiento y desarrollo de levaduras excepto en especies de los géneros *Saccharomyces* y *Saccharomyces*, con lo cual se garantiza de alguna manera que las cepas aisladas son del género *Saccharomyces*.

La morfología de la colonia que se aisló de la chicha de jora proveniente de la Chichería “La Estancia”, se muestran en la figura 09, a la que finalmente se codifico como Sc BA-IA-2009-III.

Como se puede apreciar, las colonias presentan color crema, forma esféricas con bordes irregulares, sin anillos, textura blanda, apariencia mantecosa, que concuerdan con resultados encontrados por Lagos M., 1995; quien menciona que los miembros del género *Saccharomyces* crecen generalmente como células unicelulares de forma

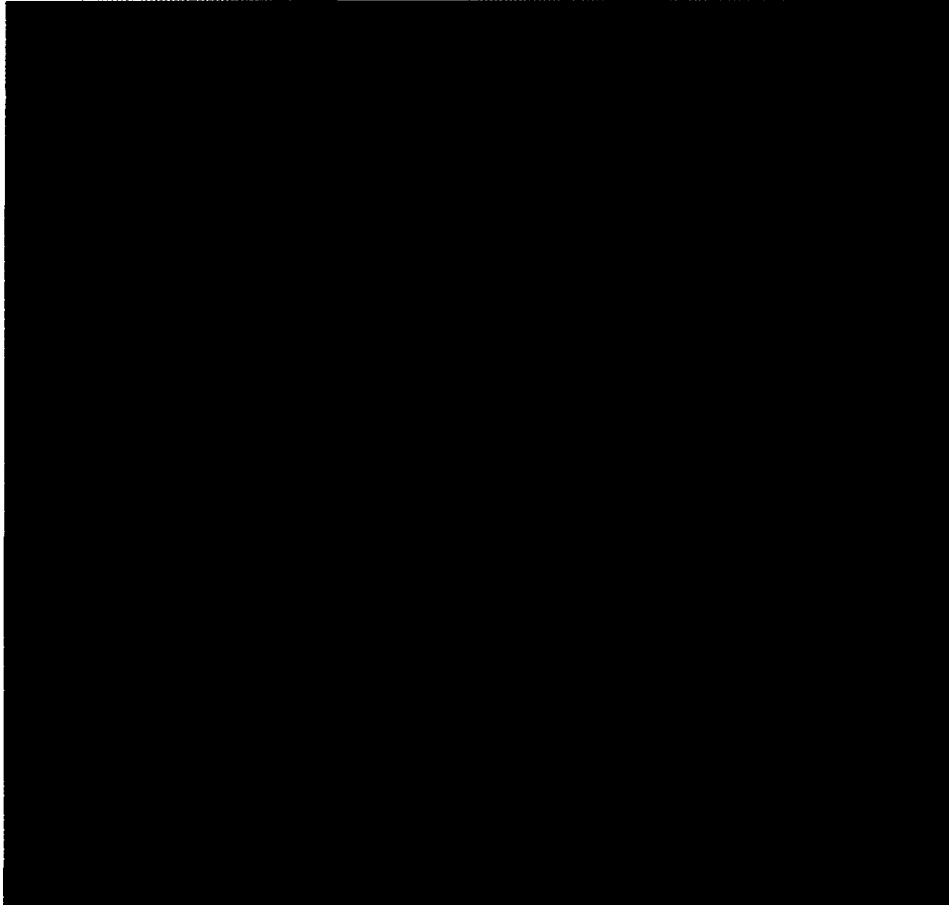
esférica, ovoide o alargada con extremos redondeados, pero a veces puede formarse un pseudomicelio y en medios sólidos las colonias son de color blanco o crema, con forma de cúpula, suaves, entre semimates y brillantes, de hasta 5 mm de diámetro y de consistencia mantecosa; a su vez con lo que refiere White, 1995, específicamente a *Saccharomyces cerevisiae*, indicando, que la colonia en Agar Sabouraud es de color crema o blanco, apariencia húmeda y brillante, de bordes irregulares.



**Figura 09:** Apariencia de las colonias de levaduras nativas aisladas sobre MSA, pH=5,6

Microscópicamente, las células presentan, formas redondas y ovoides, se reproducen por gemación, que se acercan a los resultados encontrados en *Saccharomyces cerevisiae* por Ariza y González, 1997.

Si bien existen diferencias morfológicas entre las distintas especies, las variaciones morfológicas dentro de una misma especie en ocasiones son tan grandes que ciertas características, como por ejemplo la forma celular, no ofrecen ninguna fiabilidad.



**Figura 10:** Vista microscópica de células de cepas nativas aisladas de chicha de jora a 40X.

#### **4.1.2. ESTUDIO FISIOLÓGICO DE LEVADURAS**

Los resultados de la fermentación de azúcares por las cepas nativas aisladas se muestran en el Cuadro 16. La fermentabilidad de azúcares se determinó indirectamente observando la producción de CO<sub>2</sub> a 24h y 48h de cultivo.

CUADRO 16

Evaluación de la capacidad fermentativa de azúcares por cepas aisladas

Cepas		Cepa A		Cepa B		Cepa C	
		Producción de CO <sub>2</sub>	Formación de film (película)	Producción de CO <sub>2</sub>	Formación de film (película)	Producción de CO <sub>2</sub>	Formación de film (película)
Glucosa	24 h.	-	-	+++	-	+++	-
	48 h.	++	+	+++	-	+++	-
Maltosa	24 h.	-	-	+++	-	+++	-
	48 h.	+++	+	++	-	+++	-
Almidón	24 h.	-	-	-	-	-	-
	48 h.	-	-	-	-	-	-
Sucrosa	24 h.	+	-	+++	-	+++	-
	48 h.	+++	+	+++	-	+++	-
Galactosa	24 h.	-	-	-	-	-	-
	48 h.	-	-	-	-	-	-
Lactosa	24 h.	-	-	-	-	-	-
	48 h.	-	-	-	-	-	-

+ = Débil, ++ = Moderado, +++ = Intenso, (-) = Nulo

Como se observa en este cuadro, las tres cepas (03) aisladas de tres muestras de distintas procedencias (cepa A= mosto de chicha de jora del distrito de Tamburco; B=mosto de Cambray del valle Pachachaca-Abancay; y C=mosto de chicha de jora de La Estancia-Andahuaylas), poseen distintas capacidades de fermentar uno y otro azúcar; sin embargo, tanto la cepa “B” como la cepa “C”, en 24 horas de iniciada la fermentación, pueden fermentar intensamente la glucosa, maltosa y sacarosa, lo que no sucede con la galactosa, lactosa y almidón; en comparación con la cepa “A”.

Estos resultados coinciden con estudios de Ariza y González, 1997; quienes manifiestan que, *Saccharomyces cerevisiae* fermenta glucosa, galactosa, sacarosa y maltosa y no fermenta lactosa, además asimila galactosa, sacarosa, maltosa y



rafinosa; a su vez con estudios de Regodón J. A., 1997; quien encontró que *Saccharomyces cerevisiae* fermenta glucosa, es bastante variable en cuanto a galactosa y maltosa y no fermenta lactosa; además de los estudios realizados por Lagos M., 1999, quien refiere que *Saccharomyces cerevisiae* fermentan glucosa, sacarosa y rafinosa y son variables en la fermentación de maltosa, galactosa y melibiosa y no fermentan lactosa como la trealosa; sin embargo, Arias A., *et al.* 2009; confirman que todas las cepas de *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces bayanus* (excepto la Fermiblanc), fermentan glucosa, fructosa y maltosa.

No obstante, según Boekhout y Kutzman 1996; la prueba de fermentación de azúcares no es muy exacta debido a que las levaduras de fermentación lenta no liberan el CO<sub>2</sub> de forma tan inmediata para que sea atrapado en un tubo Durham, lo cual ha provocado que especies consideradas durante mucho tiempo no fermentativas, hayan tenido que reclasificarse; pero debido a la alta coincidencia de las cepas “B” Y “C”, con los resultados encontrados para *Saccharomyces cerevisiae* por varios investigadores (Ariza y González, 1997; Regodón J. A., 1997; Lagos M., 1999; Arias A., *et al.* 2009), se confirman que las cepas nativas aisladas son del género *Saccharomyces*; mas no se puede garantizar la especie de estas cepas nativas aisladas por falta de mas estudios fisiológicos; desde luego que estas características de fermentación de azúcares como glucosa, maltosa y sucrosa, y la no formación de film; nos ayuda a predecir la performance que tendrán las cepas aisladas en la fermentación del mosto de jora.

Por otro lado, las cepas “A”, a las 48 horas registran una débil formación de film en la fermentación de maltosa y sucrosa; que generalmente esta asociado al requerimiento

de oxígeno por parte de las levaduras, que según Estela W., 2004; las levaduras altamente reductoras tienden a formar gruesas capas de película y éstas pertenecen comúnmente a los géneros *Kloeckera*, *Pichia*, *Hansenula* y algunas especies del género *Saccharomyces*; por lo cual se descarta de aquí en adelante la cepa “A”.

Por lo tanto, se garantiza por la utilización del método y medios selectivos, por la similitud morfológica encontrada, y por reportes fisiológicos; que las cepas nativas aisladas de la chicha de jora, son del género *Saccharomyces* sp.

En ese sentido, de un total de 08 colonias estudiadas, de 03 muestras diferentes; se trabajo con 02 cepas nativas aisladas que se codificaron de aquí en adelante con II, III, para seleccionar por criterios tecnológicos para su utilización en la elaboración de chicha de jora.

#### CUADRO 17

##### Codificación de Cepas Nativas Aisladas

Cepas	Género	Símbolo	Aislado de
II	<i>Saccharomyces</i> sp.	Sc BA-IA-2009-II	Mosto de Cambray (cepa B)
III	<i>Saccharomyces</i> sp.	Sc BA-IA-2009-III	Chicha de Jora (cepa C)

Las mismas que fueron conservados en tubos en SMA inclinado a 6 °C durante 3 meses, con el fin de evitar la variabilidad genética y garantizar la estabilidad genética (González R., 2002).



## 4.2. ESTUDIO DE LA TOLERANCIA AL ETANOL, ÁCIDO ACÉTICO Y PRODUCCIÓN DE ETANOL

### 4.2.1. TOLERANCIA AL ETANOL

La producción de etanol por parte de *Saccharomyces cerevisiae* está limitada por el efecto tóxico que tiene éste sobre su organismo (Casey e Ingledew, 1986); tal es así que, no todas las levaduras presentan la misma sensibilidad al etanol; así, nuestro objetivo fue estudiar la concentración máxima de etanol extracelular que toleran las cepas nativas Sc BA-IA-2009-II y Sc BA-IA-2009-III; estudiando lo que industrialmente se consideran tolerancias bajas (3,0% - 6,0%), moderadas (6,0-8,0%)(D'Amore y Stewart, 1987), y altas (mayor a 12 %) ( Casey e Ingledew, 1986); la misma que se determinó indirectamente observando la producción de CO<sub>2</sub> a 24h y 48h de cultivo, como un indicador del producto de la fermentación de azúcares presentes en los tubos de ensayo.

Como se detalla los resultados en el cuadro 18; se muestra claramente que Sc BA-IA-2009-III que tolera moderadamente hasta 8,5%v/v de etanol absoluto, en comparación con la cepa Sc BA-IA-2009-II que llega a tolerar débilmente hasta 8,0% v/v de etanol; sin embargo, las dos cepas nativas aisladas fermentan intensamente hasta una concentración de 7%v/v de etanol exógeno, lo que disminuye en función al incremento de la concentración de etanol.

Por otro lado la cepa Sc BA-IA-2009-II, su actividad fermentaria continua de forma moderada hasta 9,5%, donde se detiene la capacidad fermentativa de esta cepa.

Estos resultados son favorables y beneficiosos, de tal manera que estas dos cepas normalmente se pueden utilizar en la obtención de bebidas alcohólicas cuyo contenido de etanol no pase 8,0%v/v; para nuestro propósito, cualquiera de las dos cepas podría utilizarse, dado el hecho de que el contenido de etanol de la chicha de jora fluctúa por debajo de 5,0 %v/v.

Del mismo modo, a las 24 horas de incubado las dos cepas nativas muestran una buena adaptación a un medio con etanol exógeno, lo que se califica como positivo en vista de que es una característica importante a tener en cuenta en la utilización de cultivos seleccionados.

#### CUADRO 18

##### Producción de CO<sub>2</sub> y formación de film por cepas aisladas en medio con etanol absoluto

Cepa Concentración de C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH		Sc BA-IA-2009-II		Sc BA-IA-2009-III	
		Formación de CO <sub>2</sub>	Formación de film	Formación de CO <sub>2</sub>	Formación de film
5%	24 h.	+++	-	+++	-
	48 h.	+++	-	+++	-
6%	24 h.	++	-	+++	-
	48 h.	+++	-	+++	-
7%	24 h.	++	-	+++	-
	48 h.	+++	+	++	-
7,5%	24 h.	++	-	++	-
	48 h.	+++	+	+++	+
8%	24 h.	+	+	++	-
	48 h.	+	+	+++	+
8,5%	24 h.	-	-	++	-
	48 h.	+	-	++	+
9,0%	24 h.	-	-	-	-
	48 h.	-	-	+	+
9,5%	24 h.	-	-	-	-
	48 h.	-	-	-	-

Donde: + = Débil, ++ = Moderado, +++ = Intenso, (-) = Nulo



Carballo M., 2000; indica que las especies más resistentes son de *Saccharomyces sp.* que se presentan en los procesos de fermentación alcohólica para la elaboración de bebidas o la producción industrial de etanol; y según las cepas y el estado fisiológico del cultivo, el etanol es tóxico en concentraciones del 8% (p/v) al 18% (p/v), razón por lo cual, la cepa Sc BA-IA-2009-II, no tolera más de 8,5%.

Dombeck e Ingram, 1989; manifiestan que el descenso de la actividad metabólica de las levaduras comienza a concentraciones extracelulares de etanol relativamente bajas entre 1 % y 2 % (p/v); y cuando el etanol extracelular alcanza una concentración del 5%, tiene lugar una pérdida del 50% de la actividad metabólica, las que sería una de las posibles explicaciones frente al descenso de la actividad fermentativa cuanto más alto es la concentración de etanol en un medio; hecho que refleja en las dos cepas estudiadas, a medida que la concentración de etanol es más alto en el medio, la actividad fermentativa disminuye, llegando en un punto no realizar la fermentación. Sin embargo, se conoce que el etanol afecta la permeabilidad de la membrana celular disminuyendo su selectividad, de forma que las levaduras en un medio con alta concentración alcohólica pierden propiedades funcionales y no pueden retener cofactores y coenzimas (Leao y Van Uden, 1984), razón que justifica el descenso de la actividad fermentativa de las cepas nativas estudiadas a mayores concentraciones de etanol en el medio.

No obstante, se ha aceptado que la acumulación extracelular de etanol en el medio de cultivo es la causa del descenso en la fermentación (Ghose y Tyagy, 1979; Brown *et al.*, 1981; Luong, 1985); sin embargo, Carballo F., 2000, refiere que el etanol intracelular es más tóxico para las células que el etanol extracelular, añade también que la viabilidad de los cultivos puede incrementar por la eficiencia de la excreción

del etanol, debido a esto, hay una influencia de la presión osmótica: cuando la presión osmótica aumenta en el medio, la secreción del etanol se disminuye considerablemente; además, según varios autores (Martini, *et al.*, 2005; Man, *et al.*, 2003), se sabe que el etanol inhibe el crecimiento de los microorganismos y causa daños en el ADN mitocondrial de las células de las levaduras y la inactivación de algunas enzimas como la hexoquinasa y la deshidrogenasa. Por lo que se ha encontrado que cuando *Saccharomyces cerevisiae* crece en presencia de etanol se incrementa la cantidad de ácidos grasos insaturados en la membrana como una alternativa ante el estrés generado por la toxicidad del etanol, hecho que relaciona la tolerancia del etanol con la composición lipídica de la membrana celular, por lo se tiene en cuenta que el etanol es altamente tóxico para el metabolismo y crecimiento de las levaduras, ya que afecta, por ejemplo, a las membranas biológicas (Ingram, L.O. *et al.*, 1984)

Se ha descrito que los efectos de la temperatura y el alcohol son sinérgicos, ya que actúan sobre las mismas funciones celulares, principalmente la membrana plasmática (Bisson, 1999). Además, la tolerancia al etanol de las levaduras se ha demostrado que varía dependiendo de la temperatura de fermentación (Casey y Ingledew, 1986; Gao y Fleet, 1988), ya que en estudios realizados con cepas de *Saccharomyces* y no-*Saccharomyces* (*Kloeckera apiculata* y *Candida stellata*), se ha observado que las cepas de no-*Saccharomyces* pueden llegar a dominar a las de *Saccharomyces* a bajas temperaturas (Heard y Fleet, 1988), probablemente debido a que se incrementa su tolerancia al etanol.

De acuerdo a estas referencias, la cepa Sc BA-IA-2009-III, es capaz de mantener la estabilidad de su membrana celular en el transcurso de la fermentación hasta una

concentración de etanol exterior de 9,0% v/v. e industrialmente se clasifica como una cepa que tolera moderadamente el etanol; sin embargo, como se muestra éstas a la vez presentan una débil formación de film, que es normal por la necesidad de oxígeno para sintetizar los esteroides y regular principalmente la fluidez y permeabilidad de su membrana (Rosenfeld *et al.*, 2003).

Debemos tener en cuenta que el etanol es altamente tóxico para el metabolismo y crecimiento de las levaduras, ya que afecta, por ejemplo, a las membranas biológicas (Ingram, L.O. *et al.*, 1984).

#### 4.2.2. TOLERANCIA AL ÁCIDO ACÉTICO

La evaluación de tolerancia al ácido acético exógeno por las cepas seleccionadas se determinó indirectamente mediante la observación de la producción de CO<sub>2</sub> y los resultados se detallan en el cuadro 19; donde se muestra que la cepa Sc BA-IA-2009-II puede tolerar y fermentar moderadamente en un medio con 900mg/L de ácido acético exógeno; de igual forma la cepa Sc BA-IA-2009-III y ninguna de las cepas nativas aisladas reportó formación de film.

*Sacharomyces cerevisiae* produce siempre pequeñas cantidades de ácido acético normalmente entre 100mg/L y 900mg/L (Giudici y Zambonelli, 1992a; Giudici *et al.*, 1995). Por otro lado la capacidad de las cepas de *Saccharomyces. cerevisiae* para producir diferentes cantidades de ácido acético durante la fermentación es estable y hereditaria (Giudici y Zambonelli, 1992a). No obstante, la formación de ácido acético por la levadura viene dado por otros factores al margen de la propia cepa y aireación, produciéndose generalmente más acidez volátil bajo condiciones que

limitan el crecimiento (Radler, 1993), siendo uno de los factores que más influye en la formación de ácido acético el pH, de manera que por debajo de pH 3,2 y por encima de 4,0 la levadura sintetiza las mayores cantidades (Radler, 1993); referencia que confirma, que las cepas nativa aisladas tanto Sc BA-IA-2009-II y Sc BA-IA-2009-III, toleraron estas concentraciones, por que el medio de cultivo tenía un pH inicial de 5,6; sin embargo otros factores que influyen son la temperatura de fermentación, composición del medio, cantidad de azúcar del mosto y fuente de nitrógeno.

**CUADRO 19**

**Producción de CO<sub>2</sub> y formación de film por cepas aisladas en medio con ácido acético exógeno**

Cepa		Sc BA-IA-2009-II		Sc BA-IA-2009-III	
		Formación de CO <sub>2</sub>	Formación de film	Formación de CO <sub>2</sub>	Formación de film
300ppm	24 h.	+++	-	+++	-
	48 h.	+++	-	+++	-
500ppm	24 h.	+++	-	+++	-
	48 h.	+++	-	+++	-
600ppm	24 h.	+++	-	+++	-
	48 h.	+++	-	+++	-
700ppm	24 h.	+++	-	+++	-
	48 h.	+++	-	+++	-
800ppm	24 h.	+++	-	+++	-
	48 h.	++	-	+++	-
900ppm	24 h.	++	-	++	-
	48 h.	++	-	++	-

Donde: + = Débil, ++ = Moderado, +++ = Intenso, (-) = Nulo



De acuerdo a estos resultados se deduce que ambas cepas son capaces de producir inclusive concentraciones de 900mg/L de ácido acético; que de acuerdo a criterios tecnológicos durante la elaboración de chicha de jora, se podría presentar un sabor agrio; sin embargo como se mencionó anteriormente, esta tolerancia y producción de ácido acético depende de varios factores como la temperatura, cepa, entre otros que ayudarían a regular en la obtención de la chicha de jora.

Es necesario tener en cuenta que, a la hora de seleccionar cepas de levadura para fermentar vinos en función de la acidez volátil, el límite es de 0.5 g/L de ácido acético, aunque frecuentemente y en función de los valores obtenidos, se reduce a 0.3 g/L como valor máximo (Abad E., 2006).

#### 4.2.3. ESTUDIO DE PRODUCCIÓN DE ETANOL.

Los resultados de las pruebas de producción de etanol en medio sintético y mosto de jora con 170g/L de concentración de azúcar al inicio, se detallan en la cuadro 20 y cuadro 21 respectivamente.

**CUADRO 20**

**Características finales del medio sintético de glucosa fermentadas con cepas nativas.**

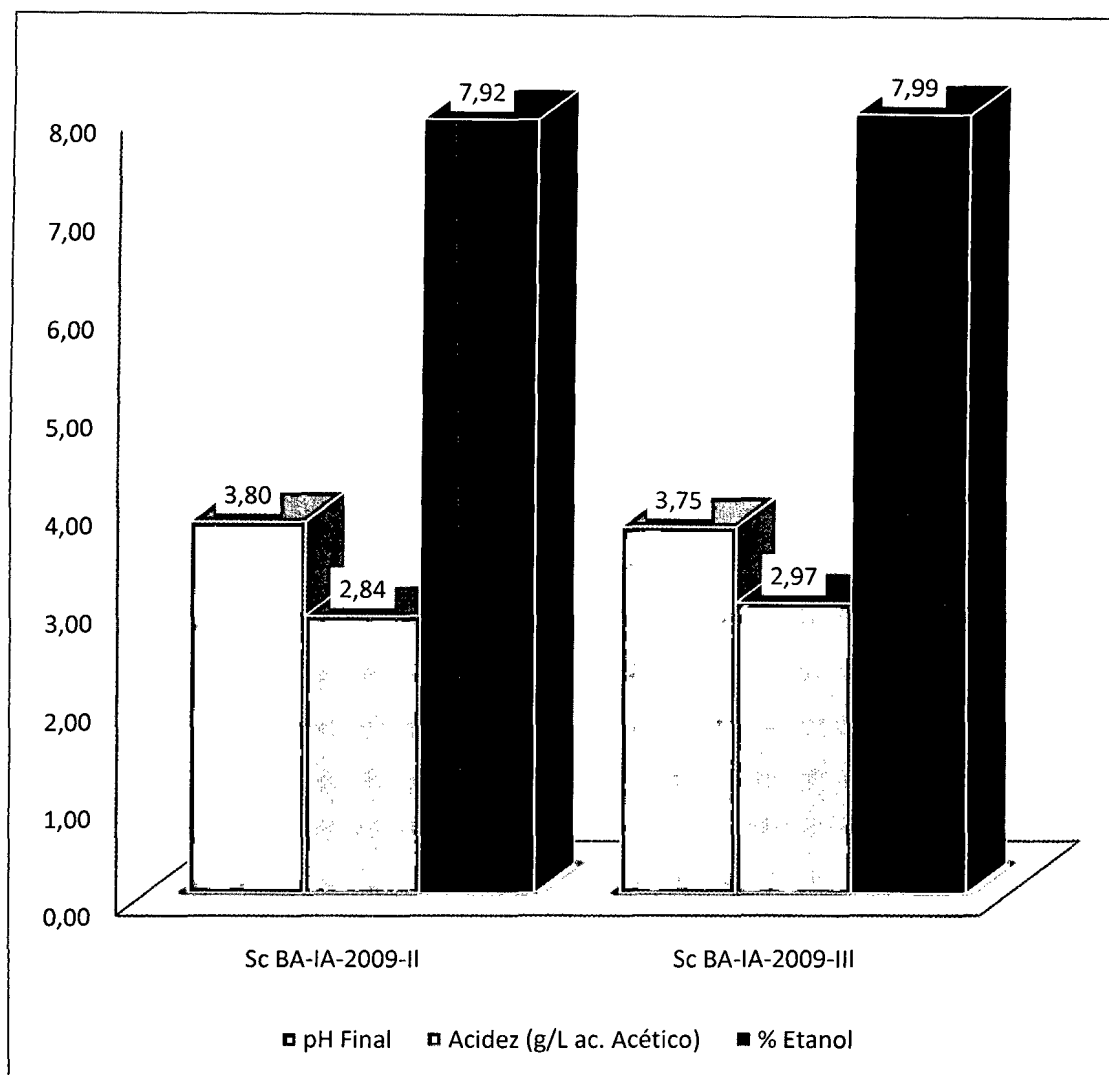
	<b>pH final</b>	<b>Acidez(g/L ac. acético)</b>	<b>% Etanol</b>
<b>Sc BA-IA-2009-II</b>	3,8	2,835	7,92
<b>Sc BA-IA-2009-III</b>	3,75	2,97	7,99



Tal como sostiene Karimi, *et al.*, 2006; teóricamente se puede obtener a partir de 1 gramo de glucosa 0,511 g de etanol. Cuando se fermentan sustratos puros el rendimiento es del 95% y se reduce al 91% cuando se utilizan materias primas grado industrial. 100 gramos de glucosa pura producirán 48,4 gramos de etanol, 46,6 gramos de CO<sub>2</sub>, 3,3 gramos de glicerol y 1,2 gramos de biomasa, bajo condiciones ideales. Sin embargo, al evaluar estos porcentajes en el rendimiento de etanol producido por las cepas nativas utilizando como fuente de azúcar la glucosa (170g/L), resulta para la cepa Sc BA-IA-2009-II un rendimiento de 91,75% relativamente inferior al 95% que refiere Karimi, *et al.*, 2006; por otro lado la cepa nativa Sc BA-IA-2009-III presenta un rendimiento de 92,57%, relativamente mayor que la cepa nativa Sc BA-IA-2009-II (91.75%); la explicación es debido a que esta cepa llega a fermentar débilmente en un medio con 8,0% (v/v) de etanol exógeno, como se muestra en el cuadro 20; mientras la cepa nativa Sc BA-IA-2009-III, llegó a tolerar débilmente hasta 8,5% (v/v) de etanol exógeno y es lógico que también su rendimiento sea relativamente mayor en un medio sintético.

La representación grafica de las características, se muestran en la figura 11. En un medio sintético utilizando la glucosa (170g/L), la fermentación termino en 5 días a 29°C ± 1°C.

En cuanto al pH, las dos cepas manifiestan niveles bajo de pH, producto de la producción de ácidos orgánicos como sub productos de la fermentación; sin embargo estos niveles de pH en la elaboración de chicha de jora confieren mucha astringencia, lo que no seria beneficioso en su aceptabilidad.



