

Estudio de componentes del flavor presentes en bebidas alcohólicas destiladas a partir de cereales

Scollo D., Vicente F., *Giraudó M., Mora V.

Laboratorio de Fermentaciones Industriales - Departamento Desarrollo Productivo y Tecnológico
Carrera de Ciencia y Tecnología de los Alimentos - Universidad Nacional de Lanús, Provincia de Buenos Aires, República Argentina *mgiraudó@unla.edu.ar

Resumen

Además de etanol, las levaduras producen alcoholes superiores y aldehídos que son los componentes del flavor. Se compararon dos cepas comerciales de levaduras con la concentración de alcoholes superiores obtenidos al producir una bebida alcohólica de aproximadamente 40°GL y, al mismo tiempo, se evaluó el agregado de malta con relación a los mismos alcoholes. Todas las bebidas obtenidas en nuestros laboratorios cumplen con la reglamentación del Código Alimentario Argentino en lo que hace a los componentes del flavor, mientras que tres bebidas comerciales rotuladas como whiskies no cumplen las especificaciones referidas a los alcoholes superiores.

Palabras clave: Fermentación, levaduras, flavor, whiskies

Introducción

El flavor de las bebidas alcohólicas destiladas está compuesto por alcoholes superiores, también conocidos como aceite de fusel, y que son el isobutilico, amílico, n-butanol, isoamílico, n-propanol y otros, como el feniletílico, tirosol, etc. También por los compuestos carbonílicos (acetaldehído, acetona, entre otros) y por ésteres como el acetato de etilo, básicamente.

En una bebida alcohólica, todos ellos deben estar en una concentración determinada, ya que su exceso produce el *off-flavor*. Es por ello que la concentración de los mismos en las bebidas alcohólicas destiladas es de importancia primaria. Las referencias bibliográficas consultadas informan que el contenido -tanto de los alcoholes superiores como los otros componentes del flavor- depende de la calidad de la levadura usada (uno de los objetivos del trabajo), de la composición del medio (en nuestro caso de la concentración de aminoácidos libres, de la presencia de O₂ disuelto y otros factores) y de los parámetros del proceso (temperatura, agitación, presión, diseño del fermentador, etc.).

De manera general, y sin tener en cuenta otras rutas metabólicas secundarias, podemos afirmar que el 80% de los alcoholes superiores se sintetiza durante la fase aeróbica y el 20% en la fase anaeróbica, siguiendo una de las dos rutas siguientes:

- **Ruta catabólica:** la levadura toma los distintos aminoácidos libres del mosto y los transforma irreversiblemente en α -cetoácidos mediante una aminotransferasa y el pasaje del 2-cetoglutarato a glutamato, los que a posteriori, mediante una descarboxilasa dan un aldehído con un carbono menos. Finalmente, mediante el NADH₂, serán reducidos a alcoholes superiores (Mecanismo Ehrlich, 1907). Son ejemplos:

- valina > alcohol isobutilico
- Leucina > alcohol isoamílico
- Isoleucina > alcohol amílico
- Acido α -aminobutírico > n-propanol
- Fenilalanina > alcohol feniletílico
- Tirosina > tirosol



- **Ruta anabólica:** los azúcares se transforman en piruvatos los que, reversiblemente dan α -cetoácidos y posteriormente alcoholes superiores. Es de hacer notar que, reversiblemente, los α -cetoácidos dan aminoácidos.

El hecho de que la levadura use una u otra vía depende de la concentración de aminoácidos libres presentes en el mosto: si su concentración es baja usará la vía anabólica y, si es alta, la vía catabólica, porque hay inhibición y/o represión de las enzimas fundamentales del proceso anabólico.

