



ANÁLISIS COMPARATIVO DE DOS TIPOS DE LEVADURAS *SACCHAROMYCES CEREVISIAE* Y *SACCHAROMYCES BAYANUS* EN UNA BEBIDA FERMENTADA A BASE DE ARROZ.

Comparative analysis of two types of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* yeasts in a rice-based fermented beverage.

 Eder Gustavo Yanca Villalba ⁽¹⁾
eyanचा8479@uta.edu.ec

 Andrea Verónica Delgado Ramos ^{(1)*}
av.delgado@uta.edu.ec

⁽¹⁾ Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia en Ingeniería en Alimentos y Biotecnología. Carrera de Alimentos. Av. Los Chasquis y Río Payamino, Z.C. 180206 Ambato, Ecuador.

Autor de correspondencia:

Correo electrónico: av.delgado@uta.edu.ec

RESUMEN

Introducción: En Ecuador, las bebidas fermentadas conocidas como "chichas" son elaboradas mediante la fermentación alcohólica de mostos de frutas, vegetales o cereales, y tienen características distintivas según su origen. **Objetivo:** Evaluar el efecto de dos tipos de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces bayanus* en la elaboración de una bebida fermentada a base de arroz. **Metodología:** Se prepararon cuatro tratamientos con dos réplicas cada uno, se ajustaron a 10 y 20 °Brix para cada levadura, y se dejaron fermentar durante 5 días a temperatura ambiente (20 °C). Durante la fermentación se evaluaron pH, acidez y °Brix. Al finalizar la fermentación, se evaluaron grado alcohólico y presencia de metanol. Por último, se realizó un análisis sensorial del producto final. **Resultados:** Durante la fermentación se observó una actividad fermentativa similar entre las dos cepas utilizadas, esto reflejado en los parámetros físicos evaluados los cuales terminan en valores próximos: 4 a 6 °Brix, pH de 3.87 a 4.08 y acidez de 0.31 a 0.47% de ácido láctico. Al evaluar el producto final los tratamientos de 20 °Brix con *S. cerevisiae* y 20 °Brix con *S. bayanus* evidenciaron mayor contenido alcohólico con 9.1 y 9.5% respectivamente, sin presencia de metanol en ningún caso. Finalmente, el análisis sensorial reflejó apreciaciones similares por parte de los catadores, sin diferencias significativas entre las muestras en estudio y el testigo. **Conclusión:** El estudio demuestra que *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces bayanus* son viables para la producción de la bebida fermentada a base de arroz, obteniendo buenas características fisicoquímicas y sensoriales.

Palabras claves: Bebida fermentada, arroz, *S. cerevisiae*, *S. bayanus*.

ABSTRACT

Introduction: In Ecuador, fermented beverages known as "chichas" are made by alcoholic fermentation of fruit, vegetable, or cereal musts, and have distinctive characteristics depending on their origin. **Objective:** To evaluate the effect of two types of *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* yeasts on the preparation of a fermented rice-based beverage. **Methodology:** Four treatments with two replicates each were prepared, adjusted to 10 and 20 °Brix for each yeast, and left to ferment for five days at room temperature (20 °C). During fermentation, pH, acidity, and °Brix were evaluated. At the end of fermentation, the alcohol content and presence of methanol were evaluated. Finally, a sensory analysis of the final product was performed. **Results:** During fermentation, a similar fermentation activity was observed between the two strains used, as reflected in the physical parameters evaluated, which ended in values close to: 4 to 6 °Brix, pH from 3.87 to 4.08, and acidity from 0.31 to 0.47% lactic acid. When evaluating the final product, the treatments of 20 °Brix with *S. cerevisiae* and 20 °Brix with *S. bayanus* showed higher alcohol contents of 9.1 and 9.5%, respectively, without the presence of methanol in any case. Finally, the sensory analysis reflected similar appreciation by the tasters; with no significant differences between the samples under study and the control. **Conclusion:** This study demonstrated that *Saccharomyces cerevisiae* and *Saccharomyces bayanus* are viable for the production of the fermented rice-based beverage, obtaining good physicochemical and sensory characteristics.