**Figura 11:** Comparacion de parametros fisicoquimicos y % de etanol entre las cepas nativas aisladas en un medio sintetico fermentadas  $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

### CUADRO 21

**Características finales del mosto de jora fermentadas con cepas nativas.**

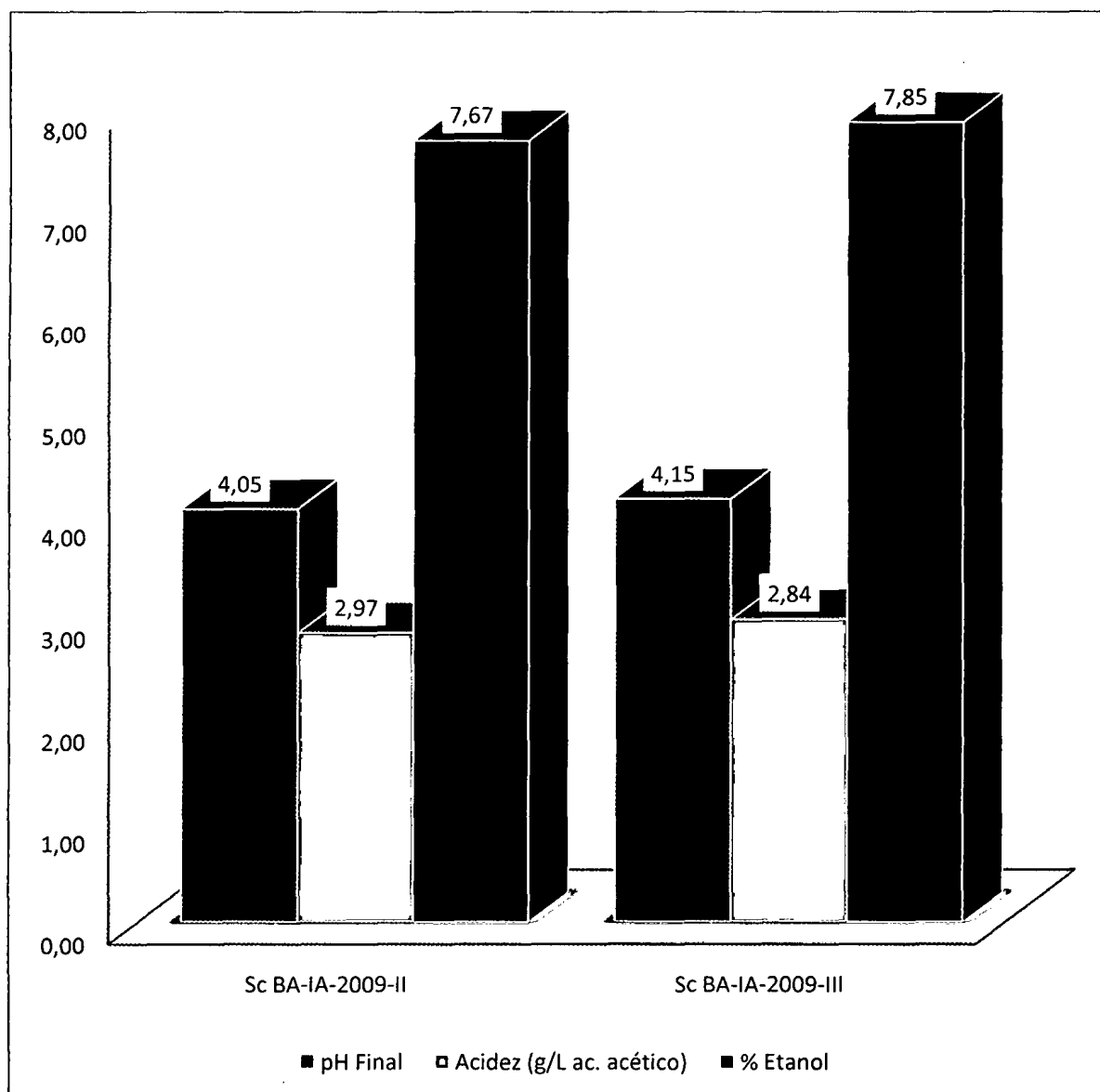
	pH final	Acidez(g/L ac. acético)	% Etanol
Sc BA-IA-2009-II	4,05	2,784	7,67
Sc BA-IA-2009-III	4,15	2,937	7,85

En un mosto de jora 170g/L, la fermentación termino en 4 días a  $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Por otro lado, en la fermentación de mosto de jora con 170g/L de sólidos solubles, la cepa Sc BA-IA-2009-III presenta un rendimiento de producción de etanol de 90,94%; mientras la cepa Sc BA-IA-2009-II presenta un rendimiento de 88,86%. Como notamos, son relativamente menores a los obtenidos cuando se fermento en medio conteniendo solo glucosa como fuente de carbono, pero muy cercanos a lo referido por Karimi *et al.*, 2006, las explicaciones cercanas son debido a la diversidad de azúcares presentes y la calidad en el mosto de jora, además de la cepa; sin embargo no resulta tan negativo esta situación, debido a que en la chicha de jora los valores de alcohol son inferiores a las cantidades producidas por estas cepas.

Trabajos realizadas por Ban-Koffi y Han (1990), Joshi *et al.* (2005) y Ray *et al.* (2006), denotan concentraciones del alcohol del 7%, 8%, 10% y 11,8% (v/v), utilizando células de *Saccharomyces cerevisiae* en pulpa de piña, durazno y marañón, y adicionando sales minerales. En este sentido los porcentajes de etanol obtenidos a partir de mosto sintético y mosto de jora son cercanos a las que se obtienen en otras materias azucaradas.

Referente a la variación del pH, en la figura 12 se observa que en las dos cepas consiguen bajar el pH inicial de los mostos por encima de 4,0; y un nivel de acidez inferior al que se obtiene fermentando en medio sintético, estos resultados están dentro de lo normal, ya que durante el metabolismo de las levaduras se liberan al medio varios ácidos, en especial ácido acético (Abad, 2006), que contribuyen a bajar el pH.



**Figura 12:** Comparación de parámetros fisicoquímicos y % de etanol entre las cepas nativas aisladas fermentadas en mosto de jora a  $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

En los dos experimentos (medio sintético y mosto de jora), las dos cepas aisladas subieron la acidez total inicial. Lógicamente, este aumento fue más significativo en la cepa Sc BA-IA-2009-II, que a su vez bajan más el pH, como consecuencia de la aparición de los ácidos originados por las levaduras (Boned *et al.*, 1992).

Algunos hechos encontrados en la fermentación de ambos medios fue la producción de espuma, donde a las 48 horas fue ligero para ambas cepas, que se relaciona con el vigor fermentativo (Giudici y Zambonelli, 1992a); así mismo que terminada la fermentación, tendían a flocular y dejar un medio con muy poca turbidez; características que son favorables en la obtención de chicha de jora; a la vez podría facilitar la separación de éstos de la bebida.

Tradicionalmente, se ha considerado mejores las cepas capaces de producir más alcohol a partir de un mosto determinado frente a las que producen menos. Basándonos en este criterio, se encontró que la cepa nativa Sc BA-IA-2009-III, es la que mayor etanol produce y lógicamente tolera, por lo tanto la eficiencia de la conversión del azúcar en etanol, que ronda el 92% de rendimiento teórico, implica que esta cepa tuvo una alta actividad específica con escasa producción de biomasa y metabolitos secundarios.

Entonces se afirma, que estas cepas nativas en condiciones anaerobias y en presencia de azúcares fermentables (glucosa pura y mosto de jora), producen entre 7,8% a 8,0 % etanol (v/v).

#### 4.2.4. SELECCIÓN FINAL Y CARACTERÍSTICAS DE LA CEPA SELECCIONADA.

Finalmente, dada la relevancia de la utilización de cultivos iniciadores en la actualidad, es necesario el establecimiento de criterios de selección de cepas que garanticen una optimización del proceso de fermentación y una buena calidad del producto final. En este sentido Degré R., 1993; propuso como características deseables en una cepa el conducir fermentaciones vigorosas con cortas fases de latencia y sin dejar azúcares residuales, tener características fermentativas reproducibles, ser tolerante a presiones elevadas, etanol y temperaturas no óptimas (Ivorra *et al.*, 1999), y flocular o ser fácilmente separables del medio. También se han descrito otros criterios entre los que podemos destacar la capacidad de conducir fermentaciones a baja temperatura (Pretorius, I.S., 2000).

De los resultados de la evaluación desde el punto de vista tecnológico para fermentar un mosto de jora, de las dos cepas más significativas, fue seleccionado la cepa Sc BA-IA-2009-III, para realizar la etapa experimental de esta investigación. Esta levadura presenta características tecnológicas buenas y puede ser definida como sigue:

La cepa Sc BA-IA-2009-III, tolera etanol exógeno de hasta 8,5% (v/v), consecuentemente buena capacidad de producir etanol hasta concentración de 8.0% (v/v) y un rendimiento de 90,94% en mosto de jora; no origina productos turbios, no forma mucha espuma y fácil adaptabilidad a mostos con buen porcentaje de azúcar inicial (170g/L) a temperaturas de  $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Fue aislada de la chicha de jora procedente de San Jerónimo – Andahuaylas.

### 4.3. TECNOLOGIA PARA LA ELABORACION DE CHICHA DE JORA

#### 4.3.1. OBTENCIÓN DE MALTA DE MAÍZ (JORA).

Para la obtención de malta de maíz a partir de la maíz morocho (*Zea mays* L. var. Morocho), se siguió la metodología señalado en el numeral 3.4.1 y el flujograma de la figura 07.

La limpieza provoco una merma de 2.6% del peso y el Maiz morocho (*Zea mays* L. var. Morocho) presenta una humedad inicial de 13,1%. En este sentido, utilizando 15L de agua potable, a una temperatura de remojo de  $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  y una aireación de 68 L/h por un periodo de 10 minutos cada 4 horas, se obtiene una humedad de 43,6% en 53 horas de remojo, los resultados del incremento de agua durante el remojo del grano se muestran en la cuadro 22.

**CUADRO 22**

**Variación de humedad durante el remojo de maiz morocho *Zea mays* L. var. morochon) a  $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$**

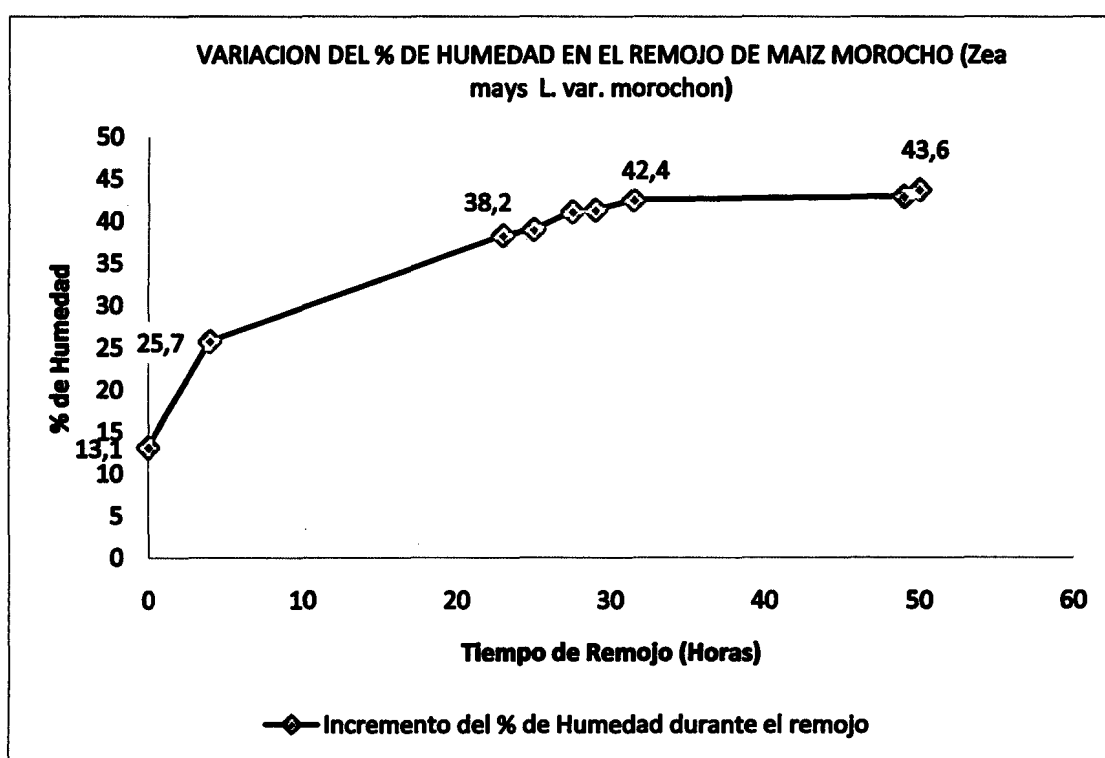
Tiempo (Horas)	Materia seca (%)	% Humedad promedio
0	86,9	13,1
4	74,3	25,7
23	61,8	38,2
25	61,1	38,9
27,5	59,0	41,0
29	58,8	41,2
31,5	57,6	42,4
52	57,2	42,8
53	56,4	43,6

Tal como menciona Hough S., 1990, esta etapa se realiza con el fin de romper el estado durmiente en el grano y activar las enzimas encargadas de degradar el



almidón y las proteínas en pequeñas estructuras fácilmente consumibles por las levaduras durante la fermentación.

En granos el principal componente que inhibe agua es la proteína; sin embargo, otros componentes también se hinchan (Mayer, 1963); en este sentido, lo que se observa también durante el remojo, es el aumento de volumen y peso que experimenta el grano debido a la dilatación de las moléculas de las proteínas solubles, que confirma lo encontrado por Velásquez M., 1982, en el remojo de Maíz cancha de Huaraz.



**Figura 13:** Variación del porcentaje de humedad en el remojo del Maíz morocho (*Zea mays* L. var. morochon) a  $21^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

Como se puede apreciar en el gráfico durante las primeras horas de remojo los granos absorben rápidamente el agua, como se observa el incremento de 13,1% a 25,7% en 4 horas, que se explica con lo mencionado por Gouvea 1983; donde refiere

que el proceso de inhibición de agua de los granos a temperatura constante, inicialmente la cantidad de agua absorbida en función del tiempo da una grafica sigmoideal o exponencial, como lo demostró también Blackow, 1972a, para luego la cantidad de agua absorbida sea proporcional al tiempo; es así que después de 23 horas de remojo, el incremento de humedad en el grano es relativamente bajo y aun mas cuando esta cerca de los 43% de humedad.

Para la germinación de los granos, se siguió las temperaturas optimas para la germinación de maíz cancha de Huaraz encontrados por Velásquez, M. 1982; de  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  en función al poder diastasio; sin embargo, Mayer, 1963; refiere temperatura optima de germinado está entre  $32^{\circ}\text{C} - 35^{\circ}\text{C}$ , que concuerda con los resultados obtenidos por Blacklow M. 1972(a), referidos a la velocidad de crecimiento de radícula y el brote.

De tal manera, germinando entre  $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , las raicillas alcanzan una longitud de 2cm aproximadamente en un tiempo de 76 horas, y los granos de maíz morocho (*Zea mays* L. var. Morochon) tienen un poder germinativo de 96%, considerándose como de buena calidad, es decir sano y fresco; además del alto porcentaje de granos que llegaron a germinar; por lo cual se confirma los estudios de Velásquez, M. 1982; quien afirma que cuando la temperatura es más alta, el porcentaje de germinación es menor y a mayor tiempo éste se incrementa debido a que cuando más altas son las temperaturas de germinación, la acción catalítica de las enzimas que contiene el grano en germinación va disminuyendo alcanzando por lo tanto menores niveles de

germinación, además el porcentaje de peso (%) y de radícula (mm) aumentan conforme transcurre el tiempo de germinación.

Los granos de maíz morocho (*Zea mays* L. var. Morocho), presenta el primer signo de germinación (una protuberancia de la piloriza) entre las 3 horas – 5 horas de iniciado la germinación, hecho que significa que desde entonces realmente se estimula producción de enzimas que hidrolizarán al almidón y es utilizada como indicador por los malteros, como refiere Hornsey I., 2003. Además, se obtiene malta germinada con pocos granos con mínimos brotes por los continuos controles durante el germinado, y por la remoción de la radícula se redujo el desarrollo del brote.

La temperatura de secado empleada por Velásquez M., 1979; que permitió obtener un poder diastásico de 128,1 ° Lintner en maíz cancha de Huaraz fue de 27,3 °C, germinado a medio ambiente (25°C) por 36 horas de germinado; en este sentido se utilizó una temperatura de secado de 26°C ± 1°C, con lo cual se demoró 27 horas aproximadamente, llegando a tener un promedio de 10 % de humedad, humedad que se consideró suficiente para su conservación (Palmer, 1989).

Empleando una temperatura de remojo de 21°C ± 1°C por 50 horas, una temperatura de germinado de 25°C ± 1°C por 76 horas y secado a una temperatura 26°C ± 1°C, se obtiene un poder diastásico de 83,2°Lintner para el maíz morocho (*Zea mays* L. var. Morocho); lo que indica que la formación y producción de enzimas durante el proceso de malteo, fue buena. Por otro lado, Yopez S., 2001, encontró un poder diastásico máximo para maíz opaco-2 de 77,9°Lintner, germinando a 20°C ± 0,5°C por 5 días y una humedad de remojo de 70%.

#### 4.3.2. ELABORACIÓN Y EVALUACION FISICOQUIMICA DE LA FERMENTACION DE LA CHICHA DE JORA CON UNA CEPA NATIVA *Saccharomyces sp.*

La presente etapa corresponde al desarrollo y al cumplimiento de los objetivos propuestos: evaluar la influencia de la temperatura y una velocidad de aireación, en el proceso de fermentación, que permitan obtener chicha de jora con características sensoriales adecuadas empleando una cepa nativa de *Saccharomyces sp.*

Se obtiene en 2 horas 30 minutos de maceración y una cocción a ebullición por 60 minutos, una concentración de 12° Brix y un pH  $5,5 \pm 1$  a partir de malta de maíz morocho (*Zea mays* L. var. Morochon), lo que indica 2,5 veces mucho mayor que lo que se obtiene por métodos tradicionales (4,96°P) y relativamente inferior al obtenido utilizando tecnología cervecera en planta piloto (15,65°P); no obstante el pH encontrado por método tradicional y a nivel planta piloto es de 5,0 (De Florio, E., 1986), ambos indicadores en malta elaborada artesanalmente. El proceso de obtención de mosto de jora se detalla en el numeral 3.4.2.

El desarrollo de la fermentación de la chicha de jora, está influenciada por diversos parámetros fisicoquímicos: pH, temperatura, grado alcohólico, concentración de azúcares, cepa, etc, descrito anteriormente. En este sentido, los valores promedios de los resultados de los cambios fisicoquímicos durante la fermentación a 20°C y 0 L/minutos de aireación de Chicha de Jora utilizando una cepa nativa de *Saccharomyces sp.*, se muestran en la cuadro 23 y figura 14.

### CUADRO 23

**Variación de características fisicoquímicas durante la fermentación de la chicha de jora a 20°C y 0 L/minutos de volumen de aireación.**

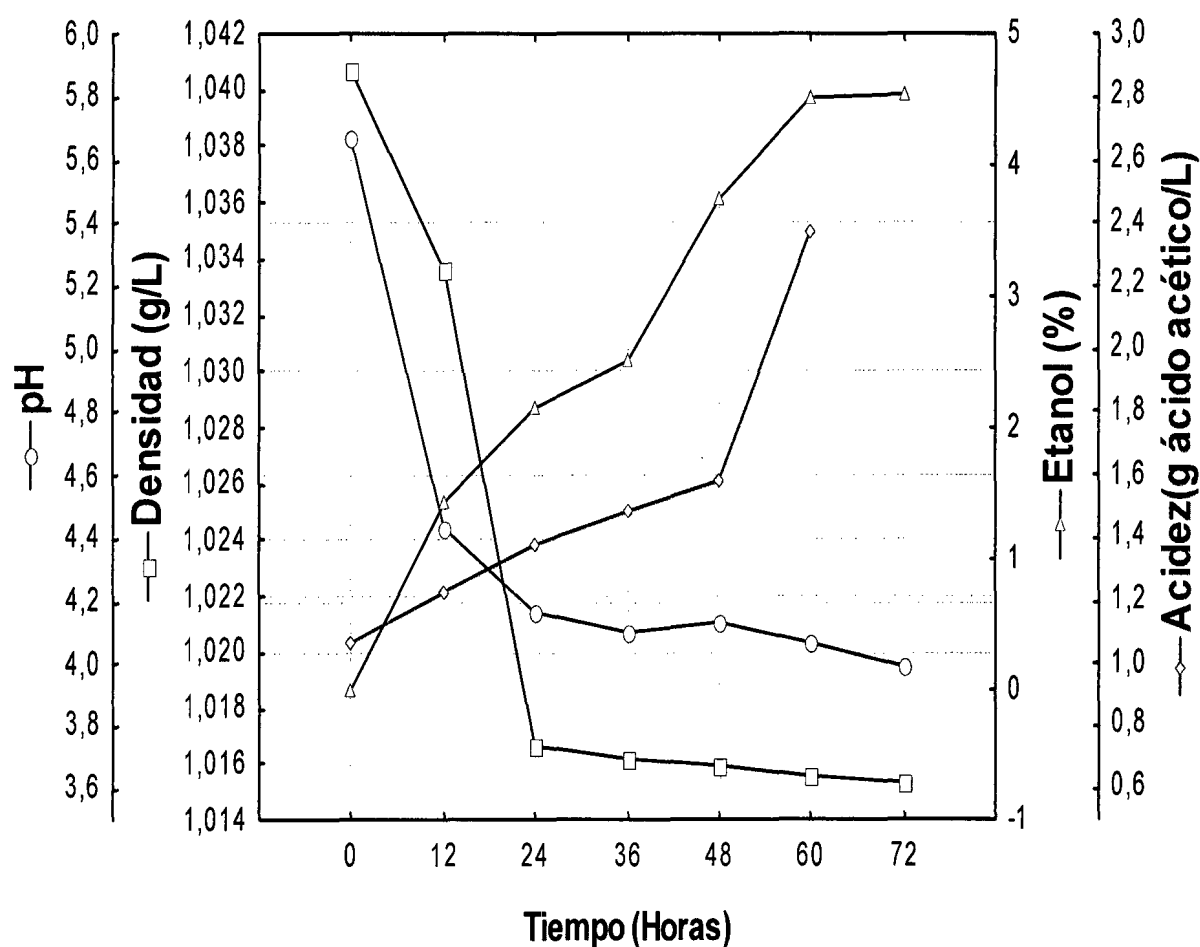
Tiempo (Horas)	pH	Acidez (g/L)	Etanol (%)	Densidad
0	5,600	0,9600	0,000	1,03764
12	4,300	1,7160	1,079	1,02465
24	4,200	1,7800	1,780	1,01933
36	4,133	1,9440	2,508	1,01546
48	4,033	1,9800	3,075	1,01479
60	3,967	2,3196	3,986	1,01336
72	3,953	2,3200	3,992	1,01335

Como se observa en figura 32, el pH a las 12 horas de fermentación presenta un descenso significativo llegando a 4.3, del mismo modo se desarrolla un aumento ligero en la acidez llegando a alcanzar en 12 horas 1.72 g de ácido acético/L, resultado de la rápida acidificación del mosto producto de la fermentación de la cepa nativa *Saccharomyces sp*; sin embargo según Galan G. y Oliver, P., 2004; este cambio es causado por la producción de etanol debido a la transformación de los azúcares del mosto.

A partir de las 24 horas de fermentación el descenso e incremento del pH y acidez respectivamente es relativo, tal es así que al final de la fermentación se logra alcanzar un pH de 3.95 y 2.32g de ácido acético/litro de chicha de jora, que son inferiores al pH encontrados por Quillama E., 1993 en chicha de jora obtenida artesanalmente que corresponde entre 4,0 - 4,5. Sin embargo, se encuentra dentro de los límites encontrados por Manrique de Sáenz, I. 1978; para una chicha elaborada artesanalmente, donde refiere que la acidez se encuentran por debajo de 3,97%. Así



mismo, los valores de pH encontrados en las muestras fluctúan entre 3,9 – 4,0; en este sentido estos resultados encontrados en una chicha de jora elaborada con una cepa nativa a 20°C y sin ningún suministro de aire, confirman características fisicoquímicas similares a las obtenidas por fermentación espontánea en este producto. La pequeña variación se explica por la naturaleza de la cepa y la temperatura de fermentación utilizada.



**Figura 14:** Variación de pH, Acidez y Etanol en la Fermentación a 20°C y 0 L/minutos de aireación de Chicha de Jora utilizando una cepa nativa de *Saccharomyces sp*

Se ha encontrado una fermentación satisfactoria utilizando cepas nativas de *Saccharomyces sp* cuando el pH inicial esta en un valor entre  $5,5 \pm 1$ , debido a que es favorable para la levadura y bajo para inhibir la multiplicación de las bacterias, así como ayuda en la contribución del aroma del producto.

Por otro lado, se evidencia que a medida que transcurre el tiempo de fermentación, incrementa la concentración de etanol, es así que el grado alcohólico alcanzado a la 72 horas es de 3.99% (v/v) utilizando una cepa nativa de *Saccharomyces sp*; que concuerdan con valores encontrados por Quillama E., 1993 (4,0% - 6,0), y de Manrique de Sáenz, I. 1978 (0,8% - 13,2% v/v), además este aspecto es de importancia porque constituye un referente de las características sensoriales de la chicha, como menciona Brown *et al.*, 1989, que los ácidos orgánicos, alcoholes y ésteres son especialmente importantes en el aroma de las bebidas; sin embargo De Florio E., 1986, encontró 7% de alcohol en volumen en una fermentación dirigida con sucedáneo la malta de cebada por *Saccharomyces carlsbergensis*.

Es de mencionar que la cantidad de etanol al final de la fermentación depende principalmente de la concentración de azúcar, cepa y factores ambientales como la temperatura, en este sentido la cepa nativa *Saccharomyces sp* a partir de 10°Brix y 20°C, transforma en 4,0% de etanol, entonces para que las fermentaciones se desarrollen en las mejores condiciones, y adquiera el grado alcohólico deseado, es conveniente que los azúcares sean degradados durante las fases de multiplicación y estacionaria, en las cuales la casi totalidad de la población es viable y muy activa, lo que suele ocurrir sin dificultad cuando la concentración de azúcares no sobrepasa los 200 mg/l (Suárez Lepe, 1997).

Mientras, los valores promedios de los resultados de los cambios fisicoquímicos durante la fermentación a 20°C y 0,8 L/minutos de aireación de Chicha de Jora utilizando una cepa nativa de *Saccharomyces sp*, se muestran en la cuadro 24 y figura 15.