Las levaduras pueden sintetizar todos sus aminoácidos a partir del N amoniacal presente, pero si ésta es la única fuente de nitrógeno, habrá menor producción de los componentes del flavor. Si las levaduras tienen aminoácidos libres como única fuente de N (por ejemplo a partir del agregado de malta, es decir cebada malteada en donde hay una gran liberación de enzimas proteolíticas y otras), entonces habrá un aumento en la producción de flavor (y éste es otro de los objetivos a desarrollar). Pero esta vía debe ser trabajada cuidadosamente, ya que es muy fácil obtener una cantidad excesiva de estos componentes del flavor que pueden llevar al off-flavor.

Si sólo existen aminoácidos libres y N amoniacal, la levadura tomará principalmente los primeros para obtener los componentes del flavor (por la menor energía necesaria para absorberlos).

Con respecto a los componentes carbonílicos (acetona, acetaldehído) y a los ésteres (acetato de etilo) se cumple lo citado precedentemente para los alcoholes superiores. Una excepción es la acción de la destilación, ya que este proceso -al igual que la rectificación- incrementa el contenido de ésteres del flavor por efecto de la temperatura.

En general, bajo condiciones adecuadas que estimulen la multiplicación de la levadura (como por ejemplo O_2 , agitación, etc.), se incrementa la producción de los componentes del flavor. Los valores normales de los componentes del flavor presentes en los whiskies varían. Según el Código Alimentario Argentino (Artículo 1116 inciso 7/09) van de 600 a 5000 ppm de alcoholes superiores y aldehídos. Según Caballero *et al.* (2003), el contenido total de alcoholes superiores está entre 3100 y 3300 para los whiskies escoceses. Según Prescott y Dunn (1988), el total de alcoholes superiores en whiskies de Estados Unidos se ubica entre 700 y 1100 ppm.

Los objetivos de este trabajo son comparar dos cepas comerciales de levaduras normalmente utilizadas en la producción de etanol bebible, verificando un adecuado nivel de los componentes del flavor, y evaluar el agregado de malta a fin de obtener, mediante una destilación y rectificación, un adecuado nivel de flavor y de etanol.

Nueva línea de productos con la reconocida CALIDAD BAUDUCCO.

Intercambiadores de Calor a Placas y Pasteurizadores HTST



+40
años de experiencia
con la calidad

BAUDUCCO
Máximo compromiso.

BAUDUCCO

Tel / Fax: (+54-3401) 477356 - Balcarce 364 - 52535 ANH - P.I. TRF801 - Santa Fe - Argentina - bauducco@bauduccosa.com.ar

www.bauduccosa.com.ar

Materiales y métodos

Cromatógrafo gas con detección FID HP 5890.

Columna Microbore Innowax de HP de alta polaridad de 60 metros x 0,25 mm de diámetro interno y 0,25 µm de espesor de film.

Gas Carrier N₂

Inyección manual de 0,5 µl.

Uso de n-butanol como estándar interno, una vez que se comprueba que las muestras no contenían este alcohol.

Tiempo de corrida: 20 minutos.

Las muestras fueron analizadas directamente sin previa destilación.

Se prepararon curvas de calibración para acetaldehído, acetona, acetato de etilo, metanol, n-propanol, isobutanol, alcohol isoamílico y alcohol amílico.

Preparación de la muestra

Cepas comerciales SCE y SRS de *Saccharomyces cerevisiae* de uso enológico, de dos diferentes proveedores.

Malta pura (100% malta) adquirida en el mercado como "malta base". La misma fue fermentada según el siguiente esquema: si se parte de materiales sólidos, se los debe moler convenientemente hasta obte-

Tabla 1 – Valores promedio de cinco determinaciones (en ppm) de los componentes del flavor