Keywords: Fermented beverage, rice, *S. cerevisiae*, *S. bayanus*.

1. Introducción

La evidencia arqueológica indica que las bebidas fermentadas, conocidas tradicionalmente como chichas, son al menos tan antiguas como las primeras civilizaciones y se consumen legalmente en la mayoría de las culturas (1). Esta bebida es producida por comunidades indígenas que habitan en los Andes y algunas regiones de tierras bajas de Brasil, Bolivia, Colombia, Perú y Argentina (2). Existe una gran variedad de chichas, debido a la materia prima de origen que puede ser maíz, quínoa, arroz, cebada o harina, acompañados de panela o azúcar común (3). El proceso de fermentación está influenciado por varios factores, incluyendo: temperatura, acidez, tipo de microorganismo fermentador, contenido de azúcares y la composición química del mosto (4).

En Ecuador existe una gran variedad de chichas, que incluye: chicha de Jora que tiene maíz amarillo como ingrediente principal; chicha de yuca o chonta, propia de la región amazónica, es conocida por que en su proceso las mujeres y los niños mastican la materia prima para ayudar en la descomposición del almidón; chicha del Yamor, elaborada con siete tipos de maíz, bebida originaria de Otavalo (5); y, chicha de arroz, forma parte de la gastronomía de la cultura afrodescendiente de las comunidades Chota y Salinas en Imbabura (6). Este producto ancestral es muy versátil puede variar en su preparación, así como en los diversos ingredientes que se le pueden adicionar para regular el sabor (1).

Este trabajo buscó comparar la acción de dos tipos de levaduras *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces bayanus* en la elaboración de una bebida fermentada a base de arroz, para ello se evaluaron diferentes variables de fermentación, tales como: pH, acidez, sólidos solubles y tiempo de fermentación. Los resultados de esta investigación contribuyen a preservar y mejorar la calidad de una bebida tradicional.

2. Materiales y Métodos

Materiales: Toda la materia prima se obtuvo de forma comercial en el Mercado Mayorista de la ciudad de Ambato, para la elaboración se incluyó: arroz (*Oryza sativa* L.), sacarosa, naranjilla (*Solanum quitoense*), piña (*Ananas Comosus* L.), cedrón (*Aloysia citrodora*), hierba luisa (*Cymbopogon citratus*), hoja de naranja (*Citrus*

sinensis), canela (*Cinnamomum verum*), clavo de olor (*Syzygium aromaticum*), pimienta dulce (*Pimenta dioica*) y anís estrellado (*Pimpinella anisum*). Como inóculo se utilizó: *Saccharomyces cerevisiae* comercial para panificación marca Levapan (7) y *Saccharomyces bayanus* para vinificación marca Fermivin 4F9 (8).

Fermentación: La fermentación se llevó a cabo en recipientes plásticos con una capacidad de 6 litros, se incorporó un airlock, se cerraron de forma hermética los recipientes, además de incluir un sistema para la extracción diaria de las muestras. Se preparó un mosto con los jugos de las frutas, azúcar, arroz y un macerado de las especias y hierbas aromáticas. Se inoculó con 0.2 g de levadura activada por litro. Se ajustaron °Brix y pH inicial, se dejó fermentar durante 5 días a una temperatura ambiente (aproximadamente 20°C). El proceso de fermentación se detuvo mediante una pasteurización a 60°C por 20 minutos.