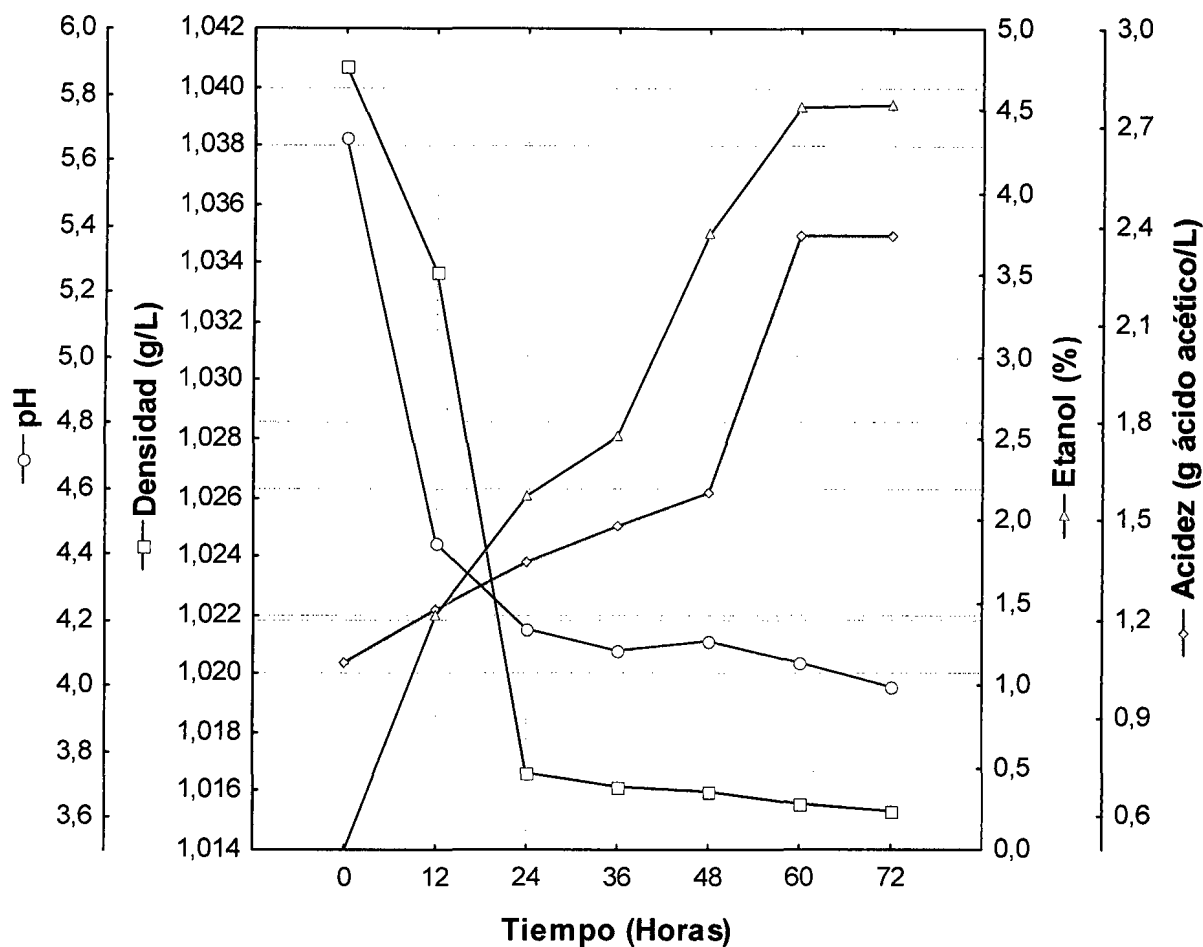
#### CUADRO 24

**Variación de características fisicoquímicas durante la fermentación de la chicha de jora a 20°C y 0,8 L/minutos de volumen de aireación.**

Tiempo (Horas)	pH	Acidez (g/L)	Etanol (%)	Densidad
0	5,667	1,068	0,000	1,0407
12	4,433	1,226	1,429	1,0337
24	4,167	1,374	2,158	1,0166
36	4,100	1,480	2,508	1,0161
48	4,133	1,584	3,747	1,0159
60	4,067	2,369	4,524	1,0156
72	3,997	2,370	4,531	1,0153

De igual manera, en este tratamiento un aspecto importante es el descenso rápido de pH en 12 horas de fermentación que llega a 4,43; que indica un punto mas que realizada a 20°C y 0 L/minutos de aireación, este resultado es producto de que a condiciones aerobias, al inicio de la fermentación las cepas nativas utilizaron el aire para su reproducción dejando de lado la transformación de azúcares en etanol, producto de ello también la acidez que se forma en 12 horas de fermentación es baja 1,23g de ácido acético/L en comparación a la que se realiza sin suministro de aire y a 20°C.

A lo largo de la fermentación se observa que el pH entre las 24 horas y 36 horas sufre un incremento al pasar de 4,10 a 4,13, que se debe a un incremento de temperatura.



**Figura 15:** Variación de pH, Acidez y Etanol en la Fermentación a 20°C y 0,8 L/minutos de aireación de la Chicha de Jora Utilizando cepa nativa de *Saccharomyces sp*

Sin embargo, es muy evidente que a partir de las 12 horas el incremento de la acidez de la chicha de jora es de tendencia lineal y proporcional al tiempo, llegando a las 72 horas en 2,37 g/L, inferior al que se obtiene a la misma temperatura sin suministro de aire (20°C y 0L/minutos). Este valor refleja la incidencia del suministro de aire en la fermentación, a su vez resultado de procesos biosintéticos del mosto y otra importante fracción se forma como consecuencia del metabolismo microbiano de levaduras (Ramón-Portugal *et al.*, 1999).

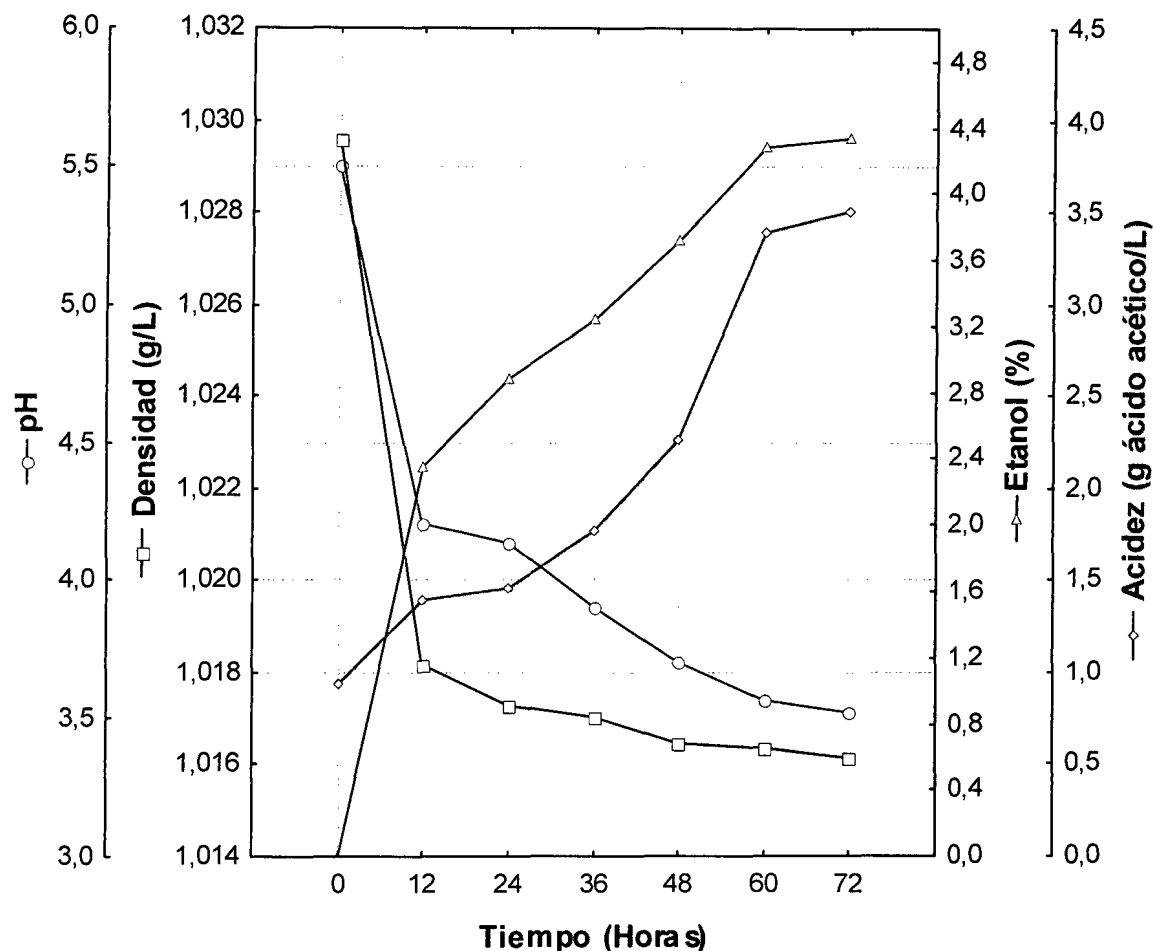
Un aspecto resaltante que se observa en la figura 18, es el incremento notable del etanol a lo largo de la fermentación llegando a obtenerse 4.53% en volumen, que se encuentra dentro del rango encontrados por Quillama E., 1993 (4,0% - 6,0), y de Manrique de Sáenz, I. 1978 (0,8% – 13,2% v/v) en chicha de jora elaborada artesanalmente; además este valor representa el valor máximo obtenido entre los cuatro tratamientos; de aquí se deduce que este efecto positivo del oxígeno está ligado a su participación en la biosíntesis de esteroides y ácidos grasos insaturados de cadena larga que sólo se produce en aerobiosis, jugando un papel fundamental en su integridad y permeabilidad para la producción de etanol y terminar la fermentación (Hidalgo Tagores, 2003), por tanto, fermentando a bajas temperaturas y con micro aireación se condujo a una alta producción de etanol por las cepas nativas *Saccharomyces sp.*

Los valores promedios de los resultados de los cambios fisicoquímicos durante la fermentación a 30°C y 0 L/minutos de aireación de Chicha de Jora utilizando una cepa nativa de *Saccharomyces sp.*, se muestran en la cuadro 25 y figura 16.

#### CUADRO 25

**Variación de características fisicoquímicas durante la fermentación de la chicha de jora a 30°C y 0 L/minutos de volumen de aireación.**

Tiempo (Horas)	pH	Acidez (g/L)	Etanol (%)	Densidad
0	5,50	1,044	0,000	1,0296
12	4,20	1,536	2,346	1,0182
24	4,13	1,620	2,886	1,0173
36	3,90	1,962	3,236	1,0170
48	3,70	2,508	3,714	1,0164
60	3,56	3,766	4,273	1,0163
72	3,52	3,889	4,342	1,0161



**Figura 16:** Variación de pH, Acidez y Etanol en la Fermentación a 30°C y 0 L/minutos de aireación de la Chicha de Jora Utilizando cepa nativa de *Saccharomyces sp*

En este tratamiento con respecto al pH, al igual que en los anteriores tratamientos el descenso es muy significativo a las 12 horas llegando a 4,2; por lo discutido anteriormente; sin embargo, la cantidad de acidez que aumenta en la fermentación es proporcional a la producción de etanol, llegando a un valor mayor superior (3,889g/L), este valor representa el efecto de la temperatura de fermentación, tal como refiere Tuite y Oliver, 1991; que para la producción de etanol la temperatura puede estar en el rango de 30°C - 39°C, ya que la temperatura óptima de crecimiento

de *Saccharomyces cerevisiae* es entre 28°C a 30°C; es decir la fermentación de chicha de jora a una temperatura de 30°C sin suministro de aire, produce una velocidad de consumos de azúcares y producción de etanol en menor tiempo; por consiguiente un incremento en la acidez.

Los ácidos orgánicos, al ser los principales responsables de la acidez total, tienen una demostrada contribución a las características organolépticas finales, así como a la estabilidad biológica y físico-química posterior del mismo. Además, resultan de gran importancia para las levaduras porque pueden ser utilizados como fuente de carbono, contribuir al potencial osmótico intracelular y al equilibrio de cargas, así como intervenir en el control del pH intracelular (Jennings, 1995); en este sentido en el producto final se obtiene una chicha de jora ácida (3.889g/L), que garantizaría su estabilidad biológica y físicoquímica, sin embargo, la alta acidez tiene efecto negativo en las características sensorial.

Por otro lado el descenso del pH hasta un valor de 3,5, es producto de la propagación del inóculo con la cepa nativa *Saccharomyces sp*, como manifiesta Klimovitz R., 2002; en la producción de cerveza, que para un mosto dado produce una cerveza con pH 4.4 cuando se fermenta con levadura de producción normal y puede producir cervezas con pH 3.9 cuando se fermenta con levadura recién salida del propagador, a lo que se añade la naturaleza de la cepa nativa *Saccharomyces sp* y la temperatura de fermentación.

Es de notar también que el etanol producido es menor que los tratamientos anteriores, donde se obtiene 4,34%v/v de etanol en 72 horas, que es inferior al

obtenido a 20 °C y sin suministro de aire (3,99%v/v), valor que es influenciado por la temperatura de fermentación.

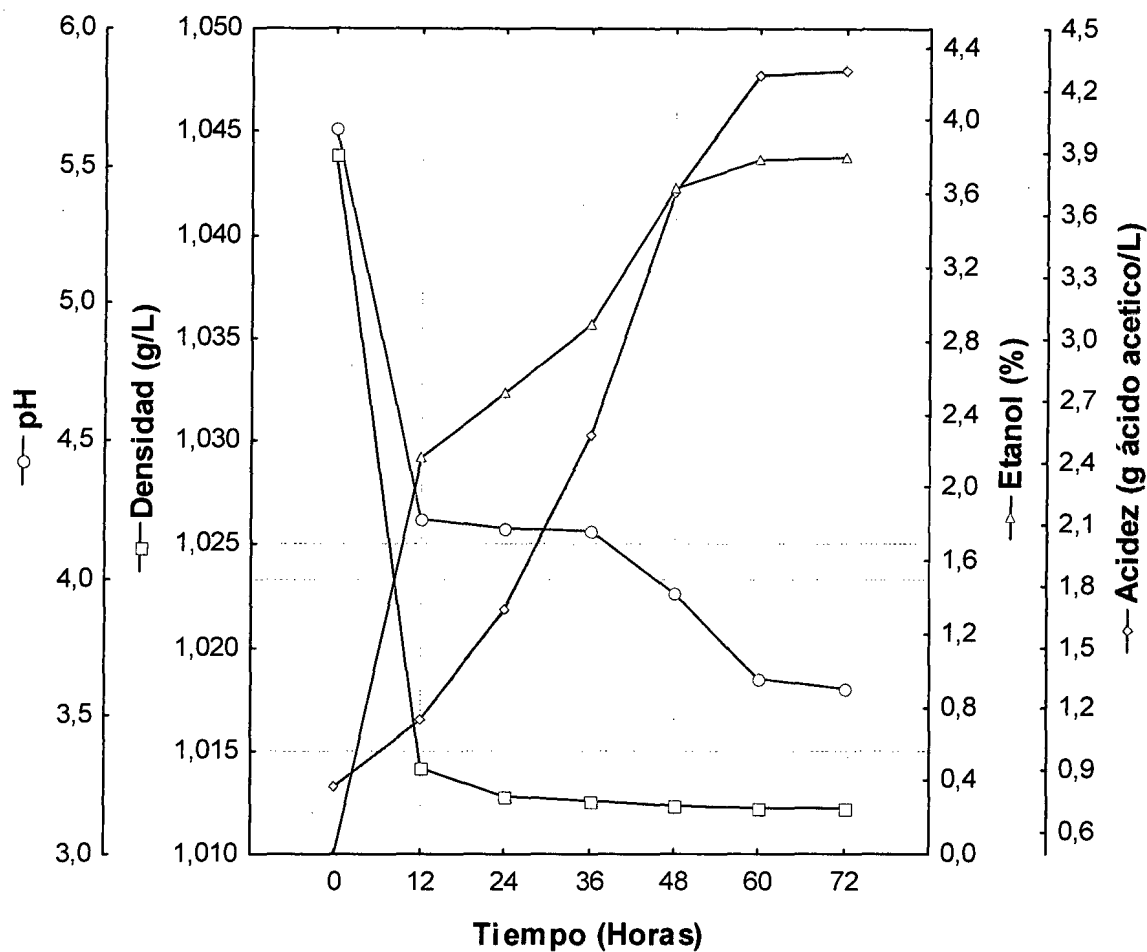
No obstante, cuando se desarrolla a la misma temperatura (30°C) y con suministro de aire de 0,8 L/minutos, la cantidad de etanol producida es menor obteniéndose un valor de 3.80%v/v, mientras la acidez encontrada es de 4.29 g/L muy superior al de los demás tratamientos, que se explica por la temperatura de fermentación utilizada y la aireación (30°C y 0,8 L/minutos de volumen de aireación). En la cuadro 26 y en la figura 17 se muestran los valores promedios de los resultados de los cambios fisicoquímicos durante la fermentación a 30°C y 0,8 L/minutos de aireación de Chicha de Jora utilizando una cepa nativa de *Saccharomyces sp*

#### CUADRO 26

**Variación de características fisicoquímicas durante la fermentación de la chicha de jora a 30°C y 0,8 L/minutos de volumen de aireación.**

Tiempo (Horas)	pH	Acidez (g/L)	Etanol (%)	Densidad
0	5,63	0,820	0,000	1,0439
12	4,22	1,152	2,157	1,0142
24	4,18	1,680	2,508	1,0127
36	4,17	2,520	2,885	1,0125
48	3,95	3,704	3,624	1,0123
60	3,63	4,273	3,791	1,0122
72	3,60	4,296	3,802	1,0122

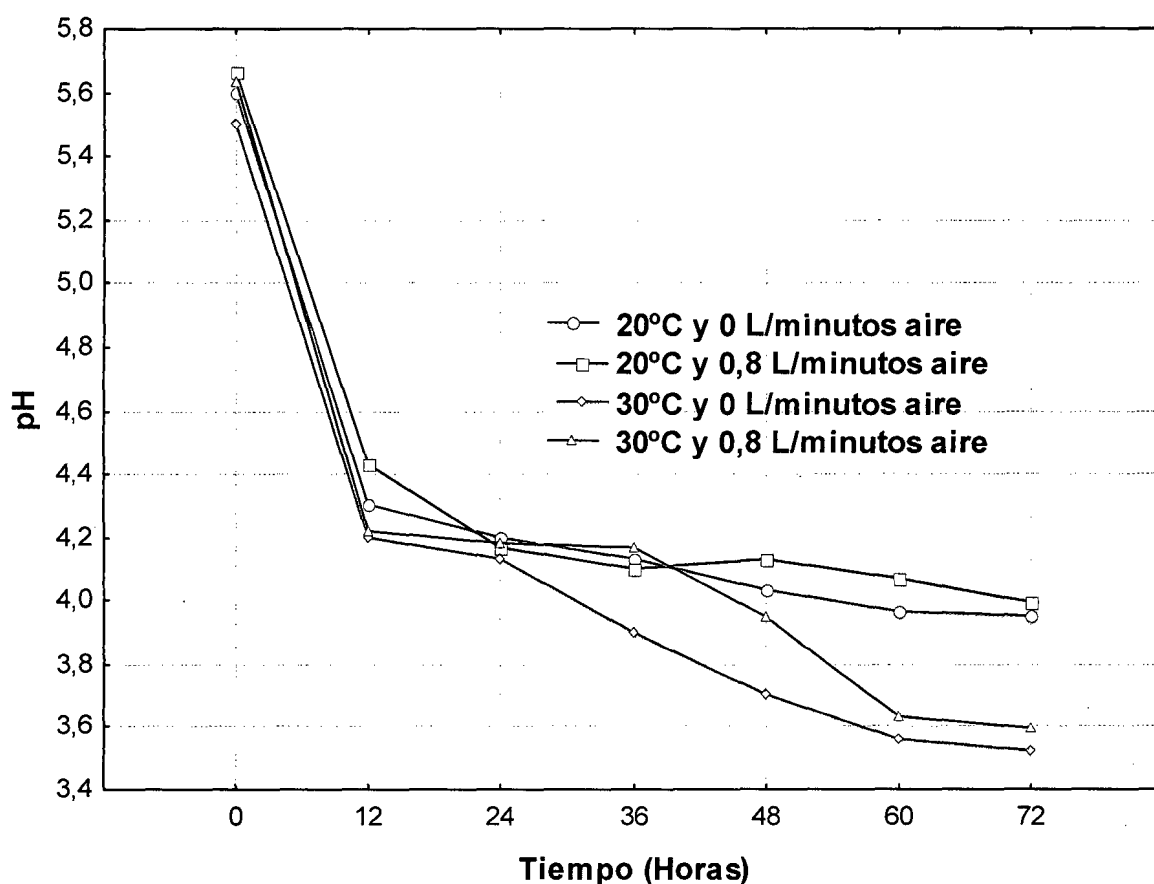
El rendimiento de alcohol es generalmente inferior a temperaturas elevadas; pudiendo deberse a un mayor arrastre por el dióxido de carbono; es decir, a bajas temperaturas las fermentaciones son más lentas pero generalmente el grado alcohólico alcanzado es mayor que a temperaturas elevadas o superiores a los 30°C - 35°C. (Riberau Gayon *et al.*1999).



**Figura 17:** Variación de pH, Acidez y Etanol en la Fermentación a 30°C y 0,8 L/minutos de aireación de la Chicha de Jora Utilizando cepa nativa de *Saccharomyces sp*

Se conoce que *Saccharomyces cerevisiae* tiene la capacidad de alcanzar tasas de glicolisis y de producción de etanol en condiciones óptimas en poco tiempo, pero esta tasa se mantiene sólo por un breve período durante la fermentación y disminuye progresivamente a medida que el etanol se acumula en el medio (Casey y Ingledew, 1977; Ingram y Buttke, 1984); sin embargo en un medio con aireación constante las levaduras optan la vía respiratoria, dejando la producción de etanol; tal es así que en 12 horas se alcanza 2,157% de etanol relativamente mayor al registrado en los demás tratamientos para el mismo tiempo.

La figura 18, muestra el comportamiento del pH en los cuatro (04) tratamientos durante la fermentación de chicha de jora con una cepa nativa de *Saccharomyces sp* en 72 horas. Al comparar los datos obtenidos, se observa que a una temperatura de fermentación de 20°C y 0,8 de volumen de aireación se obtienen el mínimo descenso del pH en 12 horas equivalente a 4,43 (20,89%) y un máximo de 4,2 (25%) para las fermentaciones realizadas a 30°C con 0 L/minutos y 0,8 L/minutos.



**Figura 18:** Variación del pH durante los cuatro tratamientos en la elaboración de chicha de jora utilizando una cepa nativa de *Saccharomyces sp*

El pH cae rápidamente en las primeras etapas (12 horas) de la fermentación, lo que significa que se presenta incremento en la concentración de iones  $H^+$  o acidez.

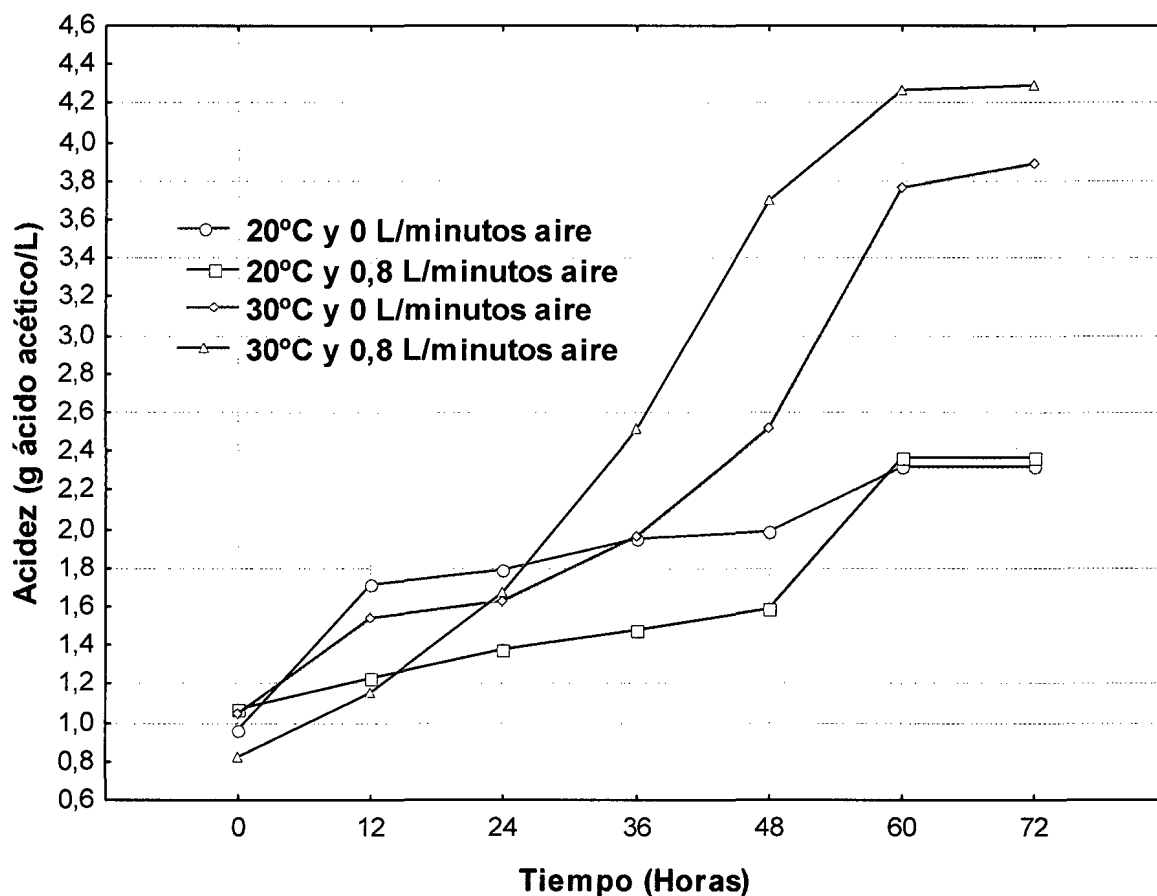
Además las fermentaciones realizadas a 30°C y 0L/minutos de volumen de aireación y 30°C y 0,8L/minutos de aireación, se obtienen pH final de 3.5, producto de la temperatura y la aireación; sin embargo, la curva con mejor desempeño fue aquellas donde la chicha de jora se fermento a 20°C y 0L/minutos de volumen de aireación.

De tal manera que, al ser la malta fuente de compuestos básicos como los iones fosfato y los aminoácidos, también influye en el pH. A mayor cantidad de malta, mayor cantidad de compuestos básicos presentes al comienzo de la fermentación y mayor el pH del producto final (Klimovitz R., 2002); lo que también sería una explicación al descenso bajo de pH en la chicha de jora obtenida con cepa nativa de *Saccharomyces sp.*

Entonces, se afirma que el pH final para la fermentación a 20°C c/s suministro de aire es de 3.9 y para fermentaciones a 30°C c/s suministro de aire es de 3.5, que representa un producto muy ácido.

Sin embargo, la producción de ácidos orgánicos durante la fermentación (figura 19), cuando se desarrolla a 30°C con 0L/minutos y 0,8L/minutos es la más alta alcanzada de los cuatro tratamientos estudiados llegando hasta 4,29g/L que se nota claro en la acidez del producto final.

Tal como refiere Klimovitz, 2002; el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) producido durante la fermentación es débilmente ácido lo que produce un 10% del cambio de acidez, además los ácidos orgánicos, especialmente el succínico, láctico, pirúvico y málico producidos por la levadura, producen otro porcentaje del cambio de acidez durante la fermentación y en mayor grado el ácido acético.

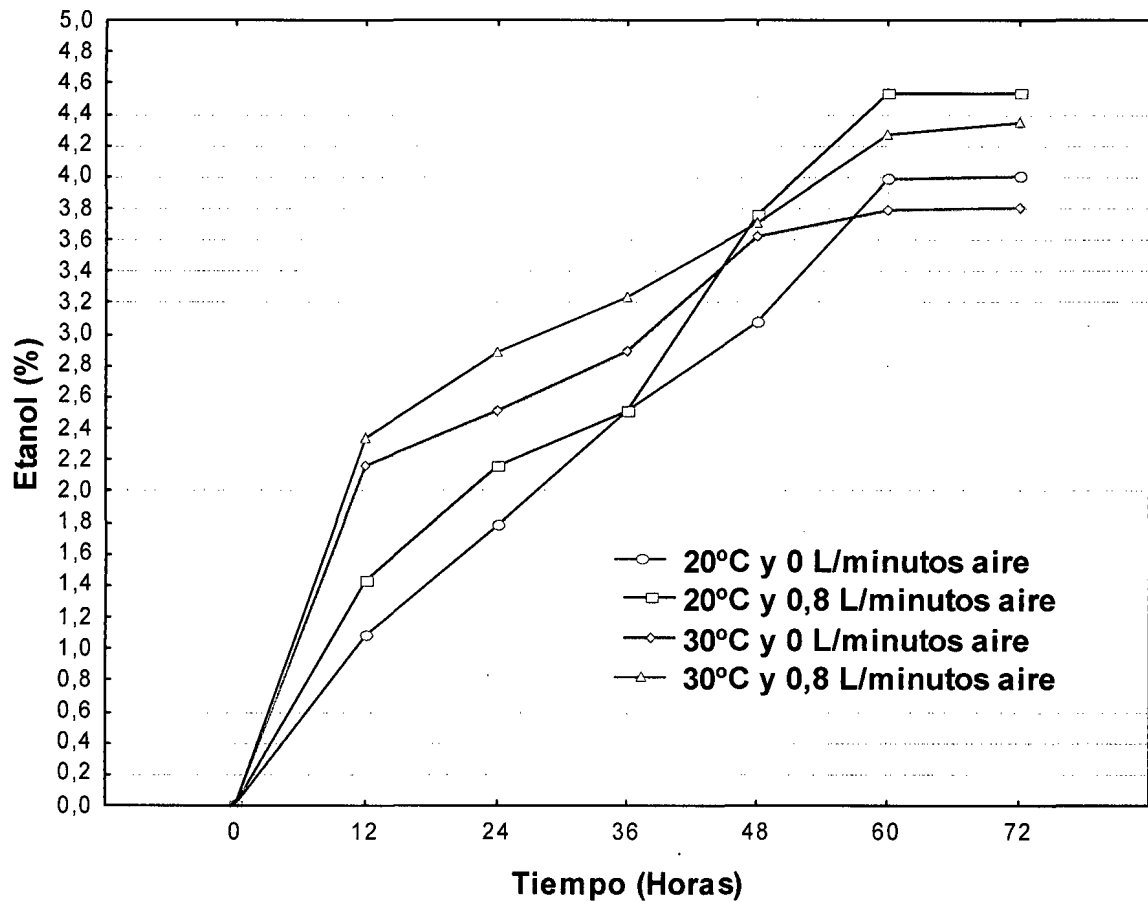


**Figura 19:** Variación del acidez durante los cuatro tratamientos en la elaboración de chicha de jora utilizando una cepa nativa de *Saccharomyces sp*

En la fermentación a 30°C con 0 L/minutos y 0,8 L/minutos de volumen de aireación, durante las 48 horas y 72 horas se desarrolla un desarrollo de la mayor parte de la acidez total de la chicha de jora, producto de que en las primeras horas las cepas nativas degradaron el azúcar del mosto.