Flavor	Granos de maíz con 2,5% de malta y levadura SCE		Granos de maíz con 5% de malta y levadura SCE		Granos de maíz con 2,5% de malta y levadura SRS		Granos de maíz con 5% de malta y levadura SRS	
	Valor medio	CV%	Valor medio	CV%	Valor medio	CV%	Valor medio	CV%
Acetaldehído	20	<5	70	3,1	40	4,6	50	4,5
Acetona	10	<5	10	<5	10	<5	10	<5
Acetato de etilo	20	<5	90	3,9	40	4,7	160	2,3
Metanol	20	<5	20	<5	20	<5	20	<5
n-propanol	60	3,1	20	4,4	70	3,3	500	1,9
Isobutanol	70	3,2	270	2,2	90	2,9	740	1,7
n-butanol	20	<5	20	<5	20	<5	20	<5
Alcohol isoamílico	290	2,1	640	1,8	320	2,0	2270	1,1
Alcohol amílico	20	<5	20	<5	20	<5	20	<5
Furfural	10	<5	10	<5	10	<5	10	<5
Total alcoholes superiores	550		1400		640		3800	

Tabla 2 – Valores promedio de cinco determinaciones (en ppm) de los componentes del flavor

Flavor	Maíz		Melaza 30% + maíz grano 70%		Mezcla de malta, cebada y maíz		Malta	
	Valor medio	CV%	Valor medio	CV%	Valor medio	CV%	Valor medio	CV%
Acetaldehído	10	<5	23	4,5	18	4,2	55	2,4
Acetona	10	<5	10	<5	10	<5	10	<5
Acetato de etilo	57	3,1	44	4,7	16	<5	120	2,6
Metanol	20	<5	25	<5	20	<5	20	<5
n-propanol	194	3,0	175	2,9	203	2,4	250	2,3
Isobutanol	112	2,5	88	3,1	206	2,2	185	2,4
n-butanol	20	<5	20	<5	20	<5	20	<5
Alcohol isoamílico	327	1,9	217	2,1	228	2,2	390	2,5
Alcohol amílico	10	<5	10	<5	10	<5	10	<5
Furfural	20	<5	20	<5	20	<5	20	<5
Total alcoholes superiores	740		590		710		1050	

Tabla 3 – Valores promedio de cinco determinaciones (en ppm) de los componentes del flavor

Flavor	Whisky N°1		Whisky N°2		Whisky N°3	
	Valor medio	CV%	Valor medio	CV%	Valor medio	CV%
Acetaldehído	50	4,4	40	4,5	20	<5
Acetona	10	<5	10	<5	10	<5
Acetato de etilo	60	4,3	30	<5	20	<5
Metanol	20	<5	20	<5	30	<5
n-propanol	40	4,6	40	4,7	50	4,4
Isobutanol	60	3,8	60	3,9	100	3,2
n butanol	20	<5	20	<5	20	<5
Alcohol isoamilico	90	3,2	70	3,5	70	3,6
Alcohol amilico	20	<5	20	<5	20	<5
Furfural	10	<5	10	<5	10	<5
Total alcoholes superiores	380		320		350	

ner una harina, la que se suspende en agua caliente durante 15 min. a 50°C. Luego, calentar hasta 85°C manteniendo 15 min. a esa temperatura. Enfriar a 65°C y mantener una hora. Posteriormente, enfriar a 32°C. En este momento se agregó el inóculo, formado por las dos levaduras comerciales a las que se les realizó un tratamiento para multiplicarlas, en un medio de macerado de malta usando aireación y agitación adecuadas. El inócu-

lo estuvo listo para ser usado cuando su concentración celular fue de 10⁷ a 10⁹ ufc/ml.

Las enzimas α -amilasa y amiloglucosidasa comerciales se agregaron a los 65°C y 85°C respectivamente, ajustando los pH a los valores óptimos para estas enzimas. Como resultado del proceso fermentativo, se obtuvo un contenido alcohólico de 11 a 13% v/v de etanol, que fue destilado en alambique con columna,

FABRICA JUSTO
colorante caramelo

- Elaboración de Colorante Caramelo Natural
- Más de 50 años de experiencia
- Un producto para cada necesidad específica
- Asesoramiento Técnico Especializado
- Un moderno laboratorio con alto nivel de equipamiento
- Certificaciones BPM y HACCP

Gral. Fructuoso Rivera 2964 - Capital Federal - CP: 1437 - Buenos Aires - Argentina
Tel./Fax: 4918-9055 - E-mail: admvtas@fjusto.com.ar - www.fabricajusto.com.ar

ISO 9001
BPM NATURAL

ISO 22000
HACCP

recogiendo la fracción alcohólica entre 82 y 85°C, la cual corresponde a una concentración alcohólica, determinada por alcoholímetro, de 65% v/v de etanol. A continuación, la muestra alcohólica fue diluida hasta el 40% v/v (Tabla 1) y entonces rectificada mediante el uso de una doble columna Vigreux (Tabla 2).