Modelo experimental: Esta investigación es de tipo experimental, cuantitativa y cualitativa, ya que se evaluó la incidencia de la concentración de sólidos solubles y el tipo de levadura en las características físicas y sensoriales de la bebida fermentada a base de arroz (*Oryza sativa* L.). Se planteó un diseño factorial de 2^k (9), con dos factores: °Brix ($A_0=10$ °Brix y $A_1=20$ °Brix) y tipo de levadura ($b_0=S. cerevisiae$ y $b_1=S. bayanus$). Se identificaron cuatro tratamientos: A0b0, A0b1, A1b0 y A1b1, más un testigo.

Medición y toma de datos: Durante el proceso de fermentación, se evaluaron diariamente los siguientes parámetros: °Brix por el método refractométrico (10), pH por potenciometría (11) y acidez total por titulación (12) hasta que estos parámetros se mantuvieran constantes. Una vez pasteurizados los tratamientos se determinó el porcentaje de grado alcohólico por el método del alcoholímetro de vidrio (13) y la presencia de metanol mediante método colorimétrico (14). Por último, se realizó un análisis sensorial (15) con 15 catadores no entrenados utilizando una ficha de cata con una escala hedónica de 1 a 5, correspondiente a la percepción de cada catador.

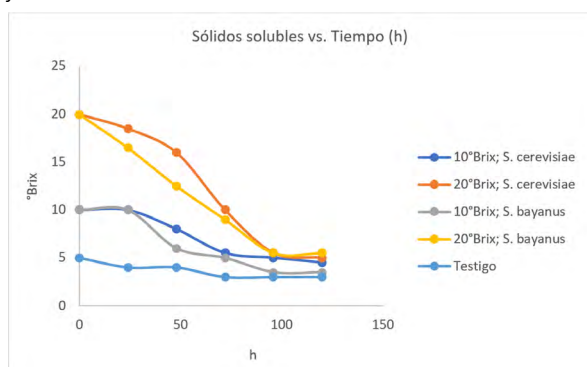
Análisis de datos: Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA), seguido de una prueba de Tukey con un nivel de significancia del 5%. Los resultados se presentan como la media \pm desviación estándar.

3. Resultados y Discusión

°BRIX

Shirai & Malpica (2013) mencionan que un rango de 24 a 26 °Brix es adecuado para obtener un 12% (v/v) de alcohol (16). Por ello, en esta investigación se utilizaron dos niveles de contenido de sólidos solubles, medidos en °Brix. En la Figura 1, se observa el comportamiento decreciente de los °Brix en función del tiempo de fermentación, ya que las levaduras convierten los mono y disacáridos en etanol. En los tratamientos iniciados a 20 °Brix, se observa un consumo de azúcares más rápido en comparación a los tratamientos ajustados con 10 °Brix, finalizando en 4.5 ± 0.7 (A0b0); 3.5 ± 0.7 (A0b1); 5 ± 0.0 (A1b0); y 5.5 ± 0.7 (A1b1). Por otro lado, el testigo presenta una variación poco perceptible en este parámetro, de 5 a 3 °Brix. Al término del quinto día, los grados Brix se mantienen invariables. En análisis realizados por Jácome (2016), el consumo de azúcares alcanzó valores similares de 4.5 a 3.8 °Brix (17).

Figura 1. Comportamiento de los °Brix durante el tiempo de fermentación.



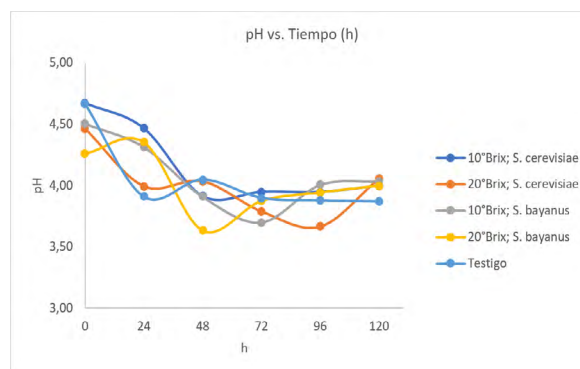
Con un nivel de confianza del 95%, no se encontraron diferencias significativas para el factor B ni para la interacción A x B. Sin embargo, para el factor A se encontraron diferencias significativas, lo que indica la influencia de la concentración de los °Brix en la estabilidad final de la bebida.