La variación del porcentaje de etanol producido por las cepas nativas *Saccharomyces sp*, en la fermentación de chicha de jora, en los cuatro tratamientos de estudio presentada en la figura 20, muestra que para los tratamientos 30°C y 0,8L/minutos de volumen de aireación, donde alcanza 3.8% v/v; y a 20°C y 0L/minutos de volumen

de aireación, el valor obtenido fue de 3,99%v/v, son bastante inferior al promedio general 4,165 % v/v, obteniéndose el valor más alto de etanol con un 4,53% v/v (20°C y 0,8L/minutos de volumen de aireación)..



**Figura 20:** Variación del % Etanol durante los cuatro tratamientos en la fermentación de chicha de jora utilizando una cepa nativa de *Saccharomyces sp*

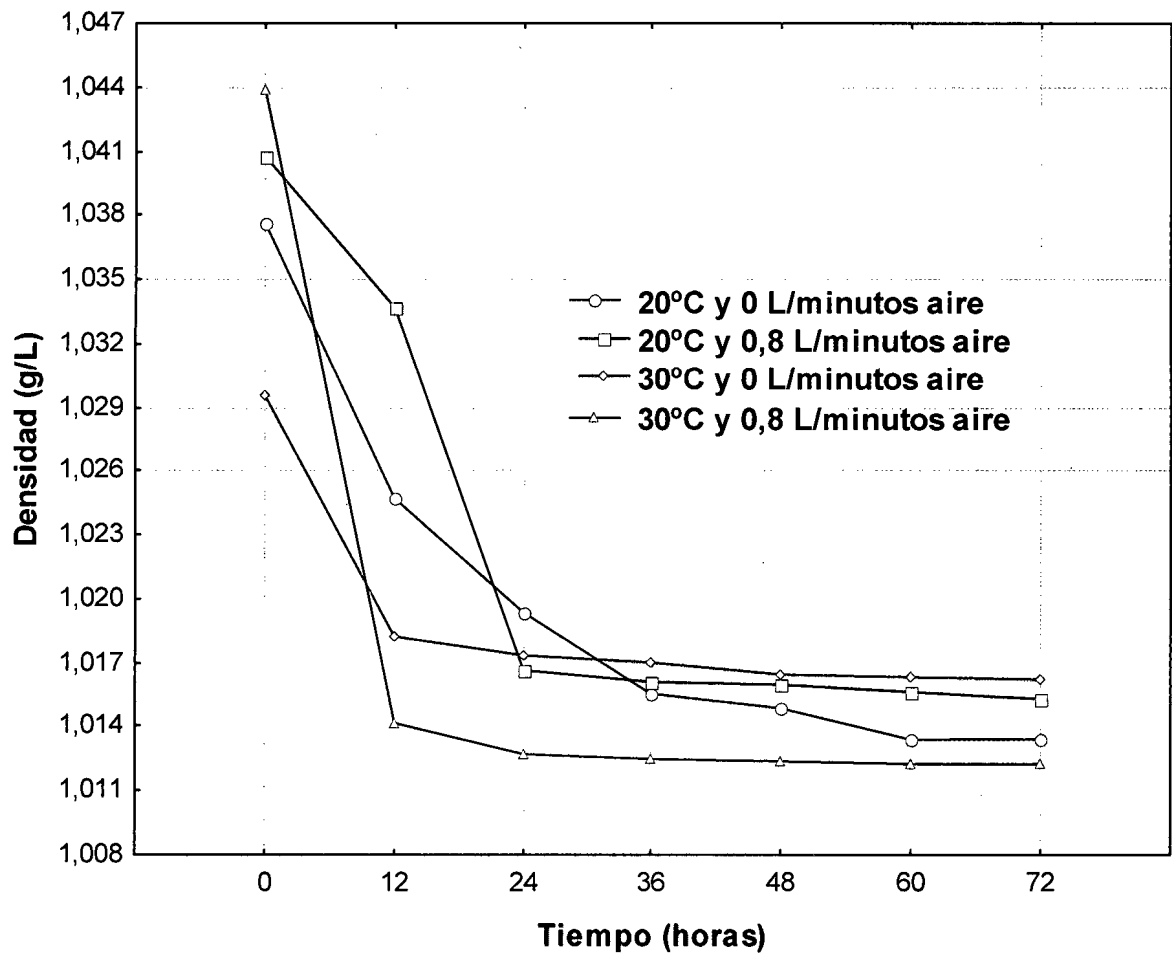
Estos valores coinciden con lo encontrado por Kunze W., 1996; para la cerveza tipo lager, quien indica que el contenido de alcohol puede fluctuar entre 4,2 - 4,4 %v/v; como con los valores de la chicha elaborada artesanalmente ya discutido anteriormente.

Los resultados muestran además, que el contenido mínimo y máximo de etanol en la chicha de jora son de 4,43% y 4,53% respectivamente. Por lo que la cantidad y actividad de levadura inoculada (5%) en la etapa de fermentación, la cantidad de oxígeno disuelto inyectado en el fermentador, son parámetros que influyen en el porcentaje de alcohol obtenido en cada una de los tratamientos (Hudston, 1977; Kunze, 1996).

De acuerdo al análisis estadístico de test de comparación múltiple de Duncan (95% confianza) (apéndice II, cuadro 25), se encontró que existían diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0,05$ ) entre las distintos tratamientos de elaboración para este parámetro. El tratamiento a 20°C y 0,8L/minutos de volumen de aireación arrojó el valor más alto y significativamente distinto del resto de las elaboraciones. El tratamiento a 30°C y 0,8 L/minutos de volumen de aireación alcanzó el valor más bajo y significativamente distinto a las demás.

Otro factor al igual que en la cerveza que determinan su calidad es la densidad; la variación de la densidad en la fermentación de chicha de jora con cepa nativa de *Saccharomyces sp*, se detalla en la figura 21, donde el valor promedio encontrado en la chicha de jora es de 1,0142g/L, relativamente menor que el de la cerveza (Hough S., 1990).

Por otro lado, para los ensayos de fermentación las densidades iniciales del mosto de jora estuvieron en el rango de 1.0376g/L y 1.0407 g/L.



**Figura 21:** Variación de la densidad durante los cuatro tratamientos en la fermentación de chicha de jora utilizando una cepa nativa de *Saccharomyces sp*

#### 4.3.3. EVALUACION SENSORIAL DE LA CHICHA DE JORA ELABORADA CON UNA CEPA NATIVA *Saccharomyces sp*.

Al igual que en otras bebidas alcohólicas fermentadas, las características de la chicha de jora esta influenciada por los compuestos sensoriales que provienen de la materia prima utilizada en su elaboración, en este caso de la jora y por los compuestos que se originan durante la fermentación. Los principales atributos que se evaluaron fueron:

el sabor ácido, sabor agrio, sabor alcohólico, sabor a jora, sabor a levadura, la intensidad de aroma, la intensidad del color pardo oscuro y la aceptabilidad general.

Las evaluaciones han sido realizadas por un panel conformado por ocho jueces entrenados y el promedio de los resultados de sus apreciaciones se muestran en la Cuadro 27 y en la figura 22, se muestra el análisis descriptivo cuantitativo de cuatro tipos de Chicha de Jora obtenida con *Saccharomyces sp.*

En la figura 22 se muestra el perfil descriptivo cuantitativo y comparación sensorial del panel, donde los productos obtenidos a 20°C y 0 L/minutos (T1) y a 20°C y 0,8 L/minutos (T2) es la que reciben la mayor aceptabilidad con un puntaje de 2,5, debido a que este producto tiene características sensoriales similares a la obtenida por métodos tradicionales; por otro lado el producto menos aceptable es el desarrollado a 30°C y 0,8L/minutos (T4), alcanzado 2,0 de puntaje, por la excesiva acidez producida (4,29g/L) y la astringencia que ella genero en el producto. Las respuestas sensoriales de los jueces para la aceptabilidad general de la chicha de jora obtenida se encuentran en el apéndice I, cuadro 08.

Cabe mencionar que uno de los objetivos de la investigación es encontrar el tratamiento adecuado que no tenga efecto significativamente negativo en el valor sensorial del producto final relacionado a la aceptabilidad general. Por lo cual según el panel de jueces el 20°C y 0L/minutos (T1) es la más adecuada en cuanto a la aceptabilidad.

**CUADRO 27.** Promedio de puntuaciones obtenidas del análisis descriptivo cuantitativo en la chicha de jora obtenida con una cepa nativa *Saccharomyces sp.*

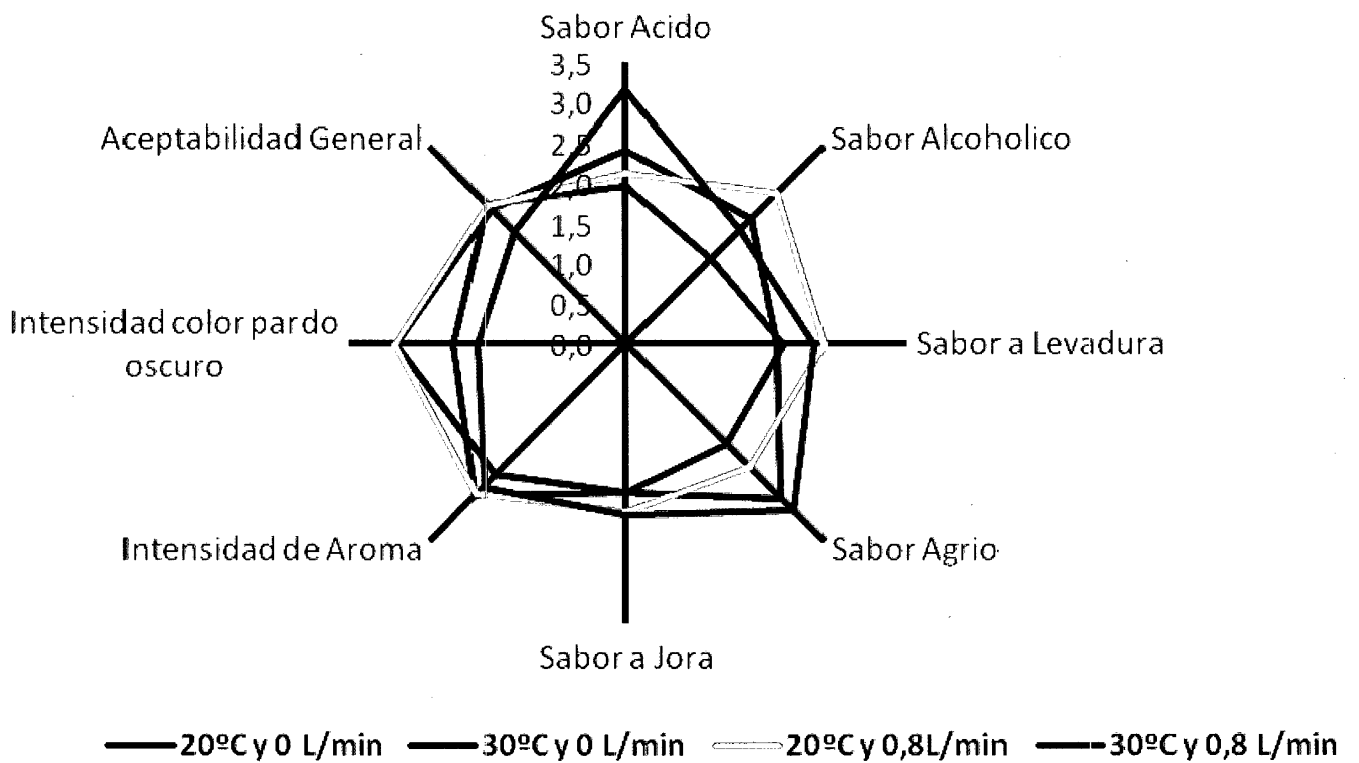
ATRIBUTO	PUNTUACIONES			
	20°C y 0 L/minutos (T1)	30°C y 0 L/minutos (T3)	20°C y 0,8L/minutos (T2)	30°C y 0,8 L/minutos (T4)
	Escala 0-5	Escala 0-5	Escala 0-5	Escala 0-5
Sabor Acido	2,0	2,4	2,1	3,2
Sabor Alcohólico	1,5	2,2	2,7	2,0
Sabor a Levadura	2,0	1,9	2,5	2,4
Sabor Agrio	1,8	2,7	2,2	3,0
Sabor a Jora	1,9	1,9	2,1	2,2
Intensidad de Aroma	2,7	2,3	2,7	2,5
Intensidad Color Pardo Oscuro	2,2	2,9	2,9	1,9
Aceptabilidad General	2,5	2,4	2,5	2,0

En cuanto al sabor acido, según la percepción de los jueces la chicha de jora obtenida a T4 (30°C y 0,8L/minutos), es el que más sabor acido tiene con un puntaje de 3,2, por su parte el producto obtenido a T1 (20°C y 0L/minutos) es la que tiene el menor sabor acido; que ambos influyo en su aceptabilidad general; que en general se contrasta por la alta y baja acidez desarrollada respectivamente durante la fermentación. Las respuestas sensoriales de los jueces para el sabor acido de la chicha de jora obtenida se encuentran en el apéndice I, cuadro 01.

La percepción a sabor alcohólico en la chicha de de jora que mayor sabor alcohólico obtenido es del tratamiento a 20°C y 0,8L/minutos (T2) y el menor aquel que se obtuvo a 20°C y 0L/minutos (T1), que se refleja en el tenor alcohólico obtenido en esos dos tratamientos 4,53% v/v y 3,99% v/v respectivamente. Lo que indica que a condiciones de micro aireación tiende a incrementar. Las respuestas sensoriales de los jueces para el sabor alcohólico de la chicha de jora obtenida se encuentran en el

apéndice I, cuadro 02. En la chicha de jora, el sabor alcohólico está relacionado con la concentración de etanol producido por las levaduras y además con la presencia de otros componentes sensoriales que disminuyen su impacto en el paladar.

El sabor a levadura de la chicha de jora está relacionado con la cantidad de inóculo (5%) utilizado durante la fermentación, es una característica sensorial negativa y los valores umbrales debe disminuirse al máximo. Los resultados de la cuadro 27 muestran que la percepción a “levadura” en la chicha de jora aumenta en los tratamientos en las que se suministro aire 20°C y 0,8L/minutos; 30°C y 0,8L/minutos (T2 y T4), sin embargo en forma general, sus valores de percepción bajos (2,5 como máximo) dan una idea que influye significativamente en el perfil sensorial global del producto. Las respuestas sensoriales de los jueces para el sabor a levadura de la chicha de jora obtenida se encuentran en el apéndice I, cuadro 03.



**Figura 22:** Análisis Descriptivo Cuantitativo de cuatro tipos de Chicha de Jora obtenida con *Saccharomyces sp*

El sabor agrio de la chicha de jora se hace más perceptible aquella que ha sido fermentada a 30°C y 0,8 L/minutos (T4), seguido del desarrollado a 30°C y 0L/minutos (T3) y por último el obtenido a 20°C y 0 L/minutos (T1); que concuerda con la acidez encontrada para cada tratamiento, y por lo que a mayor acidez encontrado, la percepción del sabor agrio, tiende a aumentar. Las respuestas sensoriales de los jueces para el sabor agrio de la chicha de jora obtenida se encuentran en el apéndice I, cuadro 04.

En cuanto al sabor a la jora, está relacionado de forma directa con la calidad de la jora, los resultados muestran que el que menos se percibe es en producto obtenido a 20°C y 0 L/minutos (T1), que se relaciona con la baja producción de etanol, y la mayor percepción de sabor característico a la materia prima empleada es del obtenido a 30°C y 0,8 L/minutos (T4). Las respuestas sensoriales de los jueces para el sabor a jora de la chicha de jora obtenida se encuentran en el apéndice I, cuadro 05.

La intensidad de aroma es una característica positiva en cualquier bebida, se debe a la presencia de esteres de ácidos grasos y ácidos orgánicos producidos mayormente por levaduras durante la fermentación alcohólica, en la chicha de jora la percepción se da en el tratamiento desarrollado a 20°C y 0 L/minutos; 20°C y 0,8 L/minutos (T1y T2), por lo que la temperatura baja influyen la mayor formación de aromas. Las respuestas sensoriales de los jueces para la intensidad de aroma de la chicha de jora obtenida se encuentran en el apéndice I, cuadro 06.

En cuanto al color pardo oscuro, los cuatro tratamientos en la obtención de chicha de jora con cepas nativas *Saccharomyces sp*, la mayor percepción se da en los tratamientos 20°C y 0,8 L/minutos; 30°C y 0 L/minutos (T2 y T3) registrando un valor de 2,9 y un mínimo alcanzado con el tratamiento 30°C y 0,8 L/minutos (T4), dado que esta característica está relacionada con la jora y la temperatura, sin embargo el color está más influenciado por las temperaturas de la maceración y de cocción del mosto, que por la temperatura de fermentación y volumen de aireación. Las respuestas sensoriales de los jueces para la intensidad color pardo oscuro de la chicha de jora obtenida se encuentran en el apéndice I, cuadro 07.

#### **4.3.4. DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE FERMENTACIÓN ESTUDIADOS.**

Los valores promedios de los resultados se muestra en el Cuadro 28-I y 28-II.

##### **4.3.4.1.SABOR ACIDO**

De acuerdo a los jueces, el análisis de varianza ( $p < 0,05$ ) (Apéndice II – cuadro 09 y cuadro 10), registra que existe una influencia altamente significativa dada por los jueces del factor temperatura y volumen de aireación, así como de la interacción de ambos factores durante la fermentación alcohólica, lo que indica que cada tratamiento tiene su efecto sobre el sabor ácido de la chicha de jora obtenida.

Sin embargo, el análisis estadístico de test de comparación múltiple de Duncan (95% confianza) como se detalla en la cuadro 28-I para el sabor ácido de la chicha de jora,

indica que el tratamiento T1, T2, T3 y T4 son estadísticamente distintos entre ellas. Asimismo reporta diferencia significativa entre los tratamientos, además los jueces encontraron el tratamiento con menor sabor ácido al tratamiento a 20°C y 0 L/minutos (T1); mientras que el tratamiento con mayor intensidad de sabor ácido es el producto del tratamiento desarrollado a 30°C y 0,8 L/minutos (T4).

#### **4.3.4.2.SABOR ALCOHOLICO.**

De acuerdo a los jueces, el análisis de varianza ( $p < 0,05$ ) (Apéndice II – cuadro 11 y cuadro 12), reporta una influencia altamente significativo de la interacción de ambos factores y el factor volumen de aireación durante la fermentación de la chicha de jora con respecto a este sabor; mientras el factor temperatura no registra influencia significativa en la percepción de este atributo.

Por otro lado, el análisis estadístico de test de comparación múltiple de Duncan (95% confianza) como se detalla en la cuadro 28-I, para el sabor alcohólico de la chicha de jora; indica que el tratamiento T1, T2, T3 y T4 son estadísticamente distintos entre ellas. Asimismo reporta diferencia significativa entre los tratamientos; de la misma forma los jueces encontraron con menor sabor alcohólico al producto del tratamiento a 30°C y 0,8 L/minutos (T4), mientras que el tratamiento con mayor sabor alcohólico encontrado es del tratamiento desarrollado a 20°C y 0,8 L/minutos (T2).

**Cuadro 28-I**  
**Resumen de la comparación múltiple de Duncan ( $p < 0,05$ ) para los atributos sensoriales evaluados**

	Sabor ácido	Sabor Alcohólico	Sabor a Levadura	Sabor Agrio
<b>T1</b>	1,9750 ± 0,0125 <sup>a</sup>	1,5167 ± 0,163 <sup>a</sup>	1,9733 ± 0,0641 <sup>a</sup>	1,7708 ± 0,0314 <sup>a</sup>
<b>T2</b>	2,1292 ± 0,0190 <sup>b</sup>	2,6767 ± 0,0764 <sup>d</sup>	2.4567 ± 0,0505 <sup>c</sup>	2,1792 ± 0,0190 <sup>b</sup>
<b>T3</b>	2,4208 ± 0,0072 <sup>c</sup>	2,2267 ± 0,0901 <sup>c</sup>	1,8900 ± 0,0375 <sup>a</sup>	2,7333 ± 0,0381 <sup>c</sup>
<b>T4</b>	3,1583 ± 0,0764 <sup>d</sup>	2,0133 ± 0,0125 <sup>b</sup>	2,3567 ± 0,0314 <sup>b</sup>	2,9542 ± 0,0190 <sup>d</sup>

\*Promedio ± D.E. de las evaluaciones de los 08 jueces/ letras distintas en las columnas indican diferencia significativa estadístico entre tratamientos.

**Cuadro 28-II**  
**Resumen de la comparación múltiple de Duncan ( $p < 0,05$ ) para los atributos sensoriales evaluados**

	Sabor a Jora	Intensidad de Aroma	Intensidad Color Pardo Oscuro	Aceptabilidad General
<b>T1</b>	1,8625 ± 0,025 <sup>a</sup>	2,6542 ± 0,0438 <sup>c</sup>	2,1625 ± 0,1068 <sup>b</sup>	2,4667 ± 0,0072 <sup>c</sup>
<b>T2</b>	2,1042 ± 0,0904 <sup>b</sup>	2,6792 ± 0,0144 <sup>c</sup>	2,9167 ± 0,0438 <sup>c</sup>	2,4583 ± 0,0144 <sup>c</sup>
<b>T3</b>	1,8542 ± 0,0314 <sup>a</sup>	2,3167 ± 0,0260 <sup>a</sup>	2,8958 ± 0,0753 <sup>c</sup>	2,3833 ± 0,00721 <sup>b</sup>
<b>T4</b>	2,1542 ± 0,0072 <sup>b</sup>	2,5333 ± 0,0314 <sup>b</sup>	1,8625 ± 0,025 <sup>a</sup>	1,9750 ± 0,0125 <sup>a</sup>

\*Promedio ± D.E. de las evaluaciones de los 08 jueces/ letras distintas en las filas indican diferencia significativa entre tratamientos.

**LEYENDA:**

T1 = 20°C y 0 L/minutos; T2 = 20°C y 0,8 L/minutos; T3 = 30°C y 0 L/minutos y T4 = 30°C y 0,8 L/minutos

#### 4.3.4.3.SABOR A LEVADURA

De acuerdo a los jueces, el análisis de varianza ( $p < 0,05$ ) (Apéndice II – cuadro 13 y cuadro 14), reporta una influencia altamente significativo del factor temperatura de fermentación y volumen de aireación, mientras la interacción de ambos no es significativo en la percepción del sabor a levadura; con base en esto se podría inferir que la temperatura de fermentación en la chicha de jora con *Saccharomyces sp* tienen efecto relevante en la formación de sabor a levadura en este producto.

Por otro lado, el análisis estadístico de test de comparación múltiple de Duncan (95% confianza) como se detalla en la cuadro 28-I, para el sabor a levadura de la chicha de jora indica que el tratamiento a 20°C y 0 L/minutos (T1) y 30°C y 0 L/minutos (T3) son estadísticamente iguales entre ellas; sin embargo el T2 (20°C y 0,8 L/minutos) y T4 (30°C y 0,8 L/minutos), son estadísticamente diferentes entre los dos y los demás. Asimismo, el tratamiento calificado por los jueces con menor sabor a levadura es el producto del tratamiento a 30°C y 0 L/minutos (T3) mientras que el tratamiento con mayor sabor a levadura es el producto del tratamiento a 20°C y 0,8 L/minutos (T2).

#### 4.3.4.4.SABOR AGRIO.

De acuerdo a los jueces, el análisis de varianza ( $p < 0,05$ ) (Apéndice II – cuadro 15 y cuadro 16), reporta una influencia altamente significativo del factor temperatura y volumen de aireación e interacción de ambos durante la fermentación alcohólica, lo que indica que cada factor tiene su efecto sobre el sabor agrio, que a su vez esta influenciado por la acidez de la chicha de jora.

Sin embargo, el análisis estadístico de test de comparación múltiple de Duncan (95% confianza) como se detalla en la cuadro 28-I, para el sabor agrio de la chicha de jora indica que el tratamiento T1, T2, T3 y T4 son estadísticamente distintos entre ellas. Asimismo reporta diferencia significativa entre los tratamientos, el tratamiento calificado por los jueces con menor sabor agrio fue el producto del tratamiento 20°C y 0 L/minutos (T1) mientras que el tratamiento con mayor intensidad de sabor agrio es el producto del tratamiento 30°C y 0,8 L/minutos (T4).

#### **4.3.4.5.SABOR A JORA.**

De acuerdo a los jueces, el análisis de varianza ( $p < 0,05$ ) (Apéndice II – cuadro 17 y cuadro 18), reporta una influencia altamente significativo del factor volumen de aireación; mientras el factor temperatura y la interacción de ambos factores no son significativos en la fermentación, lo que indica que el factor temperatura y la interacción de ambos factores no tiene su efecto sobre el sabor a jora.

Por otro lado, el análisis estadístico de test de comparación múltiple de Duncan (95% confianza) como se detalla en la cuadro 28-II, para el sabor a jora de la chicha de jora indica que el tratamiento T1 (20°C y 0 L/minutos) y T3 (30°C y 0 L/minutos) son estadísticamente iguales entre ellas; sin embargo el T2 (20°C y 0,8 L/minutos) y T4 (30°C y 0,8 L/minutos), son estadísticamente iguales; así mismo, el tratamiento calificado por los jueces con menor sabor a jora es el producto del tratamiento a 30°C y 0 L/minutos (T3); mientras que el tratamiento con mayor sabor jora es el producto del tratamiento a 30°C y 0,8 L/minutos (T4).

#### **4.3.4.6.INTENSIDAD DE AROMA.**

De acuerdo a los jueces, el análisis de varianza ( $p < 0,05$ ) (Apéndice II – cuadro 19 y cuadro 20), reporta una influencia altamente significativo dada por los jueces del factor temperatura, volumen de aireación e interacción de ambos factores durante la fermentación de la chicha de jora, lo que indica que cada factor tiene su efecto sobre la intensidad de aroma.