Granos de maíz comerciales hidrolizados y fermentados según el esquema anterior.

Melazas del mercado + granos de maíz en una proporción 30% y 70%, respectivamente, hidrolizados y fermentados según el esquema anterior para los granos, con la indicación que la melaza fue agregada en el momento de la inoculación.

Mezcla de malta pura, con cebada y maíz grano en una proporción del 30, 35 y 35%, respectivamente, hidrolizadas y fermentadas según el esquema de los sólidos.

Whiskies nacionales N°1, 2 y 3 adquiridos en el mercado local.

Resultados y discusión

En la tabla 1 se observan los valores obtenidos de los componentes del flavor utilizando las dos cepas de levaduras comerciales, dos concentraciones distintas de malta y maíz habiendo llevado el destilado al 40% v/v de etanol.

En la tabla 2 se observan los valores de los componentes del flavor para diferentes sustratos usados (maíz, melaza + granos de maíz, mezcla de malta, cebada y maíz y malta pura) presentes en alcoholes destilados y rectificados llevados a una concentración etanólica del 40% v/v. La levadura usada fue la SCE en todos los casos por ser el producto tradicionalmente utilizado en nuestro laboratorio.

En la tabla 3 se observan los valores de los componentes del flavor obtenidos de los whiskies argentinos.

Otra variable estudiada fue la acción de las proteasas comerciales (bacterianas) durante el proceso fermentativo. Se observó la mejora de la cantidad de etanol obtenido en un punto porcentual, en valores promedio, ya que de 12% de etanol se obtuvo 13% de etanol v/v. Hacemos notar que, sensorialmente, el aroma y sabor percibidos no fue el adecuado (datos no mostrados, bajo estudio).

Conclusiones

1- Según el Código Alimentario Argentino, Capítulo XIV (Bebidas Espirituosas, Alcoholes, Bebidas Alcohólicas Destiladas y Licores), se especifica que el whisky debe contener entre 600-5000 ppm de alcoholes superiores o congéneres. Todas las bebidas alcohólicas obtenidas en nuestros laboratorios cumplen con los valores (Tabla 2), no así las tres bebidas comerciales argentinas analizadas (Tabla 3).

2- Importancia de la cepa usada en la obtención de las bebidas alcohólicas: aumentando el contenido de malta, aumentan los componentes del flavor. Se observó que la cepa SRS tiene una mayor capacidad para catabolizar los aminoácidos. En el caso de la cepa SCE, donde aumentó al doble la cantidad de malta, se elevó 2,3 veces el contenido de alcoholes superiores totales. Para el caso de la cepa SRS, este aumento fue de seis veces. Si comparamos ambas cepas usadas, vemos que la cepa SRS tiene tres veces mayor capacidad para obtener los componentes totales del flavor. De allí inferimos la importancia que tiene conocer de antemano la capacidad de las cepas a usar en la producción de alcoholes superiores que estén dentro de las especificaciones oficiales.

3- En el caso del uso de las proteasas comerciales, las mismas aumentaron fuertemente el contenido de aminoácidos libres al romper los sacos proteicos que envuelven los granos de almidón. Esta opción sólo es aceptable cuando se produce industrialmente bioetanol para usar como combustible, ya que la columna de destilación puede separar, en los distintos platos, el metanol (plato 1), el etanol (plato 2) y los alcoholes superiores (plato 22) (Menéndez *et al.* 2009). Toda vez que se obtenga una alta concentración de componentes del flavor, mínimamente se deberá rectificar la mezcla si se pretende usarla para bebida.