pH

Al inicio de la fermentación, el pH de los tratamientos se encontraba en un rango de 4.15 a 4.75. Según Suárez Machín et al. (2016), la mayoría de las levaduras toleran un rango de pH entre 3 y 10 (18), pero les resulta favorable un medio ligeramente ácido con un pH de 4.0 a 6.5. En la Figura 2 se observa el comportamiento del pH durante el tiempo de fermentación, evidenciando

ligeras variaciones hasta su estabilización al final del proceso, donde el pH terminó en 4.0 para los tratamientos en estudio. El testigo tiene un comportamiento similar finalizando en 3.87. Puerari et al. (2015) mencionan que estas variaciones de pH ocurren debido a la producción de ácidos orgánicos, como el ácido láctico, formado por la presencia de bacterias ácido lácticas presentes en los alimentos fermentados, lo que comúnmente reducen el pH a valores por debajo de 4.0 (19).

Figura 2. Comportamiento del pH durante el tiempo de fermentación.

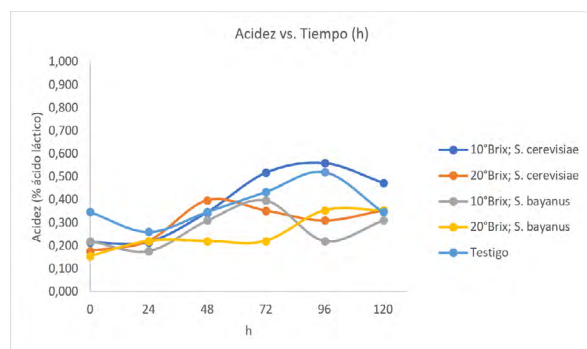


Con un nivel de confianza del 95%, no se encontraron diferencias significativas para los factores A, B ni para la interacción Ax B. Esto indicando que los factores en estudio no tienen incidencia sobre la variación del pH.

ACIDEZ

La acidez al inicio de la fermentación empieza con un valor de 0.2 ± 0.06 % de ácido láctico para cada uno de los tratamientos, como se observa en la figura 3. Para el quinto día, la acidez se estabilizó en los siguientes valores: 0.47 ± 0.06 % (A0b0); 0.35 ± 0.06 % (A1b0); 0.31 ± 0.06 % (A0b1); y 0.35 ± 0.12 % (A1b1) expresado en porcentaje de ácido láctico. Estos valores no difieren del control, que finaliza en 0.35%. Según Pazmiño et al. (2014) el aumento de la acidez se atribuye a la actividad de las bacterias ácido lácticas presentes en los ingredientes, las cuales descomponen los azúcares para convertirlos en ácido láctico (20). Además, una mayor acidez en el producto puede inhibir el crecimiento de microorganismos de deterioro, prolongando su vida útil, siempre y cuando no altere las características del producto (21). La normativa NTE INEN 2262 para bebidas alcohólicas como la cerveza, establece un límite máximo de 0.3% de ácido láctico. Se realiza esta comparación por que no existe una normativa específica para este tipo de productos (22).

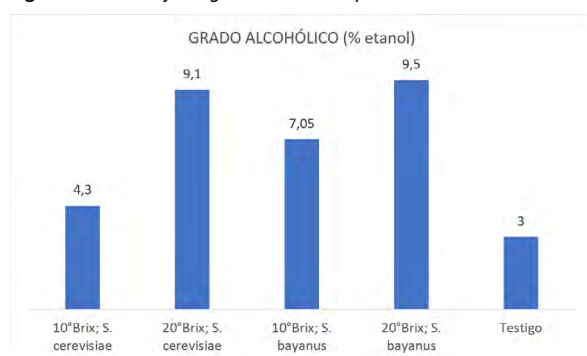
Figura 3. Comportamiento de la acidez durante el tiempo de fermentación



El análisis de varianza reveló que, con un nivel de confianza del 95%, no se encontraron diferencias significativas para los factores A, B y la interacción A x B con respecto a este parámetro. Esto indica que la acidez no se ve afectada por el contenido inicial de °Brix o del tipo de levadura que se utilizada durante la fermentación.