Por otro lado, el análisis estadístico de test de comparación múltiple de Duncan (95% confianza) como se detalla en la cuadro 28-II, para la intensidad de aroma de la chicha de jora indica que el producto del tratamiento T1 (20°C y 0 L/minutos) y T2 (20°C y 0,8 L/minutos) son estadísticamente iguales entre ellas, mientras el producto del T3 (30°C y 0 L/minutos) y T4 (30°C y 0,8 L/minutos) son estadísticamente diferentes entre ambos y los demás tratamientos. Así mismo, el producto calificado por los jueces con menor intensidad de aroma fue el producto del tratamiento a 30°C y 0 L/minutos (T3) mientras que el tratamiento con mayor intensidad de aroma es el producto del tratamiento a 20°C y 0,8 L/minutos (T2).

#### **4.3.4.7.INTENSIDAD COLOR PARDO OSCURO.**

De acuerdo a los jueces, el análisis de varianza ( $p < 0,05$ ) (Apéndice II – cuadro 21 y cuadro 22), reporta una influencia altamente significativo dada por los jueces del factor temperatura y volumen de aireación, así como de la interacción de ambos factores durante la fermentación alcohólica, lo que indica que cada factor tiene su efecto sobre la intensidad del color pardo oscuro.

Sin embargo, el análisis estadístico de test de comparación múltiple de Duncan (95% confianza) como se detalla en la cuadro 28-II, para la intensidad del color pardo

oscuro de la chicha de jora indica que el producto del tratamiento a 20°C y 0,8 L/minutos (T2) y a 20°C y 0,8 L/minutos (T3) son estadísticamente iguales entre ellas, mientras T1 (20°C y 0 L/minutos) y T4 (30°C y 0,8 L/minutos) son estadísticamente diferentes entre ambos y los demás tratamientos. Así mismo, el tratamiento calificado por los jueces con menor intensidad del color pardo oscuro fue el producto del tratamiento a 30°C y 0,8 L/minutos (T4); mientras que el producto del tratamiento con mayor intensidad del color pardo oscuro es a 20°C y 0,8 L/minutos (T2).

#### **4.3.4.8. ACEPTABILIDAD GENERAL.**

De acuerdo a los jueces, el análisis de varianza ( $p < 0,05$ ) (Apéndice II – cuadro 23 y cuadro 24), reporta una influencia altamente significativo del factor temperatura y volumen de aireación, así como de la interacción de ambos durante la fermentación alcohólica, lo que indica que cada factor tiene su efecto sobre la aceptabilidad general.

Por otro lado, el análisis estadístico de test de comparación múltiple de Duncan (95% confianza) como se detalla en la cuadro 28-II, para la aceptabilidad general de la chicha de jora indica que el producto del tratamiento a 20°C y 0 L/minutos (T1) y 20°C y 0,8 L/minutos (T2) son estadísticamente iguales entre ellas, mientras T3 (30°C y 0L/minutos) y T4 (30°C y 0,8 L/minutos) son estadísticamente diferentes entre ambos y los demás tratamientos. Así mismo, el tratamiento calificado por los jueces con menor aceptabilidad general es el tratamiento a 30°C y 0,8 L/minutos (T4); mientras que el tratamiento con mayor aceptabilidad general oscuro es el tratamiento a 20°C y 0 L/minutos (T1).

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

### 5.1. CONCLUSIONES

- ✚ Se aisló una cepa nativa de levadura y fue identificada como *Saccharomyces sp*, codificada como Sc BA-IA-2009-III, la misma tolera etanol exógeno de hasta 8,5% (v/v), consecuentemente buena capacidad de producir etanol hasta concentración de 8.0% (v/v) y un rendimiento de 90,94% en mosto de jora; no origina productos turbios, no forma mucha espuma y fácil adaptabilidad a mostos con buen porcentaje de azúcar inicial (170g/L) a temperaturas de  $29^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ; y fue aislada de la chicha de jora procedente de San Jerónimo – Andahuaylas (Chichería Estancia).
  
- ✚ A una temperatura de fermentación de  $20^{\circ}\text{C}$  y 0 L/minutos de volumen de aireación, la chicha de jora elaborada con *Saccharomyces sp*, presenta la mejor aceptabilidad general de acuerdo a los jueces, por poseer buena intensidad de aroma, menor sabor ácido y agrio; mientras que la temperatura de fermentación que mejor sabor alcohólico y mejora la intensidad de color pardo oscuro en la chicha de jora obtenida con *Saccharomyces sp*. es de  $20^{\circ}\text{C}$  y 0,8 L/minutos; por consiguiente bajas temperaturas sin aireación influyen y presentan mejor aceptabilidad general de la chicha de jora elaborada con una cepa nativa y bajas temperaturas con aireación influyen positivamente en el sabor alcohólico y intensidad de color pardo oscuro.

- ✦ A una temperatura de fermentación de 30°C y 0 L/minutos de volumen de aireación, se obtiene un producto con menor sabor a levadura, menor sabor a jora y una menor intensidad de aroma; mientras a una temperatura de fermentación de 30°C con 0,8 L/minutos de volumen de aireación se obtiene mayor sabor ácido, menor sabor alcohólico, mayor sabor a jora, mayor sabor agrio y menor intensidad del color pardo oscuro; por consiguiente altas temperaturas de fermentación y con aireación influye en la puntuación alta del sabor ácido y sabor agrio por la acidez formada y que disminuye su aceptabilidad general; no obstante, altas temperaturas de fermentación y sin aireación mejoran la puntuación del sabor a jora de la chicha de jora elaborada con cepas nativas de *Saccharomyces sp.*
  
- ✦ La cepa nativa *Saccharomyces sp* influye en la formación de características sensoriales característicos y que mejoran la aceptabilidad general de la chicha de jora, por presentar un contenido de alcohol de 3,99% (v/v), una acidez de 3,99g/L de ácido acético, pH igual a 3,93 y una densidad de 1,0133g/L; que se encuentran dentro del rango de la chicha de jora elaborada artesanalmente por fermentación espontánea.

## 4.2. RECOMENDACIONES

- ✦ Se debe caracterizar por técnicas analíticas más avanzadas los componentes de la chicha de jora obtenida con cepas nativas *Saccharomyces sp*, en lo que se refiere metabolitos secundarios de la fermentación que influyen en las características sensoriales.
- ✦ Identificación de la especie a la cual pertenece la cepa Sc BA-IA-2009-III *Saccharomyces sp*. y capacidad de fermentación en condiciones extremas.
- ✦ Estandarizar los parámetros fisicoquímicos de la chicha de jora obtenida con cepas nativas que permita normalizar este producto oriundo del Perú.
- ✦ Evaluar la influencia de la concentración de inóculo de *Saccharomyces sp*. en las características fisicoquímicas y sensoriales de la chicha de jora con mosto de jora elaborado artesanalmente y tecnológicamente.
- ✦ Determinar métodos de conservación de la chicha de jora obtenida con *Saccharomyces sp* y su vida útil.

## BIBLIOGRAFÍA

- Abad, E. 2006. Selección de levaduras autóctonas para la elaboración de vinos tintos para bodegas y viñedos de Trujillo S.L. Departamento de Tecnología de los Alimentos. Universidad Politécnica De Madrid. Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos. P. 115.
- Acevedo, A; Godoy, R. y Bolaños, G. 2003. Incremento de la producción de alcohol, en fermentación de melazas mediante la utilización del complejo enzimático Rhyzozyme. XXII Congreso Colombiano de Ingeniería Química. Bucaramanga. Agosto 13-15.
- Aguilar, B & FranYios, J. 2003. A study of the yeast cell wall composition and structure in response to growth conditions and mode of cultivation. Letter in Applied microbiology, 37: 268 – 274 pp.
- American Society of Brewing Chemists 1976. Methods of Analysis, 7ma ed., Beer Method 8-A. Madrid.
- Arias Armando, Barrio Eladio, Belloch Carmela, Quillama Elena y Querol Amparo. 2009. Caracterización fisiológica y enzimática de *Saccharomyces cerevisiae* aisladas de masato, bebida fermentada tradicional de Perú. EN: XIII congreso nacional de biotecnología y bioingeniería. México
- Ariza, B. y Gonzalez, L. 1997. Producción de Proteína Unicelular a partir de levaduras y melaza de caña de azúcar como sustrato. Tesis de pregrado Bacteriología. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Departamento de Bacteriología. Bogotá. Colombia. 22-27p.
- Association of Brewing master of America. 1977. Practical Brewer of Madison Wisconcy. Editorial ABMA. Septima edición.'Pág. , 205-271.
- Association of Official Analytical Chemists 1975. Official Methods of Analysis. 12th ed. The Association: Washington, D.C. p. 942.
- Association of Official Analytical Chemists. 1995. Official Methods of Analysis 16th ed. The Association: Washington, D.C.
- Association of Official Analytical Chemists. 1998. Official Methods of Analysis 16<sup>th</sup>. Edition. Association of Analytical Chemistry, Arlington, Washington D.C.

- Aycachi, R. 2009. Producción de bioetanol. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Pedro Ruiz Gallo.
- Baker, C. 1994. Curso conservación de papel en archivos, conservación de los objetos de papel. Centro Nacional de Conservación y Restauración, Santiago de Chile.
- Bamforth, W. C. 2005. Food, Fermentation and Micro-organisms, 1 ed. Blackwell Science Oxford, UK.
- Ban-Koffi, L., Han, Y. W. 1990. Alcohol production from pineapple waste. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 6 (3): 281-284.
- Barnett J.A., 1992. "The taxonomy of the genus *Saccharomyces* Meyen ex Reess: a short review for non taxonomists. *Yeast*, 8:1-23
- Barnett, J. A.; Payne, R. W.; Yarrow, D. 1990. *Yeasts: characteristics and identification*. (2nd ed.). Cambridge University Press, Cambridge.
- Bavaria S.A. 1980. Curso de maltería y cervecería. Colombia. 78p.
- Becker, J. y Boles, E. 2003. A modified *Saccharomyces cerevisiae* strain that consumes L-arabinose and produces ethanol. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol 69 Number 7: 4144 – 4150.
- Bellissimi, E y Ingledew, W. 2004. Metabolic acclimatization: preparing active dry yeast for fuel ethanol production. *Process Biochemistry*. Vol 40. 2205-2213 pp.
- Bellmer, H.G. 1975. "The importance of barley and malt, used in the production of beer, according to the "German Law of Purity in the production of beer". *Proc. European Brewery Convention*. Monograph-II, Zeist, 41-55.
- Beltran, G., Torija, M.J., Novo, M., Ferrer, N., Poblet, M., Guillamón, J.M., Rozès, N. y Mas, A. 2002. Analysis of yeast population during alcoholic fermentation: a six year follow-up study. *Syst. Appl. Microbiol.*
- Bisson, L.F. 1999. Stuck and sluggish fermentations. *Am. J. Enol. Vitic.* 50, 107-119.
- Blackow W. M., 1972a. Mathematical description of the influence of temperature and seed quality on inhibition by seeds of corn (*Zea mays* L.). *Crop Science* 12:643-646
- Boekhout T, Kutzman C. 1996. Principles and methods used in yeast classification, and an overview of currently accepted yeast genera. En: Wolf K (Eds.) *Nonconventional Yeasts in Biotechnology: A Handbook*. Berling, Germany: 1-81.



- Boned F. Colomo B. y Suarez J.A. 1992. Selección de levaduras vínicas de la D.O. Bierzo en base a sus propiedades fisiológicas de interés industrial I. caracterización de cepas autóctonas. *Vitivinicultura*, 3:37-41
- Boulton R.B., Singleton V.L., Bisson L.F. and Kunkee R.E. 1996. Teoría y práctica de la elaboración del vino. Editorial Acribia S.A. Zaragoza.
- Briggs, D.E.; Hough, J.S.; Stevens, R.; Young, T.W. 1981. *Malting and Brewing Science*. 2nd Edition, Chapman and Hall, London.
- Broderick, H.M. 1977. *The practical Brewer*. Master Brewers Association of the Americas, Madison Wisconsin 53705, USA.
- Brown, C., Campbell, I., y PRIEST, F. 1989. Introducción a la biotecnología. Editorial acribia, Zaragoza. España. 167 p.
- Brown,S.W.; Oliver,S.O.; Harrison, D.E.F.; & Righelato,R.C.1981. Ethanol inhibition of yeast growth and fermentation Differences in the magnitude and complexity of dic effect. *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*11, 151-155
- Byong, L. 2000. Fundamentos de biotecnología de los alimentos. Zaragoza, España.
- Callejo, G. M. J., 2002. Maltería en: Industria de cereales y derivados. Ed. Mundiprensa 1ra ed. Madrid España.
- Calzada A., Bueno A. y Sánchez M.M. 2000. El inicio de la replicación del ADN. Artículo de Ciencia al DÍA Internacional.5: 7-9
- Cámara-Hernández J, y D. Arancibia de Cabezas. 1996. El maíz y sus usos en la Quebrada de Humahuaca. *Jujuy Cultural* 5. 1º Cuatrimestre. Jujuy, Argentina.
- Canales, C. *et al.* 2003. Guía de mejores técnicas disponibles en España del sector cervecero. Dirección General de Calidad y Evaluación Ambiental. Ministerio del Medio Ambiente. España.
- Carballo, F. 2000. Microbiología industrial: microorganismos de interés industrial. Editorial Acribia. España. p. 20-31
- Caridi, A. 2003. Effect of Protectants on the fermentation performance of wine yeasts subjected to osmotic stress. *Food Technol Biotechnol* 41 (2): 145-148.

- Carioca, J. O. B. y Arora, H. L. *Biomassa: fundamentos e aplicações tecnológicas*. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 1984. 644 p.
- Casey, G.P. e Ingledew, W.M. (1986): Ethanol tolerance in yeasts. *Crit. Rev. Microbiol.*, 13, 219-290.
- Caylak, B y Vardar, F. 1998. Comparison of Different Production Processes for Bioethanol. *Turk J Chemistry*. 22:351 – 359.
- Chandrakant, P., Bisaria, V. 2000. Simultaneous bioconversion of glucosa and xylose to etanol by *Saccharomyces cerevisiae* in the presence of xylose isomerase. *Applied Microbiology and Biotechnology* 53: 301- 309.
- Chi, Z. y N. Arneborg. 1999. Relationship between lipid composition, frequency of ethanol-induced respiratory deficient mutants, and ethanol tolerance in *Saccharomyces cerevisiae*. *J. Appl. Microbiol.* 86:1047-1052.
- Chica, N. 1996. Sacarificación del almidón de papa. Trabajo final presentado como requisito para optar por el título de Especialista en Ciencia y Tecnología de alimentos. Universidad Nacional de Colombia. Manizales, Colombia.
- Constantí, M., Poblet, M., Arola, L., Mas, A. y Guillamón, J.M. 1997. Analysis of yeast populations during alcoholic fermentation in a newly established winery. *Am. J. Enol. Vitic.* 48, 339-344.
- Corpodib. 2003. Corporación para el Desarrollo Industrial de la Biotecnología y Producción limpia. Programa estratégico nacional para la producción de alcohol carburante para gasolina colombiana. Bogota D.C.
- Crueger, W., y Crueger, A. 1993. *Biotecnología: manual de microbiología industrial*. Editorial Acribia. Zaragoza, España. 213-231 p.
- D'amore, T. y Stewart, G.G. (1987): Ethanol tolerance of yeast. *Enzyme and Microbial Technology*, 9, 322-330.
- Dartiguenave, C., Jeandet, P. y Maujean, A. 2000. Study of the contribution of major organic acids of wine to the buffering capacity of wine in model solutions. *Am. J. Enol. Vitic.* 51, 352-356.

- De Florio Ramírez, Enrique. 1986. Estudio de la Fermentación de Chicha de Jora. Tesis para optar el grado de Ingeniero en industrias Alimentarias. Universidad Agraria la Molina. 132 p.
- De Rosa, T. 1997. Tecnología de los vinos blancos. Ed. Mundi-Prensa, Madrid.
- Degré, R. Selection and commercial cultivation of wine yeast and bacteria, p. 421-447. In Fleet G.H. (ed.), Wine Microbiology and Biotechnology. 1993. Harwood Academic Publishers, Chur, Switzerland.
- Delfini, C.; Bardi, L. 1990. La biotecnología aplicada a la enología y a los microorganismos del vino. Vitivinicultura 9:32-38.
- Delia-Dupuy M. L. and Strehaiano P. 1996. La fermentation alcoolique en vinification: observations cinétiques et physiologie. Rev. Fr. Oenol., 159 (juin-juillet): 19-23.
- Delteil, D. 1992. Gestione della fermentazione con i lieviti enologici selezionati. Vigne Vini, 9:35-38.
- Dirección sub región Agraria Andahuaylas. 2005. Diagnostico del Cultivo de Maíz Amiláceo. 112 p.
- Dombek, K.M. & Ingram, L.O. (1989): Intracellular accumulation of AMP as a cause for the decline in rate of ethanol production by *Saccharomyces cerevisiae* during batch fermentation. Appl. Environ. Microbiol., 54, 98-104.
- Doran, P. 1995. Principios de ingeniería de los bioprocesos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. Pg 80, 81, 287, 298 – 302.
- Duarte, F.L., Pais, C., Spencer-Martins, I. y Leao, C. 1999. Distinctive electrophoretic isoenzyme profiles in *Saccharomyces sensu stricto*. Int. J. Syst. Bacteriol. 49: 1907-1913.
- Engan S., 1981. Beer composition; volatile substances. p. 93-165. En J.R.A. Pollok (Eds) brewing Science vol. 2 Academic Press, London.
- Erikson P. J., 1986. The aroma composition of distilled beverages and the perceive aroma of whisky. London. p. 339-354.
- Estela E. W. (2004). Study and analysis of metabolites of sensorial importance produced by *Saccharomyces* and *non-Saccharomyces* yeasts. Tesis de Doctorado Capitulo I. Universidad de Tecnología Química. Praga – República Checa.

- Fernández Espinar MT, Querol A, Ramón D. 2000. Molecular characterization of yeasts strains by mitochondrial DNA restriction analysis. En: Spencer JFT, Spencer AL. (Eds.) *Methods in Biotechnology*. New York, Humana Press Inc,: 329-333.
- Fiechter, A., Fuhrmann, G. y Kappeli, C. 1981. Regulation of glucose metabolism in growing yeast cell. *Adv. Microbial Physiology*. 22: 123 – 183.
- Fleet, G.H. y Heard, G.M. 1993. Yeast growth during fermentation. In: *Wine Microbiology and Biotechnology*. (Ed. G.H. Fleet) pp. 27-54. Harwood Academic Publishers: Switzerland.
- Food Alimentation Organization (FAO). 1995. *Procesamiento de semillas de cereales y leguminosas*. Rome
- Fowles, G.W.A. 1992. Acids in grapes and wines: A review. *J. Wine Res.* 3, 25-41.
- Gagner J., Poole K. and Jiranek V. 2002. Practical significance of relative assimilable nitrogen requirements of yeast: a preliminary study of fermentation performance and liberation of H<sub>2</sub>S. *Australian Journal of Grape and Wine Research.* , 8: 175-179.
- Galan, G., Oliver, P., Estran M. 2004. La cerveza. *Alimentacion, Equipos y Tecnologia. Revista tecnica de la industria Alimentaria*. Mayo. Año XVIII No. 4. 15 -19pp
- Gao, C. y Fleet, G.H. 1988. The effects of temperature and pH on the ethanol tolerance of the wine yeasts: *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida stellata*, and *Kloeckera apiculata*. *J. Appl. Bacteriol.* 65, 405-410.
- Garcia Caribay M., y Lopez Munguia Canales A., 1993. *Bebidas alcoholicas no destiladas*. edit. Biotechnology. p. 263-311
- Gargurevich, Juan. 2002. *La prensa sensacionalista en el Perú*. Fondo Editorial de la Universidad Católica del Perú. Lima.
- Ghose, T.K. & Tyagi, R.D. 1979. Rapid abano] fermentation of cellulose hydrolysate. 1. Batch versus continuous system. *Biotechnol. Bioeng.*, 21, 1387-1393.
- Giudici P., Zambonelli C. 1992. Biometric and genetic study on acetic acid production for breeding of wine yeast. *Am J. Enol. Vitic.* 43(4):370-374
- Giudici P., Zambonelli C., Pasarelli P. y Castellari L. 1995. Improvement of wine composition whit criotolerant *Saccharomyces* strains. *Am. J. Enol. Vitic.*, 46(1):143-147

- Golden, D.A., Beuchat, L.R. y Hitchcock, H.L. 1994. Changes in fatty acid composition of *Zygosaccharomyces rouxii* as influenced by solutes, potassium sorbate and incubation temperature. *Int. J. Food Microbiol.* 21: 293-303.
- Gonzalez, R. 2002. Evaluación de la estabilidad del método de Criopreservación en glicerol para el establecimiento de un banco de cepas. Tesis de pregrado Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias. Departamento de Microbiología. Bogotá. 118 p.
- Gouvea L. 1983. Agerminacao das sementes. Ed. Librariano. Brasil
- Gutiérrez A. R., Epifanio S., Garijo P., López R. and Santamaría P. 2001. *Killer yeasts: Incidence in the ecology of spontaneous fermentation.* *Am. J. Enol. Vitic*, 54(2): 352-356
- Hidalgo Tagores J. 2003. Tratado de enología. Ed. Mundi-Prensa. Madrid.
- Hornsey, I.S. 2003. Elaboración de cerveza: microbiología, bioquímica y tecnología. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.
- Hoseney, R. C. 1991. Principios de ciencia y tecnología de los cereales. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza, España. 23-106 p.
- Hough J. S. 1990. Biotecnología de la cerveza y de la malta. Editorial Acribia S.A. Zaragoza España .p. 9-29
- Hudston, H. 1977. El Cerveceros en la práctica. Segunda Edición. Asociación de Maestros cerveceros de las Américas, Madison, Wisconsin. 150 p.
- Ingram, L. O. y T. M. Buttke. Effects of alcohols on micro-organisms. *Adv. Microb. Physiol.* 25:253-300.
- Ingram, L. O. y T. M. Buttke. Effects of alcohols on micro-organisms. *Adv. Microb. Physiol* 1984. 25:253-300.
- Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria (INIEA). 2006. Manual Para Caracterización In Situ De Cultivos Nativos: Conceptos y Procedimientos. Lima – Perú. 96 p.
- Ivorra, C., J. E. Pérez-Ortín, y M. del Olmo. 1999. An inverse correlation between stress resistance and stuck fermentations in wine yeasts. A molecular study. *Biotechnol. Bioeng.* 64:698- 708.

- Jacques, K., Lyons, T.P., Kelsall, D.R. 1999. The Alcohol Textbook. 3ra ed. Nottingham University Press. Alltech Inc. Nottingham. 346 p.
- Jackson, R. S. Wine Science. Principles and Applications. 1994. Academic Press, San Diego.
- Jay J.M. 2003. Microbiología moderna de los alimentos, 3ª ed., Acribia, S.A., Zaragoza, España, 1994: 36-39. Kameswara Rao C. En: Fermentation biotechnology. Foundation for Biotechnology Awareness and Education.
- Jiranek V., Langridge P and Henschke P. A. 1995. *Amino acids and ammonium utilization by Saccharomyces cerevisiae wine yeasts from a chemically defined medium*. Am. J. Enol. Vitic., 46 n°1) : 75-83.
- Jones B. L. 2008. Endoproteases of barley and malt, *Journal of Cereal Science*; 47: 480 - 488.
- Joshi, V. K., Shah, P. K., Kumar, K. 2005. Evaluation of peach cultivars for wine preparation. *Journal of Food Science and Technology* 42(1): 83-89.
- Julien A., Roustan J.L., Dulau L., Sablayrolles J.M., Palacios A. y Navascués E. 2001. *Variabilidad en las necesidades de oxígeno y nitrógeno asimilable en función de las cepas de levadura enológicas*. Viticultura y Enología Profesional. , 76: 39-42.
- Karimi, K., Emtiazi, G y Taherzadeh, M. 2006. Production of ethanol and mycelial biomass from rice straw hemicellulose hydrolyzate by *Mucor indicus*. *Process Biochemistry*. 41: 653-658
- Klimovitz, R. 2002. El Cerveceros en la Práctica. Masters Brewers Association of the Americas. St. Paul, Minnesota. Capítulos 3, 5, 6, 9, 10,15 y 17
- Klimovitz, R; et al. 2002. El Cerveceros en la Práctica. Masters Brewers Association of the Americas. St. Paul, Minnesota. Capítulos 3, 5, 6, 9, 10, 15 y 17.
- Kolusheva T y Marinova A. 2007. A study of the optimal conditions for starch hydrolysis through thermostable  $\alpha$ -amylase, *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*; 42 (1): 93-96.
- Kreger-Van Rij, N.J.W. (1984) The yeast, a taxonomic study. Elsevier, Amsterdam.
- Kruckeberg, A.L., Walsh, M.C., and Van Dam, K. 1998. How do yeast cells sense glucose?. *BioEssays* 20:972-976.



- Kunze, W. 1996. Technology brewing and malting. Séptima Edición. Editorial VLB Berlín, Verlagsabteilung. Germany. 726 p.
- Lagos E.M., 1995. Levaduras autóctonas aisladas en vinos de la comarca del la de Laujar de Andarax (Almería). Tesis doctoral. Universidad de Granada. Departamento de la nutrición el bromatología de y. Facultad de la farmacia. Granada. 265 pág.
- Lambrechts, M. G. y Pretorius, I. S. 2000. Yeast and its importance to wine aroma. A review. *S. Afr. J. Enol. Vitic.*, 21: 97-129.
- Leao, C. Y., Van Uden, N. 1984. Effects of ethanol and other 306 alkanols on the kinetics and the activation on the general amino acid permease of *Saccharomyces cerevisiae*. *Biotechnol Bioeng* 26: 403-411.
- Lema Costas, César.1995. Ecología de las comunidades de levaduras vínicas en O Baixo Miño. Selección de cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. *Aplicaciones biotecnológicas y perspectivas*. Tesis Doctoral, Universidad de Vigo.
- León Molero Fernando. 1952. Estudio químico bromatológico del maíz. Variedades de Maíz peruano. Tesis de grado programa de Farmacia de UNMSM.
- Longo, E., Cansado, J., Agrelo, D. y Villa, T.G. 1991. Effect of climatic conditions on yeast diversity in grape musts from northwest Spain. *Am. J. Enol. Vitic.* 42, 141-144.
- Loureiro V. Querol A. 1999. The prevalence and control of spoilage yeasts in foods and beverages. *Trends Food Sci Technol.* 10: 1-10.
- Luong, J.H.T. 1985. Kinetics of Ethanol Inhibition in alcohol fermentation. *Biotechnol. Bioeng.* vol. XXVII, 280-85.
- Maarel, M., Veen, B., Uitdehaag, J., Leemhuis, H., Dijkhuizen, L. 2002. Properties and applications of starch-converting enzymes of  $\alpha$ -amylase family. *Journal of Biotechnology* 94: 137-155 p.
- Madrid, A. 2001. Nuevo Manual De Industrias Alimentarias. Ed. Ediciones MundiPrensa. Madrid- España.
- Man, K., Rosenfield, C y Knipple, D. 2003. Ethanol tolerance in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* is dependent on cellular oleic acid content. *Applied and environmental microbiology.* 69: 1499-1503.