4- El uso de malta cruda (cebada malteada sin secar) permite obtener el máximo de alcoholes superiores totales comparativamente con los granos de maíz y sus mezclas (Tabla 2). Ello es debido a la mayor disponibilidad de aminoácidos libres durante el proceso fermentativo.

Bibliografía

- Nollet L., (2004), Handbook of Food Analysis, M. Dekker Inc., NYC.
- Lees M., (2003) Food Authenticity and Traceability, Woodhead Pub. Ltd, Cambridge.
- Caballero J, Finglass P, Trugo L.(2003), Encyclopedia of Food Science and Nutrition, Academic Press, NYC.
- Usseglio-Tomasset L. (1998), Química enológica, Mundi Prensda, Madrid.
- Boekhut T., Robert V. (2003), Yeast in food, Woodhead Pub. Ltd., Cambridge.
- Varnam A., Sutherland J. (1994), Bebidas, Tecnología y Química, Acribia, Zaragoza.
- Smart K. (2003), Brewing yeast fermentation performance, Blackwell Sci., Oxford.
- Menéndez A., Montesano J., Giraudo M. (2009), Obtención de etanol 95 % con simulador, Ingeniería Alimentaria (en prensa).
- Deibler K., Delwiche J. (2004), Handbook of Flavor Characterization, M. Dekker Inc., NYC.
- Prescott S., Dunn C. (1988), Microbiología Industrial, Aguilar, Madrid.
- Código Alimentario Argentino, Ministerio de Salud y Acción Social de la República Argentina.



Gelacid y Gelan: Formulaciones de espesantes, estabilizantes y gelificantes

Coma Xántica / Coma Cielan / Alginatos / Medios de Cultivo / Recubrimiento para Quesos / Enzimas / Conservantes

Nuestros productos son diseñados y adaptados a la medida de las necesidades de cada cliente y de sus procesos de producción. Todos son desarrollados por nuestros técnicos en una planta propia de última generación, con las mejores materias primas y bajo las más rigurosas normas internacionales de seguridad e inocuidad. Biotec es una de las primeras empresas argentinas en obtener la norma ISO22000 para sus procesos de investigación y desarrollo, producción, asistencia técnica y venta de aditivos alimenticios, certificada por la TUV Rheinland de Alemania. Para más información visite www.biotecsa.com.ar



Lavalle 1125 piso 11 (1048) Buenos Aires, Argentina. Tel: +(5411) 4382-8332 / 2188/9170. Fax: +(5411) 4382-3793. biotec@biotecsa.com.ar

ECONOMICAS
DE PRECISION - PORTATILES
Diferentes modelos en un
rango de 5 mg hasta 30 kg.



BALANZAS

Moretti

www.moretti.com.ar

Proveemos a pequeños, medianos y grandes negocios.
Más de 400 modelos para cualquier necesidad de pesaje.

ANALIZADOR
DE HUMEDAD



BALANZAS
RIELERAS
Para Industrias frigoríficas



BALANZAS INDUSTRIALES
Diseño Robusto - Alta Precisión



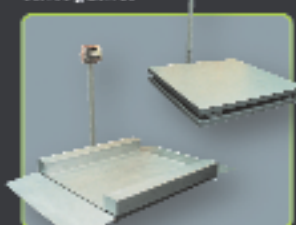
BASCULAS PARA CAMIONES



- Escala 5 e 6 mts
- Entrega inmediata
- Asistencia Técnica
- Inocuidad y precisión
- TICKET ANTIFRAUDE



BALANZAS DE PISO
Para pallets,
carros y zonas



andrés moretti e hijos s.a.

Carlos Calvo 2755 - C1230AAS Capital Federal

Tel./Fax: (011) 4308-1504 / 4943-1721

E-mail: ventasindustriales@moretti.com.ar / website: <http://www.moretti.com.ar>



EMPRESA
AUTORIZADA
POR EL INTI

EMPRESA CERTIFICADA
ISO 9001:2000
BAJO N° 221128