GRADO ALCOHÓLICO

Figura 4. Porcentaje de grado alcohólico para todos los tratamientos



Según se observa en la Figura 4, los tratamientos con 20 °Brix muestran un contenido alcohólico más elevado, expresado en porcentaje de etanol: $9.1 \pm 0.42\%$ (*S. cerevisiae*) y $9.5 \pm 0.14\%$ (*S. bayanus*), en comparación con los tratamientos que iniciaron con 10 °Brix, los cuales reportan valores de $4.3 \pm 0.56\%$ (*S. cerevisiae*) y $7.05 \pm 0.63\%$ (*S. bayanus*). Los valores anteriores difieren del testigo, el cual no supera el 3% de etanol. Estadísticamente, se encuentra diferencia significativa con respecto a la concentración inicial de °Brix, ya que los tratamientos que comenzaron su fermentación con 20 °Brix generan un mayor porcentaje de grado alcohólico. Esto concuerda con Ghosh et al. (2016) que afirma que la relación de °Brix inicial es directamente proporcional a la producción de etanol (23), en su investigación, logró una bebida fermentada a base de arroz de

origen indio de contenido alcohólico moderado de 2 a 3%.

Además, Chaves-López et al. (2014) menciona que las *chichas* poseen un contenido de alcohol del 2 al 12%, un rango característico de este tipo de bebidas tradicionales (24). Asimismo, Jácome señala en su investigación que la chicha de arroz alcanza valores bajos 0.33% debido al corto tiempo de fermentación (17). Por otro lado, la variedad de levadura no tiene incidencia en la producción de contenido alcohólico, debido a que no existe diferencias significativas entre las variedades utilizadas.

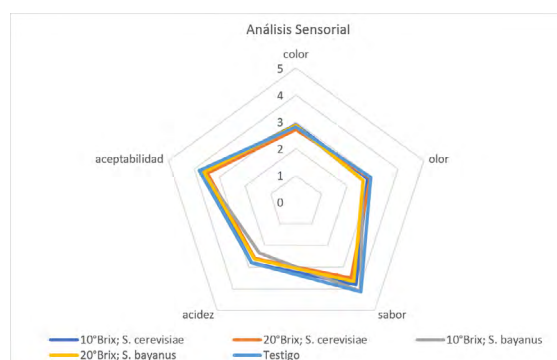
PRESENCIA DE METANOL

Los tratamientos fueron evaluados cualitativamente para detectar la presencia o ausencia de metanol en el producto final, reportando un resultado negativo, es decir, no existe presencia de metanol en las muestras. La Norma NTE INEN de Requisitos para Bebidas alcohólicas indica que el límite máximo es de 10mg/100ml (25).

ANÁLISIS SENSORIAL

Se realizó una prueba sensorial utilizando una escala hedónica de 5 puntos para evaluar color, olor, sabor, acidez y aceptabilidad, como se observa en la Figura 5 para los tratamientos con *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces bayanus*. Los tratamientos reportan valores próximos a “me gusta” en aceptabilidad, predominando el sabor en el perfil sensorial. Todos los tratamientos se aproximan al testigo y tienen una buena aceptación por parte de los catadores. El olor y el color obtuvieron calificaciones neutras (“ni les gusta ni les disgusta”), mientras que la acidez no fue del agrado de los catadores. No existe diferencia significativa entre los tratamientos en cuanto a la percepción de los catadores.

Figura 4. Análisis sensorial de los tratamientos.