- Manrique de Sáenz Isabel. 1978. Flora Microbiana de la Chicha de Jora y fermentación experimental de levadura seleccionada. Lima, Tesis Programa de Farmacia de la UNMSM.
- Mariño, R. 1989. Selección de cepas de *Aspergillus niger* para la producción de amilosa. Trabajo de grado para optar el título de Químico Farmacéutico. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.
- Martini, S., Ricci, M., Bonechi, C., Braconi, D., Millucci, L., Santucci, A. y Rossi, C. 2005. Metabolic response to exogenous ethanol in yeast: An in vivo NMR and mathematical modelling approach. *Biophysical chemistry*. 120: 135-142.
- Masneuf, Isabelle 2003. La ricerca in popolazioni naturali. *Vignevini (Special: Lieviti, lo stato dell'arte)*. , 7/8: 46-49.
- Mayer, A.N. 1963. The germination of sedes general editors. Mexico. 104 p.
- Melero, R. 1992. Fermentación controlada y selección de levaduras vínicas. *Rev. Esp. Cienc. y Tecnol. Aliment.* 32(4):371-379
- Mezas, J. and M. Alegre. 1999. The role of the microorganisms in winemaking. *Cienc. Tecnol. Aliment.* 2(4):174-183.
- Moreira da Silva, M., Malfeito-Ferreira, M., Aubyn, S. y Loureiro, V. 1994. Long chain fatty acid composition as criterion for yeast distinction in the brewing industry. *J. Inst. Brew.* 100: 17-22.
- Muelle Jorge. 1945. La chicha en el distrito de San Sebastián. Cuzco. *Revista del Museo Nacional*. Tomo XIV-Pág. 114 -124.
- Nagel, C.W., y Herrick, I.W. 1989. The effect of malate or lactate content on the pH-TA relationship of potassium bitartrate saturated alcohol-water solutions. *Am. J. Enol. Vitic.* 40, 81-84.
- Navarre, C. 1994. *L'oenologie*. 4<sup>a</sup> ed. Ed. Lavoisier Tec. & Doc., París.
- Nykanen L., 1986. Formation and occurrence of flavor compounds in wine and distilled Beverages. Origin and development. Ellis Horwood Ltd. Chichester.
- O'Connor-Cox, E.S.C. y Ingledew, W.M. 1990. Effect of timing of oxygenation on very high gravity brewing fermentations. *J. Am. Soc. Brew. Chem.* 48, 26-32.
- Ostergaard, S., Olsson, L., Nielsen, J. 2000. Metabolic Engineer of *Saccharomyces cerevisiae*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 64 (1): 34-50p.

- Palmer, G.H. 1989. "Cereals in malting and brewing". Cereal Science and Technology. Edited by G.H. Palmer. Aberdeen University Press.
- Pedroza, A. 1999. Producción de amilasa termoestable a partir de *Thermus* sp. Tesis de maestría. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias. Microbiología Industrial. Bogotá, Colombia. 18-19p.
- Pérez-Coello, M.S.; Briones-Pérez; A.J.; Ubeda Iranzo, J.F. and Martin-Alvarez, P.J. 1999. Characteristics of wine fermented with different *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from the La Mancha region. Food Microb. 16: 563-573.
- Peynaud, E. 1989. Enología práctica. Conocimiento y elaboración del vino. 3a. ed. Ed. Mundi Prensa, Madrid.
- Pinhas Z. M., 1981. Flavor Microbiology. Fermented Beverages and their flavor – I. wine. p. 173-224. Charles C. Thomas Illinois.
- Pretorius, I. S. 2000. Tailoring wine yeast for the new millennium: novel approaches to the ancient art of winemaking. Yeast.. 16:675-729.
- Querol, A., Barrio, E. y Ramón, D. 1992a A comparative study of different methods of yeast strain characterization. Syst. Appl. Microbiol. 15, 439-446.
- Quesada M. P., Martínez A., Fernández J.I., López-Roca J.M. And Marín-Iniesta F. 1995a. Respuesta enológica de cepas de levaduras vínicas *Saccharomyces cerevisiae* de la región de Murcia con fenotipos killer, neutro y sensible. 3º Simposio on vinegrowing in the Alentejo, Evora (Portugal). 145-167.
- Quesada, M. P.; Cenis, J. L. 1995. Identificación de levaduras vínicas. Métodos basados en el estudio del ADN. *VitiVinicultura* 7-8, 52-55
- Quillama Elena. 1993. Manual de Biotecnología de chicha de jora y otros alimentos obtenidos por fermentación espontánea de origen peruano. Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 49p.
- Quillama, E., Huamán M. y Cruz, L. 1995 Selección de cepas nativas de *Saccharomyces cerevisiae* a concentraciones altas de etanol y glucosa aisladas de "cachina". Tesis de Maestría Universidad de Sao Paulo. Brasil
- Quintero R. 1981. Ingeniería Bioquímica. Ed. Alambra. México. 33-37p.

- R. B, Vis, K. Lorenz, 1996.  $\beta$ -glucans: importance in Brewing and Methods of analysis. Department of Food Science and Human Nutrition. Colorado State University (U.S.A).
- Radler F. 1993. Yeast metabolism of organic acids. EN: Wine microbiology and Biotechnology. Editado por Graham H. Fleet. Harwood Academic Publishers, 165-182
- Ramírez Niño, Miguel Ángel. 2006. Caracterización de vinos de piña (Variedad española roja) pasteurizados y sin pasteurizar elaboradas con diferentes cepas de *Saccharomyces cerevisiae*. Tesis Ms. Programa de Ciencia y Tecnología, Recinto Universitario de Mayagües, Universidad de Puerto Rico, 71p.
- Ramon-Portugal, F., Seiller, I., Taillandier, P., Favarel, J.L., Nepveu, F. y Strehaiano, P. (1999) Kinetics of production and consumption of organic acids during alcoholic fermentation by *Saccharomyces cerevisiae*. Food Technol. Biotechnol. 37, 235-240.
- Ray, R. C., Mohanty, S., Ray, P., Swain, M. R. 2006. Fermentation of cashew (*Anacardium occidentale* L.) “apple” into wine. Journal of Food Processing and Preservation 30 (3): 314-322.
- Regodón Mateos, J.A.; Pérez Nevado, F.; Valdés Sánchez, M.E.; de Miguel Gordillo, C.; Ramírez Fernández, M. 1997. Levaduras autóctonas extremeñas para vinificaciones industriales. XVIII Jornadas de viticultura y enología Tierra de Barros. Almendralejo (Badajoz). 463-473.
- Riaggio Guy, Víctor (1953. El maíz y su industrialización. UNA. Lima-Perú.
- Ribéreau-Gayon P. 1999. *Reflexions sur les causes et les conséquences des arrêts de la fermentation alcoolique en vinification*. J. Int. Sci. Vigne Vin, 33:1: 39-48.
- Ribéreau-Gayon, P., Dubourdieu, D., Donèche, B. y Lonvaud, A. 2000. Handbook of Enology, vol. 1: The Microbiology of Wine and Vinifications. Wiley & Sons Ltd.: West Sussex, England.
- Rolland, f., Winderickx, J., and Thevelein, J.M. 2002. Glucosesensing mechanism in yeast. FEMS Yeast Research, 2: 183-201.
- Romano A. H., 1986. Microbial sugar transport systems and their importance in biotechnology. Trends Biotechnol. p. 207-213.

- Rosenfeld, E., B. Beauvoit, B. Blondin, y J. M. Salmon. 2003. Oxygen consumption by anaerobic *Saccharomyces cerevisiae* under enological conditions: effect on fermentation kinetics. *Appl. Environ. Microbiol.* 69:113-121.
- Runkel, U.D. 1983. "Malt Kilning and its Influence on Malt and Beer Quality". *EBC*, 1975: 222- 235.
- Sabaté, J., Cano, J., Querol, A. y Guillamón, J.M. 1998. Diversity of *Saccharomyces* strains in wine fermentation: analysis for two consecutive years. *Lett. Appl. Microbiol.* 26, 452-455.
- Salmon Jean-Michel y Ortiz-Julien Anne. 2007. Mejora de la fermentación alcohólica en condiciones extremas. Congreso Microsafetywine, Vilafranca del Penedés, España
- Sánchez Campos. Hugo. 1966. El maíz y su composición química. Programa cooperativo de investigación del maíz.
- Sánchez, P.; Khayyat, N.; Arroyo, V.; Iñigo, B. 1985. Mostos de uva de la denominación de origen alicante. *Alimentaria* 164: 25-28.
- Santamaría P., López R., Gutiérrez A.R. Y Epifanio S., 1998. Fermentación alcohólica de vinos blancos y rosados. Ed. Consejería de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural: Gobierno de La Rioja.
- Santander, M. C. 2006. Optimización de las concentraciones de urea y fosfato de amonio en la producción de alcohol a partir de miel Final y miel virgen de caña de azúcar empleando *Saccharomyces cerevisiae*. . Requisito parcial para optar por el título de Microbiólogo Industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de ciencias. Departamento de Microbiología. Bogotá, Colombia.
- Schmitt MR, Marinac L. 2008. Beta-amylase degradation by serine endoproteinas from green barley malt, *Journal of Cereal Science*; 47: 480 - 488.
- Schütz, M. y Gafner, J. 1994. Dynamics of the yeast strain population during spontaneous alcoholic fermentation determined by CHEF gel electrophoresis. *Lett. Appl. Microbiol.* 19, 253-257.
- Simunovic Y., 1999. Manual de bebidas alcohólicas y vinagres. Ministerio de Agricultura. Servicio Agrícola Ganadero (SAG). Departamento jurídico. 54p.

- Siqueira A., Dulau, L. y Hallet, J.N. 2008. Étude écologique de la microflore levurienne spontanée de vignoble des Charentes et approche moléculaire de la diversité intraspécifique chez *Saccharomyces cerevisiae*. Rev. Fr. Oenologie 142, 20-28.
- Stone, H., Sidel, J., Oliver, S., Woosley, A. y Sigleton, R. 1974. "Sensory evaluation by quantitative descriptive analysis". Food Technology. 28:24.
- Stryer, Lubert; Berg, Jeremy M.; Tymoczko 2002. Bioquímico. 5a. ed. Barcelona, Ed. Reverte, 954p.
- Suárez J. A. E Iñigo B. 1992. Microbiología enológica. Fundamentos de vinificación. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. 2ª Edición.
- Suárez Lepe, J.A. 1997. Identificación de levaduras. Seguimiento y control de implantación de las cepas seleccionadas. En: Levaduras vínicas, vol. 10, pp. 243-269. Ed. Mundi-Prensa: Madrid.
- Suutari, M., Liukkonen, K. y Laakso, S. 1990. Temperature adaptation in yeasts: the role of fatty acids. J. Gen. Microbiol. 136, 1469-1474.
- Tuite, M., Oliver, S. 1991. *Saccharomyces cerevisiae*. Editorial Plenum Press. New York. 100-120p.
- Vacanneyt, B.P., Hennebert, G. y Kersters, K. 1991. Differentiation of yeast species based on electrophoretic whole-cell protein patterns. Syst. Appl. Microbiol. 14: 23-32.
- Valdez A. 1982. El maíz en la Tradición Andina. Informe de año sabático. UNA La Molina. Lima, Perú
- Van der Walt, J.P.; Yarrow, D. 1984. Methods for the isolation, maintenance, classification and identification of yeast. En N.J.W. Kreger-van Rij (ed). The yeast, a taxonomic study. Elsevier, Amsterdam, 45-104
- Van der Westhuizen, T.J., Augustyn, O.P.H. y Pretorius, I.S. 2000. Geographic distribution of indigenous *Saccharomyces cerevisiae* strains isolated from vineyards in the Coastal Regions of the Western Cape in South Africa. S. Afr. J. Enol. Vitic. 21, 3-9.
- Varman, A. H. 1997. Bebidas: tecnología, química y microbiología. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España.
- Varman, A. H. Sutherland J. P. 1994. Bebidas, tecnología, química y microbiología. Editorial acriaba, S.A. Zaragoza España.

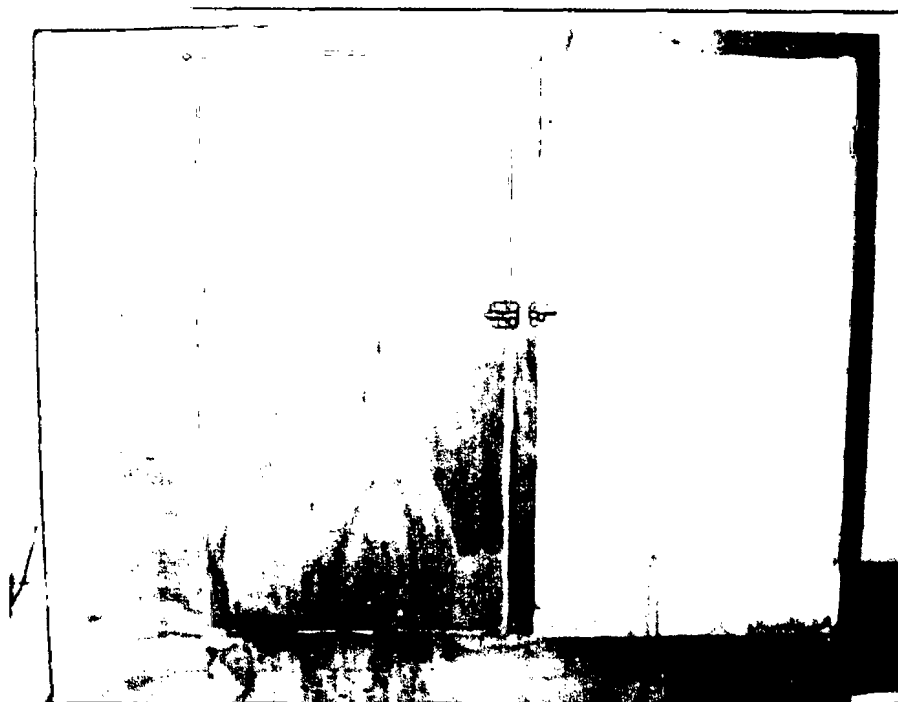
- Varman, A. H. 1997. Bebidas: tecnología, química y microbiología. Ed. Acribia S.A. Zaragoza, España.
- Varnam, A. H., Sutherland, J. P. 1997. Bebidas alcohólicas: I. Cerveza. *Bebidas, Tecnología, Química y Microbiología*. Ed. Acribia. Zaragoza, España. p.p .307-373.
- Velásquez, Mario. 1982. Determinación de Parámetros para la Elaboración de Jora a partir de Maíz Cancha de Huaraz (Variedades terciopelo y rojo Huarosanta). Tesis para optar título profesional de Ing. Alimentario. Universidad Nacional Agraria la Molina. Perú. 79 p.
- Versavaud, A., Corcoux, P., Poulland, C., Dulau, L. y Hallet, J.N. 1995. Genetic diversity and geographical distribution of wild *Saccharomyces cerevisiae* strains from the wine-producing area of Charentes, France. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 3521-3529.
- Verstrepen, K; et al. 2003. Flavor – Active Esters: Adding Fruitiness to beer. *Journal of Bioscience and Bioengineering*. Vol 96 N° 2. 110 – 118 pp.
- Viñas Eduardo. 1958. La composición química del las diferentes chicha que se consumen en el País. Lima .Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social del Departamento de Nutrición-Servicio cooperativo Internacional de salud Publica.Pàg 1-3. Tesis de Grado, Programa de Farmacia UNMSM.
- Ward, O.P. 1991. Biotecnología de la Fermentación: Principios, Procesos y Productos. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. 274 p.
- White, J. 1995. Yeast Technology. Wiley & Sons. USA. 431 p.
- Yamamoto, N., Yamamoto, N., Amemiya, H., Yokomori, Y., Shimizu, K. y Totsuka, A. 1991. Electrophoretic karyotypes of wine yeasts. *Am. J. Enol. Vitic.* 4, 358-363.
- Yépez Silva-Santisteban, B.O. 2001. Efecto del malteo en la composición química del maíz Opaco-2 (*Zea mays L.*). Tesis para optar el grado de Ingeniero en industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina. 112p.
- Youngs, A. y Rose, A.H. 1989. Sterol uptake by anaerobically grown *Saccharomyces cerevisiae*. *Yeast* 5, 459-463.
- Zaldivar, J., Roca, C., Foll, C., Hahn-Hagerdal, B y Olsson, L. 2005. Ethanolic fermentation of acid pre-treated starch industry effluents by recombinant *Saccharomyces cerevisiae* strains. *Bioresource technology.* 96: 1670-1676.
- Zapata Acha, Sergio, 2006. Diccionario de gastronomía peruana tradicional. Lima, Perú: Universidad San Martín de Porres. ISBN 9972-54-155-X.



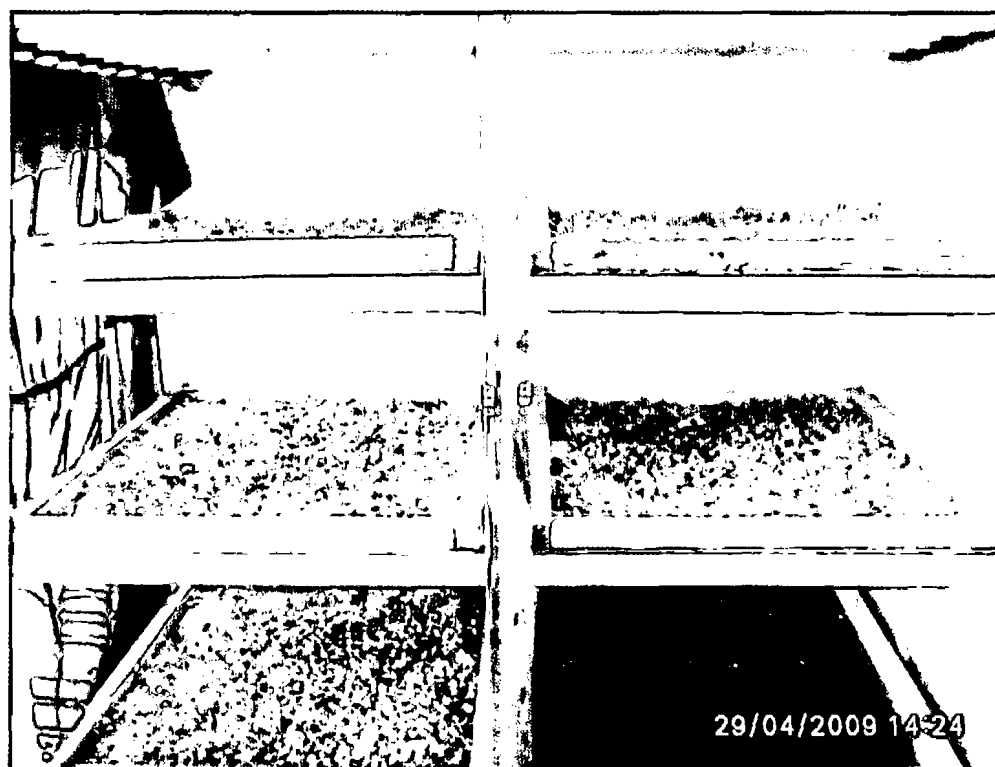
# ANEXOS



**ANEXO 01. FOTOGRAFÍAS DEL GERMINADOR UTILIZADO EN LA OBTENCIÓN DE MALTA**

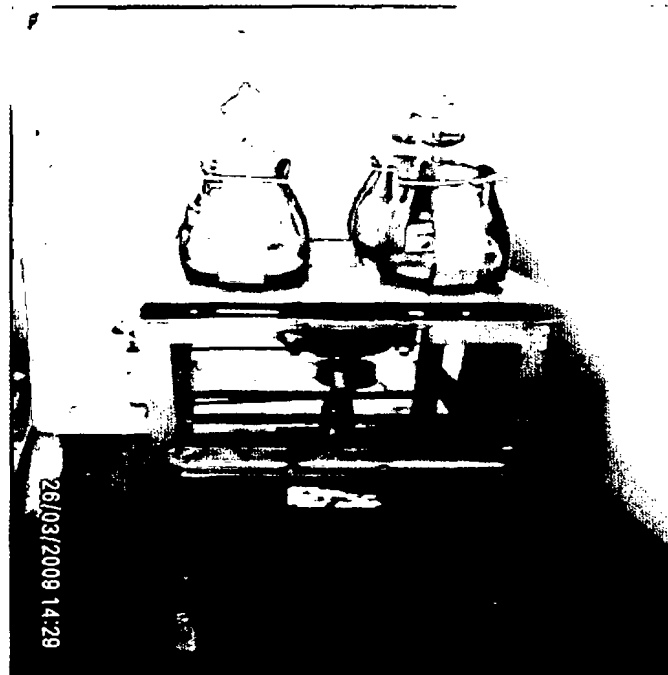


**Foto 01:** Vista frontal del germinador construido y utilizado en la obtención de jora

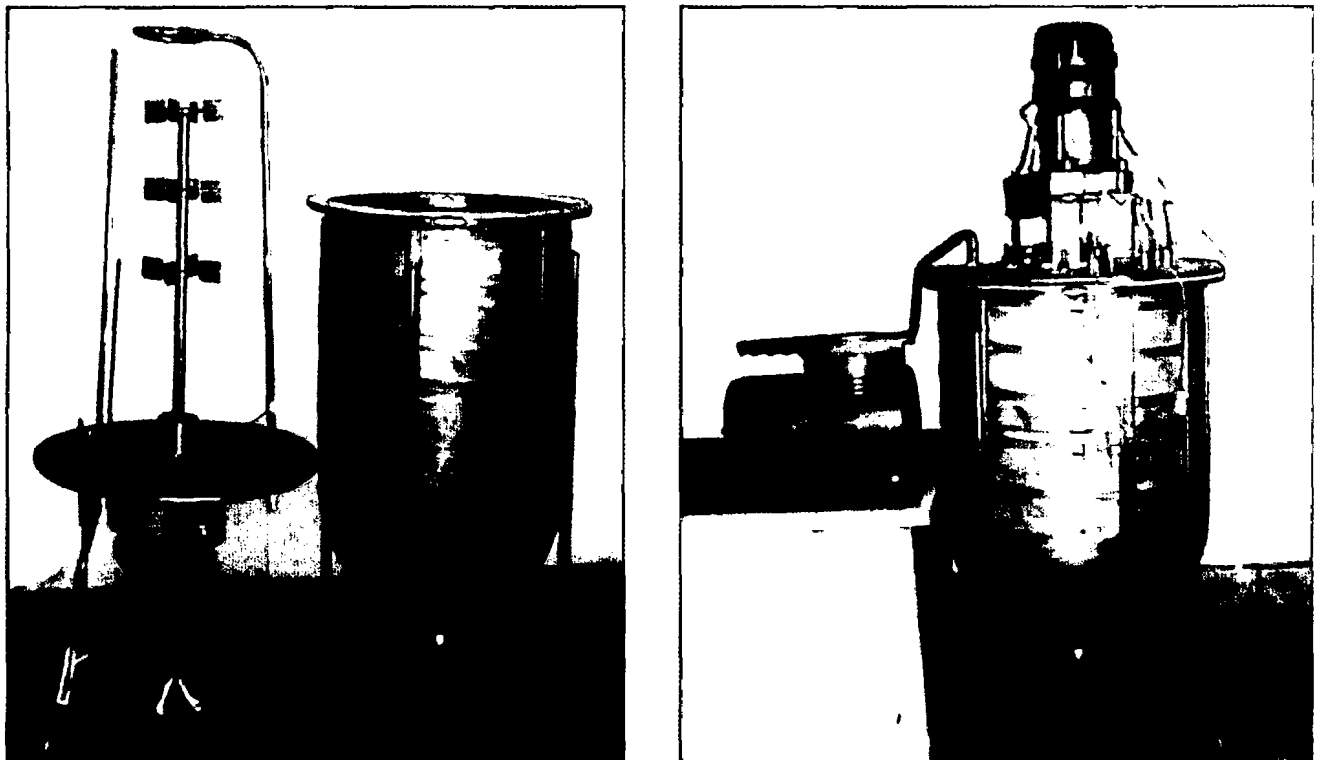


**Foto 02:** Granos de maíz en germinación

**ANEXO 02. FOTOGRAFÍA DEL AGITADOR ORBITAL Y EL BIORREACTOR EN LA FERMENTACIÓN DE CHICHA DE JORA RESPECTIVAMENTE.**



**Foto 03:** Agitador orbital construido para preparar inoculo



**Foto 04:** Biorreactor construido y utilizado en la fermentación de la chicha de jora

## **ANEXO 03: PLAN DE TRABAJO N° 001-2010: ENTRENAMIENTO DE JUECES PARA ANALISIS SENSORIAL DE BEBIDAS ALCOHOLICAS FERMENTADAS**

### **I. ANTECEDENTES**

Ureña W. y D'Arrido M. (1999), manifiestan que siendo el juez el ente analista y calificador en las pruebas de evaluación sensorial, que se sirve solo de la capacidad de percepción desarrollada y habituada de sus sentidos para reconocer, identificar, mensurar y valorar las propiedades o atributos organolépticos o sensoriales, es que se merece la mayor de las atenciones en cuanto a su selección, capacitación y en su caso, el entrenamiento debido; sin embargo Anzaldúa A. (1997), considera que la selección y el entrenamiento de las personas que tomaran en parte en pruebas de evaluación sensorial son los factores de los que depende en gran parte el éxito y la validez de las pruebas, por lo cual se pretende realizar una adecuada selección y adiestramiento de jueces sensoriales. Por otro lado Carpenter R. *et al* (2002), manifiesta que la selección y entrenamiento de jueces apropiados es un proceso esencial, que requiere mucho tiempo dentro de la planificación de cualquier análisis sensorial; además, menciona que la cualificación y entrenamientos necesarios para que un juez sensorial represente un instrumento de medida efectiva son bastante considerables.

### **II. OBJETIVOS**

#### **2.1. OBJETIVO GENERAL**

- Desarrollar la habilidad individual de reconocer, identificar y calificar los atributos sensoriales en bebidas Alcohólicas fermentadas en los estudiantes de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial, para un futuro equipo de jueces entrenados.

#### **2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.**

- Mejorar la sensibilidad y la memoria frente a los distintos atributos sensoriales de color, olor, sabor y aroma de bebidas alcohólicas fermentadas para conseguir juicios precisos y consistentes.
- Familiarizar y Dar una orientación teórica y práctica con las pruebas más elementales (pruebas Discriminativas, Descriptivas y Afectivas) para realizar un análisis sensorial en bebidas alcohólicas fermentadas y su aplicación en una planta de elaboración de bebidas.
- Sustentar mediante un tratamiento estadístico los juicios emitidos por los jueces luego de ser entrenados para evaluar la efectividad tomando como referencia otras bebidas alcohólicas fermentadas.
- Entrenar a los estudiantes seleccionados de la escuela de formación profesional de Ingeniería Agroindustrial para lograr que estén en condiciones de emitir juicios validos y confiables, libres de preferencias personales.
- Lograr una alta sensibilidad de los evaluadores y desarrollarles la capacidad para memorizar los distintos atributos que se evalúan en bebidas alcohólicas fermentadas.

### **III. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD**

Este evento es encabezado y promovido por iniciativa del Tesista y su Asesor de investigación, frente a la necesidad de contar con jueces entrenados para prueba sensoriales en bebidas alcohólicas fermentadas y como trabajo de una etapa del Trabajo de investigación "Optimización de parámetros de fermentación en la elaboración de

chicha de jora utilizando cepa nativa de *saccharomyces sp.*” y con el apoyo de la Dirección de la Escuela Académico Profesional de Ingeniería Agroindustrial y la Dirección de Investigación de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac para dar más realce y seriedad a esta actividad. De igual manera los trabajos de selección y entrenamiento de los jueces, estará bajo la supervisión y apoyo del Ing. CIP. José G. Barazorda Carrillo.

Esta actividad tendrá carácter teórico y práctico.

#### IV. DATOS INFORMATIVOS

**4.1. BENEFICIARIOS:** Estudiantes seleccionados de Ingeniería Agroindustrial de acuerdo a pruebas de selección de jueces, así como por la disponibilidad, deseo de participar y el interés en desarrollar su capacidad sensorial para ser jueces sensoriales entrenados

**4.2. LUGAR Y FECHA:**

Laboratorio de Control de Calidad de la Escuela de Formación Profesional de Ingeniería Agroindustrial (3<sup>er</sup> piso).

Desde el 10 de febrero al 4 de marzo del 2010

**4.3. TIEMPO DE DURACIÓN:**

**Capacitación por Sesión Diaria:** 05 horas

**Total Horas de Capacitación:** 50 horas

**4.4. APOYO INSTITUCIONAL:**

Coordinación con la Dirección de la Escuela Académica Profesional de Ingeniería Agroindustrial y la Dirección de Investigación de la Universidad Nacional Micaela Bastidas de Apurímac.