En este estudio se descarta parcialmente la hipótesis, debido a que la concentración inicial de grados Brix sí influye en las características del producto fermentado a base de arroz. Sin embargo, el tipo de levadura no tiene incidencia en las características físicas y sensoriales del producto final.

4. Conclusión

Tras la utilización de dos tipos de levaduras, *Saccharomyces cerevisiae* y *Saccharomyces bayanus*, se desarrolló una bebida fermentada a base de arroz (*Oryza sativa*) midiendo parámetros de fermentación como: °Brix, pH y acidez. Se consiguió una bebida sensorialmente aceptable y apta para su consumo. Se observó que ambas levaduras son viables para la fermentación de la bebida y que no hay diferencia significativa entre las dos variedades de levaduras utilizadas. Sin embargo, se notó que la concentración inicial de °Brix influye en la producción de grado alcohólico, a mayor concentración inicial, mayor producción de etanol. En cuanto al análisis sensorial, no se encontraron diferencias significativas en los parámetros color, olor, sabor, acidez y aceptabilidad entre los tratamientos y el testigo.

Se sugiere identificar las bacterias ácido lácticas presentes en el proceso de fermentación, ya que estas generan una simbiosis con las levaduras y mejoran las características sensoriales del producto.

5. Referencias Bibliográficas

- Castilla Corzo F, Burbano Argoti CA, Salazar Duque DA. La chicha, producto gastronómico y ritual: caso Chorro de Quevedo (Colombia) y Otavalo (Ecuador). *Turismo y Sociedad*. 25 de noviembre de 2019;26:205-24.
- Da Silva Vale A, Venturim BC, da Silva Rocha ARF, Martin JGP, Maske BL, Balla G, et al. Exploring Microbial Diversity of Non-Dairy Fermented Beverages with a Focus on Functional Probiotic Microorganisms. Vol. 9, *Fermentation*. 2023.
- Blanco G. Proceso de elaboración de chicha andina a partir de la cáscara de piña. *Trilogía*. 2018;30(41):43-6.
- Grijalva-Vallejos N, Aranda A, Matallana E. Evaluation of yeasts from Ecuadorian chicha by their performance as starters for alcoholic fermentations in the food industry. *Int J Food Microbiol*. 2020;317.
- Guerra LS, Cevallos-Cevallos JM, Weckx S, Ruales J. Traditional Fermented Foods from Ecuador: A Review with a Focus on Microbial Diversity. Vol. 11, *Foods*. MDPI; 2022.
- Naranjo M, Galarza I, Falcón S. Gastronomía, historia y cultura afrodescendiente de las comunidades Chota y Salinas en Imbabura, Ecuador. *Ecos de La Academia*. 2016;2(04):43-51.
- Suárez C, Garrido NA, Guevara CA. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. ICIDCA Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar [Internet]. 2016 [citado 20 de diciembre de 2021];50(1):20-8. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223148420004>
- Fermivin. 4F9 Para vinos blancos y Rosados Aromáticos con largo final en boca. 2019. p. 34603.
- Marin M. Modelo de diseños factoriales y diseños 2k. Universidad Carlos III de Madrid [Internet]. 2014 [citado 7 de junio de 2023];45. Disponible en: <http://halweb.uc3m.es/esp/Personal/personas/jmmarin/esp/Disenno/tema3DE.pdf>
- NTE INEN-ISO 2173. PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS – DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES – MÉTODO REFRACTOMÉTRICO (IDT). Instituto Ecuatoriano de Normalización. 2013.
- NTE INEN-ISO 1842. PRODUCTOS VEGETALES Y DE FRUTAS – DETERMINACIÓN DE pH (IDT) [Internet]. Instituto Ecuatoriano de Normalización. 2013. Disponible en: <https://docplayer.es/49005374-Quito-ecuador-norma-tecnica-ecuatoriana-nte-inen-iso-1842-2013-extracto-productos-vegetales-y-de-frutas-determinacion-de-ph-idt.html>
- NTE INEN 2323. BEBIDAS ALCOHÓLICAS. CERVEZA. DETERMINACIÓN DE LA ACIDEZ TOTAL. [Internet]. Instituto Ecuatoriano de Normalización. 2002. Disponible en: <https://www.studocu.com/bo/document/universidad-mayor-de-san-simon/quimica-analitica/2323-acidez-de-la-cerveza/30261287>
- NTE INEN 340. BEBIDAS ALCOHÓLICAS. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE ALCOHOL