#### V. ASPECTO TÉCNICO PEDAGÓGICO

**5.1. CONTENIDO DEL APRENDIZAJE:**

**5.1.1. CONCEPTUALES:**

- Introducción, Objetivos de evaluación sensorial de alimentos
- Mecanismo de Percepción sensorial
- Los sentidos y las propiedades sensoriales
- Los jueces y las condiciones de prueba
- Métodos de análisis sensorial
- Principales análisis estadísticos en la evaluación sensorial
- Aplicación de la evaluación sensorial

**5.1.2. PROCEDIMENTALES:**

- Se procederá a impartir clases teóricas y prácticos.
- Se procederá a reconocer e identificar los procedimientos básicos de realización de pruebas sensoriales y conocer la importancia de esta en la calidad de los alimentos (aplicado a bebidas alcohólicas fermentadas).
- Se realizara casos prácticos de selección de panelistas.
- Se efectuara pruebas prácticas de reconocimiento de sabores básicos y olores de bebidas alcohólicas fermentadas.
- Pruebas de Interrelación de los sentidos en la percepción sensorial de bebidas alcohólicas fermentadas y alimentos en general.
- Pruebas prácticas de discriminación, descriptivas y afectivas aplicadas a bebidas alcohólicas fermentadas.



- Pruebas de determinación de perfiles descriptivos sensoriales en bebidas alcohólicas fermentadas.
- Se Efectuara ejercicios de tratamiento estadístico de juicios sensoriales, de la misma forma para la adición e intercambio de ideas y visiones sobre los problemas encontrados en las sesiones de entrenamiento para los jueces seleccionados.

### 5.1.3. ACTITUDINALES:

- Se Valorará el aporte individual de sus experiencias y conocimientos previos y la atención a las indicaciones del entrenador.
- Se valorará el lenguaje de la sensibilización por su claridad, precisión y organización para lograr el consenso por los jueces.
- Se creará Confianza y seguridad al diseñar y ejecutar habilidades para incrementar la habilidad, reconocimiento, y identificación de características sensoriales en bebidas fermentadas, demostrando interés y cooperación entre los jueces seleccionados.

### 5.1.4. RELACIONADOS CON LA PROFESIONALIDAD

- Gusto por el detalle y espíritu reflexivo y analítico.
- Tendencia a seleccionar sensaciones, datos, objetivos y características.
- Inclinación por las explicaciones de placer y desagrado (Cata hedonista).
- Riguroso en la clasificación, análisis y juicio calificador, respetando la dinámica y los procesos normalizados de la cata.
- Cuidadoso en separar los gustos personales de las percepciones, que se deriven de las sensaciones recibidas.
- Valorar las condiciones psicofísicas, en que se encuentra el propio catador.
- Gusto por el vocabulario codificado del catador, para transmitirlo al profano.

### 5.2. ÁREAS QUE SE INTEGRAN:

- **COMUNICACIÓN:** Se utilizará el uso de la comunicación oral y escrita, para lo cual se utilizará materiales como figuras, dibujos, fotografías, papelotes, diagramas, etc., para la mejor relación entre el entrenado y entrenador.
- **PERSONAL SOCIAL:** La integración en esta área se realizará notorio con la participación de forma individual o grupal practicando los valores morales de Respeto, Responsabilidad, Confraternidad, Tolerancia y Cooperación entre los estudiantes seleccionados.

## VI. ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS:

### 6.1. MÉTODOS:

- Deductivo Inductivo
- Socializado
- Práctico

### 6.2. PROCEDIMIENTOS:

- Monitoreo antes, durante y post de la actividad hasta el cumplimiento del objetivo.



- Establecimiento del plan de trabajo.
- Observación, comparación, análisis, síntesis, abstracción, generalización y aplicación.

**6.3. TÉCNICAS:**  
Exposición  
Casos prácticos aplicativos  
Debate y discusión dirigido.

**6.4. FORMAS:**  
Interrogativa, dialogada y participativa.

**6.5. MODOS:**  
Individual y Grupal.

## VII. MEDIOS Y MATERIALES EDUCATIVOS:

**7.1. MEDIOS:**

- **Visuales:** Hoja de resumen y papelotes.
- **Auditivos:** Escuchan las orientaciones básicas del capacitador y/o entrenador como también la exposición y discusión por sus compañeros.

**7.2. MATERIALES:**  
Pizarra acrílica, cañón multimedia, papel bond, papelotes, plumones de colores, mota, cinta masking, y fichas de resumen.

## VIII. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.

### PRIMER DIA:

**Convocatoria para la pre-selección de jueces.**

**Hora: 9:00am**

### SEGUNDO DIA: (Pre-SELECCION)

Selección de 15 jueces de acuerdo a su habilidad por medio de sencillas pruebas sensoriales de reconocimiento y discriminación. Además se considerara la disponibilidad y deseo de participar, salud y hábitos personales, test de personalidad, disciplina y capacidad para concentrarse en el trabajo.

Descripción	HORA
<b>Apertura de la actividad y Bienvenida a los interesados</b>	9:00 a.m.
Exposición del objetivo de las pruebas Sensoriales	9:30 a.m.
<b>Entrevista:</b> Prueba de selección bajo criterios de Disponibilidad y interés, repulsión a bebidas fermentadas y test de personalidad.	9:45 a.m.
<b>*Prueba de pre-selección</b> bajo el Criterio de Habilidad y desempeño a prueba de reconocimiento de sabores básicos y pruebas de discriminación (prueba triangular). (Practicar 1 y 3 Recomendados por Anzaldúa A.(1997))	10:00 a.m.
<b>Emisión de resultados de jueces aptos</b>	10:30 a.m.

<b>Reunión de coordinación</b> con jueces pre-seleccionados para establecer cumplimiento del cronograma de actividades.	10:40 a.m.
---	------------

### CUADRO 01: REQUERIMIENTOS PARA LA SELECCIÓN DE JUECES

Nº	Descripción	Unidad de Medida	Cantidad
1	Papel Bond	Unid	50
2	Plumón de colores	Unid	3
3	Vasos descartables	Unid	200
4	Alcohol etílico	MI	20
5	Acido acético	MI	20
6	Azúcar	g/L	16
7	Cloruro de Sodio	g/L	3
8	Acido cítrico	g/L	1
9	Cafeína	g/L	0.02
10	Saborizante fresa	G	5
11	Plumón indeleble	unid	1
12	Agua de mesa	L	4

### TERCER DIA: SELECCION

#### Determinación de la capacidad del juez pre-seleccionado para realizar pruebas sensoriales.

Los jueces que han conseguido demostrar su precisión sensorial en las pruebas sencillas de selección, en esta sesión tendrán la oportunidad de mostrar idoneidad para realizar las pruebas en situaciones más realistas.

Descripción	HORA
<b>Instrucción del proceso de realización de pruebas discriminativas y descriptivas.</b> Identificación de diferentes concentraciones de un determinado componente de un alimento. La descripción de las características sensoriales presentes en un determinado producto.	9:10 a.m.
<b>CASO PRÁCTICO.</b> Reconocimiento de diferentes concentraciones de ácido cítrico en una bebida de frutas. (Test Carpenter) Presentación de varios productos (chicha de jora de diferentes chicherías y Yogurt de diferentes marcas) para que describan, por escrito, las características sensoriales de cada uno. Cata Guía de chicha de jora y yogurt para selección final de jueces	9:25 a.m.
<b>SESION DE DISCUSION.</b> Generación de vocablos, Definición y acuerdo sobre el Vocabulario que se utilizara durante y después del reconocimiento de sabores de bebidas fermentadas.	10:10 a.m.
<b>Cierre:</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones	10:30 a.m.

## CUADRO 02: REQUERIMIENTOS PARA LA SELECCIÓN DE JUECES

Nº	Descripción	Unidad de Medida	Cantidad
1	Papel Bond	Unid	50
2	Plumón de colores	Unid	3
3	Vasos descartables	Unid	200
4	Chicha de jora	L	2
5	Yogurt	L	2
6	Plumón indeleble	unid	1
7	Agua de mesa	L	4

### PRIMERA SESIÓN: ENTRENAMIENTO GENERAL

Inicio del programa de entrenamiento con los 10-12 jueces seleccionados de acuerdo a criterios recomendados por Ureña W. y D'Arrido M. (1999) y Anzaldúa A. (1997).

El programa de entrenamiento estará constituido por 10 sesiones de una a dos horas; además las clases teóricas en cada SESION serán de 15-20 minutos.

### SESION 01: EXPOSICION SOBRE EVALUACION SENSORIAL

Descripción	HORA
<b>Entrega de separatas</b>	9:00 a.m.
<b>Exposición de Evaluación sensorial de alimentos:</b> Introducción, Objetivos, Mecanismo de Percepción sensorial, los sentidos y las propiedades sensoriales, Pruebas sensoriales, el jurado y las condiciones necesarias para el análisis sensorial.	9:10 a.m.
<b>SESION DE DISCUSION.</b> Generación de vocablos, Definición y acuerdo sobre el Vocabulario que se utilizara durante el entrenamiento.	10:00 a.m.
<b>Cierre.</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones.	10:30 a.m.
<b>Revisión de material entregado + Examen</b>	11-3pm

## CUADRO 03: REQUERIMIENTOS PARA SESION 01

Nº	Descripción	Unidad de Medida	Cantidad
1	Proyector Multimedia	Unid	1
2	Plumón de colores	Unid	3
3	Papelotes	Unid	2
4	Papel Bond	Unid	200

### SEGUNDA SESIÓN: ENTRENAMIENTO GENERAL

En esta sesión se asesora e instruirá en la Organización y formato de las pruebas sensoriales, así como su planificación para un exitoso proceso sensorial, además conocer el formulario de la prueba.



**SESION 02: INSTRUCCIÓN PARA EL BUEN DESARROLLO DEL PROCESO SENSORIAL**

Descripción	HORA
<b>Entrega de separatas</b>	9:00 a.m.
<b>Evaluación y retroalimentación de la sesión anterior</b>	9:10 a.m.
<p><b>La evaluación sensorial y su planificación.</b> Diseño y desarrollo secuencial de actividades, clasificación de análisis sensorial, clasificación de análisis estadísticos, prueba de hipótesis, escalas de calificación y escalas de calificación.</p> <p><b>Instrucción en la organización y formato de pruebas:</b> Familiarización con las cabinas, como son las pruebas sensoriales, si las muestras se presentan individualmente o agrupadas, como poner aviso al investigador y que hacer una vez completada la prueba.</p> <p><b>Familiarización del Proceso sensorial.</b> Se dará a conocer en que casos debe ingerirse la muestra o a sorbos, si debe escupirse o tragarse y como se procede al llenado de formatos y cuestiones de observaciones. Condiciones adecuadas del ambiente y laboratorio de evaluación sensorial (cabinas de degustación), preparación y presentación de muestras, numero y tamaño, presentación al jurado, uso de vehículos y diluciones.</p>	9:30 a.m.
<p><b>CASO PRÁCTICO.</b> Reconocimiento de las escalas de calificación (E. adimensionada, E. Dimensionada relativa, E. dimensionada Absoluta). <b>Cata Guiada:</b> Pruebas de discriminación de una bebida fermentada y realización de análisis sensorial con aplicación a la instrucción y familiarización del proceso sensorial. <b>Caso práctico:</b> Aplicación para realizar un análisis sensorial de Hidromiel.</p>	9:50 a.m.
<p><b>SESION DE DISCUSION.</b> Generación de vocablos, Definición y acuerdo sobre el Vocabulario que se utilizara durante el proceso sensorial.</p>	10:20 a.m.
<p><b>Cierre:</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones y Glosario sensorial.</p>	10:40 a.m.
<b>Revisión de material entregado + Examen</b>	11-3pm

**CUADRO 04: REQUERIMIENTOS PARA SESION 02**

Nº	Descripción	Unidad de Medida	Cantidad
1	Papel Bond	Unid	40
2	Plumón de colores	Unid	3
3	Vasos descartables	Unid	75
4	Papelotes	Unid	2
5	Proyector multimedia	Unid	1
6	Azúcar	g/L	16
7	Cloruro de Sodio	g/L	3
8	Acido cítrico	g/L	1
9	Cafeína	g/L	0.02



10	Hidromiel	ml	500
11	Chicha de Jora	ml	500
12	Agua de mesa	L	2

### TERCERA SESION: ENTRENAMIENTO GENERAL.

#### SESION 03: VALORACIÓN DE LA CAPACIDAD DEL JUEZ SELECCIONADO PARA DETECTAR LOS SABORES BÁSICOS: ÁCIDO, AMARGO, SALADO, DULCE y UMAMI; Y OLORES GENERALES.

En esta sesión se valorara la capacidad del juez para desarrollar su capacidad sensorial frente a los sabores básicos y olores generales en alimentos.

Descripción	HORA
<b>Entrega de separatas.</b>	9:00 a.m.
<b>Evaluación y retroalimentación de la sesión anterior</b>	9:10 a.m.
Instrucción sobre el papel de los sentidos (vista, olfato, gusto, tacto y oído), la interrelación de los sentidos, los sabores básicos (ácido, dulce, amargo, salado y umami). Aplicaciones de la evaluación sensorial.	9:30 a.m.
<b>CASO PRÁCTICO.</b> Memorizaciones de los sabores básicos (ácido, amargo, dulce, salado y umami) mediante pruebas de reconocimiento y reconocimiento de olores. <b>Cata guiada</b> para conocer la interrelación de los sentidos (Visión con gusto y olfato, gusto con olfato en alimentos líquidos).	9:50 a.m.
<b>SESION DE DISCUSION.</b> Generación de vocablos, Definición y acuerdo sobre el Vocabulario que se utilizara para la determinación de sabores básicos, olores y sobre la interacción de los sentidos para determinar una propiedad sensorial.	10:20 a.m.
<b>Cierre:</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones	10:40 a.m.
<b>Revisión de material entregado + Examen</b>	11-3pm

#### CUADRO 05: REQUERIMIENTOS PARA SESION 03

Nº	Descripción	Unidad de Medida	Cantidad
1	Papel Bond	Unid	100
2	Hidromiel	ml	500
3	Chicha de Jora	ml	500
4	Plumón de colores	Unid	3
5	Vasos descartables	Unid	100
6	Papelotes	Unid	2
7	Proyector multimedia	Unid	1
8	Azúcar	g/L	16
9	Cloruro de Sodio	g/L	3
10	Acido cítrico	g/L	1



11	Cafeína	g/L	0.02
12	Glutamato monosodico	g/L	1
13	Acido acético	ml	5
14	Alcohol etílico 96°GL	ml	25
15	Café	g	10
16	Miel	g	15
17	Menta	g	15
18	Diacetilo	ml	0.1
19	Acido butirico	ml	5
20	Agua de mesa	L	4
21	servilletas	unid	100

#### CUARTA SESION: ENTRENAMIENTO EN PRUEBAS ESPECÍFICAS

**SESION 04: REALIZACIÓN DE PRUEBAS DISCRIMINATIVAS PARA DETERMINAR DIFERENCIAS y GRADO DE PERCEPCION**, para que el juez pueda determinar diferencias entre dos o más bebidas fermentadas y además familiarizarse con el procedimiento y pueda conocer y comprender el atributo sensorial que sirve de base comparación (acidez, grado alcohólico).

Descripción	HORA
<b>Entrega de separatas.</b>	9:00 a.m.
<b>Evaluación y retroalimentación de la sesión anterior</b>	9:10 a.m.
<b>Instrucción de análisis discriminativas para determinar diferencias:</b> Finalidad y aplicación de pruebas discriminativas. Pruebas discriminativas comúnmente empleados (P. de comparación pareada simple, P. triangular, P. Dúo-Trío, P. de comparaciones múltiples, Ordenamiento o Ranking). Pruebas discriminativas para determinar grado de percepción (Umbral y resolución de percepción y Diluciones). Análisis estadísticos aplicados a las pruebas discriminativas. Demostración con un caso práctico.	9:30 a.m.
<b>CASO PRÁCTICO.</b> <b>Cata Guiada</b> de una bebida fermentada aplicando la prueba de comparaciones múltiples. <b>Cata Guiada</b> de una bebida fermentada aplicando la prueba triangular. <b>Demostración</b> con un caso práctico de aplicación de análisis estadístico para pruebas discriminativas.	9:50 a.m.
<b>SESION DE DISCUSION.</b> Generación de vocablos, Definición y acuerdo sobre el Vocabulario que se utiliza en pruebas discriminativas.	10:40 a.m.
<b>Cierre:</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones y glosario sensorial.	10:50 a.m.
<b>Revisión de material entregado + Examen</b>	11:00-3:00pm

**CUADRO 06: REQUERIMIENTOS PARA SESION 04**

Nº	Descripción	Unidad de Medida	Cantidad
1	Papel Bond	Unid	20
2	Chicha de Jora	L	2
3	Plumón de colores	Unid	3
4	Vasos descartables	Unid	15
5	Papelotes	Unid	2
6	Proyector multimedia	Unid	1
7	Azúcar	g	32
8	Acido cítrico	g	6
9	Agua de mesa	L	4

**QUINTA SESION: ENTRENAMIENTO EN PRUEBAS ESPECÍFICAS**

**SESION 05: REALIZACIÓN DE PRUEBAS DESCRIPTIVAS**, para que el juez pueda establecer descriptores para las características sensoriales de bebidas fermentadas y seguidamente utilizarlas los descriptores para cuantificar las diferencias entre productos.

Descripción	HORA
<b>Entrega de separatas.</b>	9:00 a.m.
<b>Evaluación y retroalimentación de la sesión anterior</b>	9:10 a.m.
<b>Instrucción en pruebas Descriptivos.</b> Finalidad y aplicación de pruebas descriptivos. Pruebas descriptivos comúnmente empleados (calificación con escalas estructuradas, con escalas estándar, medición de atributos con relación al tiempo, determinación de perfiles sensoriales de sabor y textura, relaciones psicofísicas y QDA).	9:30 a.m.
<b>CASO PRÁCTICO.</b> <b>Cata Guiada</b> de una bebida fermentada aplicando la categorización cualitativa y categorización cuantitativa relativa (pruebas de Ureña A.). <b>Cata Guiada</b> de una bebida fermentada aplicando la técnica de perfil de sabor a una bebida fermentada. <b>Demostración</b> con un caso práctico de aplicación de análisis estadístico para pruebas descriptivas.	9:50 a.m.
<b>SESION DE DISCUSION.</b> Generación de vocablos, Definición y acuerdo sobre el Vocabulario que se utilizara para la determinación de sabores básicos, olores y sobre la interacción de los sentidos para determinar una propiedad sensorial.	10:20 a.m.
<b>Cierre:</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones y glosario sensorial.	10:40 a.m.
<b>Revisión de material entregado + Examen</b>	11-3pm

**CUADRO 07: REQUERIMIENTOS PARA SESION 05**

Nº	Descripción	Unidad de Medida	Cantidad
1	Papel Bond	Unid	80
3	Chicha de Jora elaborada artesanalmente 1	L	2
4	Chicha de Jora elaborada artesanalmente 2	L	2
5	Chicha de Jora elaborada artesanalmente 3	L	2
6	Chicha de Jora elaborada artesanalmente 4	L	2
7	Plumón de colores	Unid	3
8	Vasos descartables	Unid	15
9	Papelotes	Unid	6
10	Proyector multimedia	Unid	1
11	Azúcar	g	32
12	Acido cítrico	g	6
13	Agua de mesa	L	4

**SEXTA SESION: ENTRENAMIENTO EN PRUEBAS ESPECÍFICAS**

**SESION 06: REALIZACIÓN DE PRUEBAS AFECTIVAS**, para que el juez pueda conocer la aceptabilidad de una bebida fermentada, así como su preferencia de consumo.

Descripción	HORA
<b>Entrega de separatas.</b>	9:00 a.m.
<b>Evaluación y retroalimentación de la sesión anterior</b>	9:10 a.m.
<b>Instrucción en Pruebas Afectivas</b> Finalidad y aplicación de pruebas Afectivas. Pruebas Afectivas comúnmente empleados (preferencia o aceptabilidad pareados, ordenamiento para análisis afectivos, medida del grado de satisfacción (Rating).	9:30 a.m.
<b>CASO PRÁCTICO.</b> <b>Cata Guiada</b> de una bebida fermentada aplicando la prueba de apreciación hedónica. <b>Cata Guiada</b> de una bebida fermentada aplicando la prueba de preferencia. <b>Demostración</b> con un caso práctico de aplicación de análisis estadístico para pruebas afectivas.	9:50 a.m.
<b>SESION DE DISCUSION.</b> Generación de vocablos, Definición y acuerdo sobre el Vocabulario que se utiliza para pruebas afectivas.	10:20 a.m.
<b>Cierre:</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones y Glosario sensorial.	10:40 a.m.
<b>Revisión de material entregado + Examen</b>	11-3pm

**CUADRO 08: REQUERIMIENTOS PARA SESION 06**

N°	Descripción	Unidad de Medida	Cantidad
1	Papel Bond	Unid	80
3	Chicha de Jora elaborada artesanalmente 1	L	2
4	Chicha de Jora elaborada artesanalmente 2	L	2
5	Chicha de Jora elaborada artesanalmente 3	L	2
6	Chicha de Jora elaborada a nivel laboratorio	L	2
7	Plumón de colores	Unid	3
8	Vasos descartables	Unid	80
9	Papelotes	Unid	6
10	Proyector multimedia	Unid	1
11	Azúcar	g	32
12	Acido cítrico	g	6
13	Agua de mesa	L	3

**SETIMA SESION: ENTRENAMIENTO EN PRUEBAS ESPECÍFICAS  
SESION 07: ENTRENAMIENTO DE JUECES SELECCIONADOS EN ATRIBUTOS Y PRUEBAS ESPECIFICOS DE UNA BEBIDA ESPECÍFICA.**

Familiarizar a los catadores con las diferentes variantes olfato-gustativas-visuales que ofrece las bebidas fermentadas.

Descripción	HORA
<b>Entrega de separatas</b>	9:00 a.m.
<b>Exposición del proceso de elaboración de bebidas fermentadas (la Chicha de jora y sus características sensoriales)</b> Proceso de elaboración, origen de las características sensoriales en la chicha, atributos sensoriales de la chicha de jora y aspectos positivos y negativos de bebidas fermentadas.	9:10 a.m.
<b>CASO PRÁCTICO.</b> Reconocimiento de sabores y olores de la chicha de jora. Presentación de Pruebas de discriminación. Reconocimiento de Rueda de Aromas.	9:30 a.m.
<b>SESION DE DISCUSION.</b> Generación de vocablos, Definición y acuerdo sobre el Vocabulario que se utilizara durante y después del reconocimiento de sabores de la chicha de jora.	10:10 a.m.
<b>Cierre:</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones y Glosario sensorial.	10:30 a.m.

**CUADRO 09: REQUERIMIENTOS PARA SESION 07**

Nº	Descripción	Unidad de Medida	Cantidad
1	Papel Bond	Unid	60
2	Chicha de Jora elaborada a nivel escala piloto.	L	2
3	Plumón de colores	Unid	3
4	Vasos descartables	Unid	85
5	Papelotes	Unid	6
6	Proyector multimedia	Unid	1
7	Azúcar	g	32
8	Acido cítrico	g	6
9	Agua de mesa	L	3

**OCTAVA SESION: ENTRENAMIENTO EN PRUEBAS ESPECÍFICAS****SESION 08: DETERMINACION DEL UMBRAL DE PERCEPCION DE LOS SABORES BASICOS Y AROMAS DE BEBIDAS FERMENTADAS.**

Se desarrollará con la finalidad de mejorar la sensibilidad y la memoria frente a los diferentes atributos considerados, con el fin de obtener juicios consistentes. A la vez se logrará la estandarización de atributos sensoriales para desarrollar el perfil sensorial.

Para ello esta sesión estará diseñada con la finalidad de reconocer los sabores y aromas asociados con los atributos tanto positivos como negativos de una bebida alcohólica fermentada. Para esto, las muestras se presentaran en sesiones abiertas, para posteriormente ser reconocidas en sesiones cerradas.

Descripción	HORA
<b>Entrega de separatas.</b>	9:00 a.m.
<b>Evaluación y retroalimentación de la sesión anterior</b>	9:10 a.m.
Retroalimentación teórica en pruebas descriptivas Consideraciones generales de umbral y resolución de percepción.	9:30 a.m.
<b>CASO PRÁCTICO.</b> <b>Cata Guiada:</b> Determinaciones de umbrales de percepción utilizando como diluyente la chicha de jora <b>Cata Guiada:</b> Determinación del grado de percepción por técnicas de Dilución, utilizando como diluyente la chicha de jora para reconocimiento de aromas y sabores presentes en una bebida alcohólica fermentada.	9:50 a.m.
<b>SESION DE DISCUSION.</b> Generación de vocablos, Definición y acuerdo sobre el Vocabulario que se utiliza para determinar umbrales de percepción.	10:20 a.m.
<b>Cierre:</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones y Glosario sensorial.	10:40 a.m.
<b>Revisión de material entregado y comprobación de la efectividad del entrenamiento.</b>	11-3pm

**CUADRO 10: REQUERIMIENTOS PARA SESION 08**

N°	Descripción	Unidad de Medida	Cantidad
1	Papel Bond	Unid	80
2	Chicha de Jora elaborada a nivel escala piloto.	L	2
3	Plumón de colores	Unid	3
4	Vasos descartables	Unid	85
5	Papelotes	Unid	6
6	Proyector multimedia	Unid	1
7	Azúcar	g	32
8	Acido cítrico	g	6
9	Levaduras	ml	25
10	Acido acético	ml	20
11	Jora de Maíz	g	50
12	Etanol 96°	ml	50
13	Agua de mesa	L	3

**NOVENA SESION: ENTRENAMIENTO EN PRUEBAS ESPECÍFICAS**

**SESION 09: REALIZACION DE UNA PRUEBA DESCRIPTIVA CUANTITATIVA**

Habituarse a los catadores con la metodología sensorial específica, incrementando la habilidad individual para reconocer y cuantificar los atributos sensoriales positivos y negativos de bebidas fermentadas. Realización de Perfiles descriptivo del Sabor aplicado a una bebida fermentada específica (Chicha de Jora).

Descripción	HORA
<b>Entrega de separatas</b>	9:00 a.m.
<b>Generalidades:</b> Generalidades y aplicaciones Utilización de escalas estructuradas Escalas de intensidad. <b>Instrucción en criterios a considerar para desarrollar perfiles sensoriales.</b> Generación y selección de descriptores. Diseño de la matriz de evaluación Medición de la intensidad de los descriptores Obtención del perfil de sabor.	9:10 a.m.
<b>DEMOSTRACION PRÁCTICA.</b> Presentación de Descriptores generales en bebidas fermentadas. <b>Cata guiada:</b> Determinación del perfil descriptivo de sabor para la chicha de jora.	9:30 a.m.
<b>SESION DE DISCUSION.</b> Generación de vocablos, Definición y acuerdo sobre el Vocabulario que se utiliza para determinación de perfiles descriptivos de sabor de la chicha de jora.	10:10 a.m.

<b>Cierre:</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones y Glosario sensorial.	10:30 a.m.
<b>Revisión de material entregado y comprobación de la efectividad del entrenamiento.</b>	11-3pm

\*Se repetirá la sesión si no se espera una respuesta acertada o que satisfice la efectividad en sus resultados de cada juez y realizara las veces que sean necesarios hasta alcanzar correlación entre jueces.

#### CUADRO 11: REQUERIMIENTOS PARA SESION 09

Nº	Descripción	Unidad de Medida	Cantidad
1	Papel Bond	Unid	80
3	Chicha de Jora elaborada escala piloto 1	L	2
4	Chicha de Jora elaborada escala piloto 2	L	2
5	Chicha de Jora elaborada escala piloto 3	L	2
6	Chicha de Jora elaborada escala piloto 4	L	2
7	Plumón de colores	Unid	3
8	Vasos descartables	Unid	15
9	Papelotes	Unid	6
10	Proyector multimedia	Unid	1
11	Azúcar	g	32
12	Acido cítrico	g	6
13	Agua de mesa	L	4

#### DECIMA SESION: EVALUACIÓN DEL NIVEL DE APTITUD ALCANZADO

##### SESION 10: EVALUACIÓN DEL NIVEL DE APTITUD ALCANZADO POR LOS CATADORES.

Determinación del umbral promedio del grupo de aspirantes utilizando técnicas de dilución, para los defectos de la chicha de jora que determinan su calidad consensuada por el panel de jueces entrenado.

Descripción	HORA
<b>Entrega de separatas.</b>	9:00 a.m.
<b>Evaluación y retroalimentación de la sesión anterior</b>	9:10 a.m.
Retroalimentación teórica del proceso sensorial.	9:30 a.m.
<b>CASO PRÁCTICO.</b> <b>Cata Guiada:</b> prueba de diluciones utilizando como diluyente la chicha de jora para evaluar la calidad sensorial de la chicha de jora. <b>Cata Guiada:</b> Realización de pruebas discriminativas utilizando una prueba triangular aplicando bebidas de control. <b>Cata Guiada:</b> Realización de pruebas discriminativas utilizando una	9:50 a.m.

prueba de comparación pareada utilizando cuatro bebidas alcohólicas fermentadas.	
<b>SESION DE DISCUSION.</b> Generación de vocablos, Definición y acuerdo sobre el Vocabulario que se utiliza para la evaluación de efectividad del entrenado.	10:20 a.m.
<b>Cierre:</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones.	10:40 a.m.
<b>Revisión de material entregado y comprobación de la efectividad del entrenamiento.</b>	11-3pm

## UNDECIMA SESION: EVALUACIÓN DEL NIVEL DE APTITUD ALCANZADO

### SESION 11: EVALUACIÓN DEL NIVEL DE APTITUD ALCANZADO POR LOS CATADORES.

Determinación del umbral promedio del grupo de aspirantes utilizando técnicas de comparación pareada, para los defectos de la chicha de jora que determinan su calidad consensuada por el panel de jueces entrenado.

Descripción	HORA
<b>Entrega de separatas.</b>	9:00 a.m.
<b>Evaluación y retroalimentación de la sesión anterior</b>	9:10 a.m.
Retroalimentación teórica del proceso sensorial.	9:30 a.m.
<b>CASO PRÁCTICO.</b> <b>Cata Guiada:</b> Realización de pruebas descriptivas utilizando cuatro bebidas alcohólicas fermentadas.	9:50 a.m.
<b>SESION DE DISCUSION.</b> Generación de vocablos, Definición y acuerdo sobre el Vocabulario que se utiliza en evaluación de la efectividad del entrenamiento.	10:20 a.m.
<b>Cierre:</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones	10:40 a.m.
<b>Revisión de material entregado y comprobación de la efectividad del entrenamiento.</b>	11-3pm

### DIA DE LA CATAACION: CUATRO (4) DIAS.

Realización de las pruebas sensoriales aplicativo a la chicha de jora elaborada en laboratorio.

Descripción	HORA
<b>Evaluación y retroalimentación del proceso sensorial</b>	9:10 a.m.
<b>CATAACION</b> <b>DIA 1:</b> Evaluación de notas de "off-flavor" para chicha de jora mediante escala coordinada polar con medias (Perfil descriptivo cuantitativo de sabor y aroma para la chicha de jora). <b>DIA 2:</b> Evaluación de la aceptabilidad general de la chicha de jora mediante pruebas de escala hedónica. <b>DIA 3:</b> Estimación de sabor ideal de la chicha de jora	10:20 a.m.
<b>Cierre:</b> Sugerencias y/o Observaciones de problemas encontrados. Generación de conclusiones	12:40 p.m.



## IX. BIBLIOGRAFIA

- Anzaldúa-Morales, A. 1993. La evaluación sensorial de los alimentos en la teoría y en la práctica. Ed. Acribia. S. A. Zaragoza. España.
- Carpenter, R *et al.* 2002. Análisis sensorial en el desarrollo y control de calidad de los Alimentos. Ed. Acribia. S. A. Zaragoza. España.
- Espinosa, J. M. 2000. Procedimiento para la selección. Adiestramiento y comprobación de catadores en Cuba. Tesis de doctorado en Ciencias Alimentarias. C, Habana. Cuba.
- Pedrero, D. L. y Pangboon, R. M. 1989. Evaluación Sensorial de los Alimentos. Métodos Analíticos. Ed. Alhambra Mexicana S:A: de C:V: 1era edición págs. 39-45.
- Stone, H.; Sidel, J. 1998. Quantitative Descriptive Analysis: Developments, Applications, and the Future. Food Technology 52: 48-52.
- Torricella Morales, R.G. 2007. Evaluación Sensorial aplicada a la investigación, desarrollo y control de la calidad en la Industria Alimentaria / Raul G. Torricella Morales, Esperanza Zamora Utset y Horacio Pulido Alvarez.: Ed. Universitaria. 2007. 2 ed. Ciudad de La Habana-Cuba
- Ureña, M. y D'arrigo, M. 1999. Evaluación sensorial de Alimentos. Ed. Agraria. Lima- Peru. 215 pag.

Abancay, Febrero del 2010

.....  
Bach. Jorge Pacheco Vargas



## ANEXO 04: HOJA DE CATA UTILIZADA

### PRUEBA DESCRIPTIVA CUANTITATIVA

Nombres y Apellidos: FRESNEL ROSADO QUISPE Fecha: 07/05/20  
Código Muestra: 042

#### INDICACIONES:

1. Ud. recibirá 4 muestras de chicha de jora rotuladas y mezclados aleatoriamente.
2. CADA MUESTRA EVALUARA EN CADA HOJA.
3. Con los descriptores sensoriales generados, mida **LA INTENSIDAD** de los respectivos descriptores sensoriales, considerando los alimentos ancla o de referencia, **MARCANDO** con una línea vertical sobre la escala lineal mostrada abajo e Indique el código al lado de la línea vertical.
4. Sírvase evaluar el sabor de las muestras de chicha de jora haciendo girar la copa de forma circular y luego inclinarla en un ángulo de 45° respecto a la nariz, para capturar el aroma. **NO OLVIDE ENJUAGAR SU BOCA ENTRE CADA MUESTRA.**
5. Recuerde que la evaluación debe ser realizada entre intervalos de 1 minuto entre cada muestra.

Sabor Acido



Sabor Alcohólico



Sabor a levadura



Sabor Agrio



Sabor a Jora



Intensidad de Aroma



Intensidad Color pardo oscuro



Aceptabilidad General



Comentarios y Sugerencias:

.....  
.....  
.....

*Muchas gracias por su participación!!!*

# APENDICES



APENDICE I: RESPUESTAS DE LOS JUECES PARA LOS ATRIBUTOS SENSORIALES EVALUADOS EN LA CHICHA DE JORA OBTENIDA CON UNA CEPA NATIVA *Saccharomyces sp*

CUADRO 01: RESPUESTAS DE JUECES PARA EL SABOR ACIDO DE LA CHICHA DE JORA ELABORADA CON UNA CEPA NATIVA *Saccharomyces sp*

Tratamiento	Temperatura (°C)	Velocidad de aireación (L/min)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	PROMEDIO
1	20	0	1,9	2,4	3,2	2,6	1,5	0,0	2,0	2,1	1,96
1	20	0	1,9	2,5	3,1	2,5	1,6	0,2	2,0	2,1	1,99
1	20	0	2,0	2,4	3,3	2,5	1,4	0,1	1,9	2,2	1,97
2	30	0	3,4	0,6	1,8	4,0	3,0	0,1	3,2	3,3	2,41
2	30	0	3,5	0,5	1,9	4,0	3,0	0,1	3,2	3,2	2,43
2	30	0	3,4	0,5	1,8	4,1	3,1	0,1	3,1	3,4	2,43
3	20	0,8	1,3	2,0	1,5	3,2	2,2	1,5	2,7	2,8	2,15
3	20	0,8	1,4	2,0	1,6	3,1	2,1	1,4	2,5	2,9	2,13
3	20	0,8	1,3	2,1	1,4	3,3	2,5	0,8	2,8	2,7	2,12
4	30	0,8	2,8	2,0	4,0	4,6	4,0	1,1	4,1	2,0	3,08
4	30	0,8	2,8	2,0	4,0	4,5	4,0	2,1	4,0	2,0	3,18
4	30	0,8	3,0	1,9	4,0	4,6	4,0	2,0	4,1	2,2	3,23

**CUADRO 02: RESPUESTAS DE JUECES PARA EL SABOR ALCOHOLICO DE LA CHICHA DE JORA ELABORADA CON UNA CEPA NATIVA *Saccharomyces sp***

Tratamiento	Temperatura (°C)	Velocidad de aireación (L/min)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	PROMEDIO
1	20	0	0,9	2,0	1,7	1,8	1,0	0,0	1,7	1,5	1,33
1	20	0	1,1	2,3	1,8	1,6	1,4	1,5	1,2	2,1	1,63
1	20	0	0,9	2,1	1,9	2,0	1,1	0,4	2,3	2,0	1,59
2	30	0	0,9	2,4	3,3	3,0	1,3	2,3	3,0	1,4	2,20
2	30	0	0,8	2,1	3,6	2,9	1,5	1,9	3,5	0,9	2,15
2	30	0	1,1	2,6	3,2	3,3	0,9	2,6	3,0	1,9	2,33
3	20	0,8	2,3	2,8	3,0	3,0	3,6	0,0	3,0	3,2	2,62
3	20	0,8	2,5	2,5	3,1	2,8	3,8	0,6	2,5	3,5	2,67
3	20	0,8	2,4	2,9	3,0	3,2	4,0	0,5	3,3	2,8	2,77
4	30	0,8	2,7	1,8	1,5	2,5	2,9	1,7	2,2	0,9	2,03
4	30	0,8	2,6	1,7	1,6	2,6	3,1	1,5	2,5	0,5	2,02
4	30	0,8	2,8	1,9	1,5	2,8	2,7	2,0	2,0	0,3	2,00

**CUADRO 03: RESPUESTAS DE JUECES PARA EL SABOR LEVADURA DE LA CHICHA DE JORA ELABORADA CON UNA CEPA NATIVA *Saccharomyces sp***

Tratamiento	Temperatura (°C)	Velocidad de aireación (L/min)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	PROMEDIO
1	20	0	1,5	1,0	1,6	2,3	1,8	2,0	3,0	2,0	1,90
1	20	0	1,5	0,8	1,5	2,6	2,0	2,3	3,0	2,2	1,99
1	20	0	1,7	1,3	1,8	2,0	2,5	2,0	3,2	1,7	2,03
2	30	0	1,4	1,3	2,0	2,0	2,0	2,2	2,4	1,8	1,89
2	30	0	1,5	1,2	2,0	2,0	2,0	2,5	2,5	1,7	1,93
2	30	0	1,3	1,5	1,8	1,7	2,3	2,0	2,3	1,9	1,85
3	20	0,8	2,3	1,5	2,7	2,7	3,6	1,0	2,9	3,1	2,48
3	20	0,8	2,2	1,7	2,5	2,5	3,5	1,0	2,8	3,1	2,41
3	20	0,8	2,5	1,4	2,8	2,9	3,2	1,3	3,0	3,0	2,51
4	30	0,8	1,3	0,6	3,0	3,3	3	1,8	3,0	2,6	2,33
4	30	0,8	1,5	0,5	3,2	3,5	3,2	1,8	2,6	2,5	2,35
4	30	0,8	1,4	1,0	3,2	3,0	3,2	1,5	3,3	2,5	2,39

**CUADRO 04: RESPUESTAS DE JUECES PARA EL SABOR AGRIO DE LA CHICHA DE JORA ELABORADA CON UNA CEPA NATIVA *Saccharomyces sp***

Tratamiento	Temperatura (°C)	Velocidad de aireación (L/min)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	PROMEDIO
1	20	0	0,9	3,0	1,7	1,2	2,6	1,0	1,5	2,5	1,80
1	20	0	1,3	3,2	1,5	1,0	2,7	0,8	1,4	2,3	1,78
1	20	0	1,2	3,0	1,8	1,1	2,5	0,9	1,4	2,0	1,74
2	30	0	3,8	1,0	1,3	3,8	4,6	2,0	3,6	1,8	2,74
2	30	0	4,1	0,9	1,2	3,9	4,3	2,2	3,5	1,9	2,75
2	30	0	3,9	1,2	1,5	4,2	4,4	1,8	3,2	1,5	2,72
3	20	0,8	0,5	2,0	3,8	2,6	2,5	1,8	2,0	2,3	2,19
3	20	0,8	0,5	2,4	3,5	2,5	2,4	2,0	2,0	2,4	2,22
3	20	0,8	0,6	1,8	3,8	2,4	2,5	1,9	1,9	2,2	2,14
4	30	0,8	3,4	1,5	3,2	3,0	4,0	3,0	3,2	2,5	2,98
4	30	0,8	3,6	1,3	3,0	3,2	3,5	3,2	3,5	2,3	2,95
4	30	0,8	3,3	1,8	2,8	3,1	3,9	3,2	3,0	2,4	2,94

**CUADRO 05: RESPUESTAS DE JUECES PARA EL SABOR A JORA DE LA CHICHA DE JORA ELABORADA CON UNA CEPA NATIVA *Saccharomyces sp***

Tratamiento	Temperatura (°C)	Velocidad de aireación (L/min)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	PROMEDIO
1	20	0	1,5	2,0	3,0	1,2	2,4	1,0	1,8	1,8	1,84
1	20	0	1,5	2,0	3,2	1,3	2,3	1,2	1,5	1,9	1,86
1	20	0	1,6	1,9	2,9	1,2	2,4	1,4	2,0	1,7	1,88
2	30	0	1,3	1,4	1,0	2,0	2,0	2,6	2,3	2,0	1,83
2	30	0	1,5	1,5	0,9	2,1	2,1	2,4	2,4	2,2	1,88
2	30	0	1,3	1,6	1,1	1,9	2,0	2,5	2,3	2,1	1,85
3	20	0,8	1,3	1,5	1,6	2,0	3,0	2,0	2,0	2,6	2,00
3	20	0,8	1,5	1,7	1,7	2,1	3,4	2,1	2,3	2,5	2,17
3	20	0,8	1,6	1,8	1,8	2,3	3,2	1,9	2,2	2,4	2,15
4	30	0,8	1,5	1,0	2,2	2,2	2,6	3,0	2,4	2,3	2,15
4	30	0,8	1,6	1,5	2,1	2,1	2,4	2,8	2,3	2,4	2,15
4	30	0,8	1,4	0,9	2,0	2,0	3,0	3,2	2,4	2,4	2,16



**CUADRO 06: RESPUESTAS DE JUECES PARA LA INTENSIDAD DE AROMA DE LA CHICHA DE JORA ELABORADA CON UNA CEPA NATIVA *Saccharomyces sp***

Tratamiento	Temperatura (°C)	Velocidad de aireación (L/min)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	PROMEDIO
1	20	0	1,9	2,5	3,2	2,0	3,0	4,0	2,0	2,5	2,64
1	20	0	1,8	2,4	3,4	1,8	3,4	4,1	1,9	2,6	2,68
1	20	0	1,9	2,6	3,0	2,2	2,8	4,2	2,4	2,7	2,73
2	30	0	1,6	2,0	0,8	2,0	3,4	4,0	1,9	2,6	2,29
2	30	0	1,8	2,4	0,9	2,1	3,2	4,2	1,7	2,4	2,34
2	30	0	1,5	2,3	0,6	2,3	3,1	4,1	2,0	2,7	2,33
3	20	0,8	1,3	2,5	2,4	3,0	3,9	2,0	3,0	3,0	2,64
3	20	0,8	1,4	2,4	2,3	3,1	3,5	2,1	3,1	3,4	2,67
3	20	0,8	1,5	2,7	2,3	2,8	3,8	2,4	2,7	3,1	2,66
4	30	0,8	2,5	3,0	3,8	2,0	3,0	2,0	1,9	2,1	2,54
4	30	0,8	2,3	3,3	3,5	1,9	3,0	2,1	2,1	2,3	2,56
4	30	0,8	2,8	2,9	3,7	2,1	2,7	2,2	1,6	2,0	2,50



**CUADRO 07: RESPUESTAS DE JUECES PARA LA INTENSIDAD COLOR PARDO OSCURO DE LA CHICHA DE JORA ELABORADA CON UNA CEPA NATIVA *Saccharomyces sp***

Tratamiento	Temperatura (°C)	Velocidad de aireación (L/min)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	PROMEDIO
1	20	0	2,8	0,6	1,8	1,5	4,0	3,3	1,9	1,5	2,17
1	20	0	2,5	0,5	1,7	1,5	3,8	3,0	1,8	1,6	2,05
1	20	0	2,9	0,9	2,0	1,8	3,9	3,0	2,1	1,5	2,26
2	30	0	3,8	2,0	4,0	2,0	3,0	4,5	2,3	2,2	2,98
2	30	0	3,5	2,1	3,9	2,1	3,4	4,0	2,0	2,1	2,89
2	30	0	3,4	2,0	3,8	1,8	2,8	4,3	2,5	2,0	2,83
3	20	0,8	3,3	2,5	2,8	3,6	2,0	4,0	3,1	2,0	2,91
3	20	0,8	3,2	2,6	2,9	3,5	2,1	3,8	3,0	1,9	2,88
3	20	0,8	3,5	2,0	3,0	3,4	2,2	4,1	3,2	2,3	2,96
4	30	0,8	1,3	3,0	0,8	2,7	1,0	2,0	2,0	2,1	1,86
4	30	0,8	1,5	2,8	0,9	2,5	0,6	2,3	2,1	2,0	1,84
4	30	0,8	1,2	3,0	1,0	2,5	1,8	1,5	2,2	1,9	1,89

**CUADRO 08: RESPUESTAS DE JUECES PARA LA ACEPTABILIDAD GENERAL DE LA CHICHA DE JORA ELABORADA CON UNA CEPA NATIVA *Saccharomyces sp***

Tratamiento	Temperatura (°C)	Velocidad de aireación (L/min)	P1	P2	P3	P4	P5	P6	P7	P8	PROMEDIO
1	20	0	1,7	2,0	3,6	2,5	2,4	2,2	2,3	3,0	2,46
1	20	0	2,0	2,1	3,7	1,9	2,3	2,4	2,2	3,1	2,46
1	20	0	2,0	2,2	3,5	2,6	2,1	2,0	2,1	3,3	2,48
2	30	0	0,9	2,0	1,8	2,0	5,0	2,0	2,4	3,0	2,39
2	30	0	1,0	2,0	1,9	2,1	4,3	2,3	2,4	3,1	2,39
2	30	0	0,8	2,3	2,0	1,8	4,6	1,9	2,7	2,9	2,38
3	20	0,8	2,3	3,0	2,9	3,7	0,5	2,0	2,8	2,4	2,45
3	20	0,8	2,5	3,1	3,0	3,8	0,5	1,9	2,5	2,5	2,48
3	20	0,8	2,4	2,6	2,7	3,5	1,4	1,5	2,9	2,6	2,45
4	30	0,8	2,6	2,4	0,7	1,0	4,4	2,0	1,3	1,5	1,99
4	30	0,8	2,5	2,3	0,5	1,1	3,9	2,3	1,5	1,7	1,98
4	30	0,8	2,7	2,4	0,6	0,9	4,2	1,9	1,6	1,4	1,96

**APENDICE II: ANÁLISIS DE VARIANZA Y PRUEBA DE DUNCAN PARA LAS MUESTRAS DE CHICHA DE JORA CALIFICADA POR JUECES.**

**Cuadro 09:** Análisis de varianza para la variable Sabor Acido de las cuatro muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp*, evaluados por el panel sensorial.

Factor	ANOVA; Var.:Sabor Acido; R-sqr=,99487; 2**(2-0) design; MS Residual=,0016016 DV: Sabor Acido				
	SC	GL	CM	F	p
(1)Temperatura (°C)	1,631719	1	1,631719	1018,829	0,000000
(2)Volumen de Aireacion (L/min)	0,596302	1	0,596302	372,325	0,000000
1 by 2	0,255208	1	0,255208	159,350	0,000001
Error	0,012813	8	0,001602		
Total SC	2,496042	11			

**Cuadro 10:** Comparación múltiple de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) para el sabor acido de 4 muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp*.

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	a	b	c
T1	3	1,9750			
T2	3		2,1292		
T3	3			2,4208	
T4	3				3,1583
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )*

**Cuadro 11:** Análisis de varianza para la variable Sabor alcohólico de las cuatro muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp*, evaluados por el panel sensorial.

Factor	ANOVA; Var.:SABOR ALCOHOLICO; R-sqr=,96275; 2**(2-0) design; MS Residual=,0102083 DV: SABOR ALCOHOLICO				
	SC	GL	CM	F	p
(1)Temperatura (°C)	0,001576	1	0,001576	0,1543	0,704686
(2)Volumen de Aireacion (L/min)	0,682826	1	0,682826	66,8890	0,000037
1 by 2	1,426576	1	1,426576	139,7462	0,000002
Error	0,081667	8	0,010208		
Total SC	2,192643	11			

**Cuadro 12:** Comparación múltiple de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) para el sabor alcohólico de 4 muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp*.

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	a	b	c
T1	3	1,5167			
T4	3		2,0133		
T3	3			2,2267	
T2	3				2,6767

*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )*



**Cuadro 13:** Análisis de varianza para la variable Sabor a Levadura de las cuatro muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp*, evaluados por el panel sensorial.

ANOVA; Var.:SABOR A LEVADURA; R-sqr=,97558; Adj:,96643 2**(2-0) design; MS Residual=,0022656 DV: SABOR A LEVADURA					
Factor	SC	GL	CM	F	p
(1)Temperatura (°C)	0,028763	1	0,028763	12,6954	0,007368
(2)Volumen de Aireacion (L/min)	0,694805	1	0,694805	306,6724	0,000000
1 by 2	0,000638	1	0,000638	0,2816	0,610059
Error	0,018125	8	0,002266		
Total SC	0,742331	11			

**Cuadro 14:** Comparación múltiple de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) para el sabor A levadura de 4 muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp*.

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05		
		1	a	b
T3	3	1,8900		
T1	3	1,9733		
T4	3		2,3567	
T2	3			2,4667
Sig.		,071	1,000	1,000

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

**Cuadro 15:** Análisis de varianza para la variable Sabor Agrio de las cuatro muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp*, evaluados por el panel sensorial.

ANOVA; Var.:SABOR AGRIO; R-sqr=,99755; Adj:,99663 2**(2-0) design; MS Residual=,0007943 DV: SABOR AGRIO					
Factor	SC	GL	CM	F	p
(1)Temperatura (°C)	2,264180	1	2,264180	2850,639	0,000000
(2)Volumen de Aireacion (L/min)	0,296888	1	0,296888	373,787	0,000000
1 by 2	0,026367	1	0,026367	33,197	0,000423
Error	0,006354	8	0,000794		
Total SC	2,593789	11			

**Cuadro 16:** Comparación múltiple de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) para el sabor Agrio de 4 muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp.*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05			
		1	a	b	c
T1	3	1,7708			
T2	3		2,1792		
T3	3			2,7333	
T4	3				2,9542
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000

*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )*

**Cuadro 17:** Análisis de varianza para la variable Sabor a jora de las cuatro muestras de chicha de jora, evaluados por el panel sensorial.

Factor	ANOVA; Var.: SABOR A JORA; R-sqr=,91918; Adj:,8888; 2**(2-0) design; MS Residual=,0024609 DV: SABOR A JORA				
	SC	GL	CM	F	p
(1)Temperatura (°C)	0,001302	1	0,001302	0,52910	0,487724
(2)Volumen de Aireacion (L/min)	0,220052	1	0,220052	89,41799	0,000013
1 by 2	0,002552	1	0,002552	1,03704	0,338317
Error	0,019688	8	0,002461		
Total SC	0,243594	11			

**Cuadro 18:** Comparación múltiple de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) para el sabor a jora de 4 muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp.*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05	
		a	b
T3	3	1,8542	
T1	3	1,8625	
T2	3		2,1042
T4	3		2,1542
Sig.		,842	,252

*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )*

**Cuadro 19:** Análisis de varianza para la variable Intensidad de Aroma de las cuatro muestras de chicha de jora, evaluados por el panel sensorial.

ANOVA; Var.:INTENSIDAD DE AROMA; R-sqr=,97008; Adj:,95886 2**(2-0) design; MS Residual=,0009505 DV: INTENSIDAD DE AROMA					
Factor	SC	GL	CM	F	p
(1)Temperatura (°C)	0,175208	1	0,175208	184,3288	0,000001
(2)Volumen de Aireacion (L/min)	0,027552	1	0,027552	28,9863	0,000659
1 by 2	0,043802	1	0,043802	46,0822	0,000139
Error	0,007604	8	0,000951		
Total SC	0,254167	11			

**Cuadro 20:** Comparación múltiple de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) para la intensidad de aroma de 4 muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp.*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05		
		a	b	c
T3	3	2,3167		
T4	3		2,5333	
T2	3			2,6542
T1	3			2,6792
Sig.		1,000	1,000	,350

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )

**Cuadro 21:** Análisis de varianza para la variable Intensidad color pardo oscuro de las cuatro muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp.*, evaluados por el panel sensorial.

ANOVA; Var.:Intensidad color pardo oscuro; R-sqr=,98473; Adj:,979 2**(2-0) design; MS Residual=,0049089 DV: Intensidad color pardo oscuro					
Factor	SC	GL	CM	F	p
(1)Temperatura (°C)	0,077201	1	0,077201	15,7268	0,004144
(2)Volumen de Aireacion (L/min)	0,058451	1	0,058451	11,9072	0,008686
1 by 2	2,396367	1	2,396367	488,1724	0,000000
Error	0,039271	8	0,004909		
Total SC	2,571289	11			

**Cuadro 22:** Comparación múltiple de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) para la intensidad de color pardo oscuro de 4 muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp.*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05		
		a	b	c
T4	3	1,8625		
T1	3		2,1625	
T3	3			2,8958
T2	3			2,9167

Letras distintas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ )



**Cuadro 23:** Análisis de varianza para la variable Aceptabilidad General de las cuatro muestras de chicha de jora, evaluados por el panel sensorial.

ANOVA; Var.:ACEPTABILIDAD GENERAL; R-sqr=,99809; Adj.,9973 2**(2-0) design; MS Residual=,0001172 DV: ACEPTABILIDAD GENERAL					
Factor	SC	GL	CM	F	p
(1)Temperatura (°C)	0,240833	1	0,240833	2055,111	0,000000
(2)Volumen de Aireacion (L/min)	0,130208	1	0,130208	1111,111	0,000000
1 by 2	0,120000	1	0,120000	1024,000	0,000000
Error	0,000937	8	0,000117		
Total SC	0,491979	11			

**Cuadro 24:** Comparación múltiple de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) para la aceptabilidad general de 4 muestras de chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp.*

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = .05		
		a	b	c
T4	3	1,9750		
T3	3		2,3833	
T2	3			2,4583
T1	3			2,4667
Sig.		1,000	1,000	,373

*Letras distintas indican diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ )*

**Cuadro 25:** Comparación múltiple de medias de Duncan ( $p < 0,05$ ) para % Etanol obtenido de 4 tratamientos en la chicha de jora elaborada con una cepa nativa *Saccharomyces sp.*

TTO	N	Subconjunto para alfa = .05			
		2	3	4	1
4,00	3	3,8000			
1,00	3		3,9467		
3,00	3			4,3406	
2,00	3				4,5267
Sig.		1,000	1,000	1,000	1,000