- ETÍLICO. MÉTODO DEL ALCOHOLÍMETRO DE VIDRIO [Internet]. Instituto Ecuatoriano de Normalización. 2016. Disponible en: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas/nte_inen_1996-1.pdf
14. López N, Alcántara L, Gavilán I. Validación de la determinación cualitativa y cuantitativa de metanol en bebidas alcohólicas: un enfoque docente. Universidad Autónoma Metropolitana Revista tediq. 2020;6(6):12-8.
 15. NTE INEN-ISO 13301. ANÁLISIS SENSORIAL. METODOLOGÍA. GUÍA GENERAL PARA LA MEDICIÓN DEL OLOR, DE LA SENSACIÓN OLFATO-GUSTATIVA Y DEL GUSTO MEDIANTE EL PROCEDIMIENTO DE ELECCIÓN FORZOSA DE UNA ENTRE TRES ALTERNATIVAS (EFA-3). (ISO 13301:2002, IDT). Norma técnica Ecuatoriana [Internet]. 2014 [citado 4 de julio de 2023]; Disponible en: https://www.normalizacion.gob.ec/buzon/normas23/nte_inen_iso_13301extracto.pdf
 16. Shirai K, Malpica F. Tecnología de Fermentaciones Alimentarias. Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Iztapalapa [Internet]. 2013 [citado 25 de octubre de 2021];13(186):115. Disponible en: <http://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/fermentaciones.pdf%0Ahttp://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/fermentaciones.pdf%0Ahttp://publicacionescbs.izt.uam.mx/DOCS/fermentaciones.pdf%0Ahttp://www.izt.uam.mx/ceu/publicaciones/MTFA/files/fermentaciones.pdf>
 17. Jácome A. Estandarización de la elaboración de chicha de arroz con fines comerciales. UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL; 2016.
 18. Suárez Machín C, Garrido Carralero A, Guevara Rodríguez C. Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica. ICIDCA Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar [Internet]. 2016;50(1):20-8. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223148420004>
 19. Puerari C, Magalhães-Guedes KT, Schwan RF. Physicochemical and microbiological characterization of chicha, a rice-based fermented beverage produced by Umutina Brazilian Amerindians. Food Microbiol. 2015;46:210-7.
 20. Pazmiño D, Escudero M, Grijalva N. Diversidad microbiana asociada a la chicha de arroz: una bebida tradicional de Bolívar - Ecuador. Enfoque UTE [Internet]. septiembre de 2014;5(3):1-14. Disponible en: http://scielo.senescyt.gob.ec/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1390-65422014000300001&lng=es&nrm=iso&tling=es
 21. Costa KKFD, Soares Júnior MS, Rosa SIR, Caliri M, Pimentel TC. Changes of probiotic fermented drink obtained from soy and rice byproducts during cold storage. Lwt. 2017;78:23-30.
 22. NTE INEN 2262. BEBIDAS ALCOHÓLICAS. CERVEZA. REQUISITOS. 2013;2262.
 23. Ray M, Ghosh K, Singh S, Chandra Mondal K. Folk to functional: An explorative overview of rice-based fermented foods and beverages in India. Journal of Ethnic Foods. 2016;3(1):5-18.
 24. Chaves-López C, Serio A, Grande-Tovar CD, Cuervo-Mulet R, Delgado-Ospina J, Paparella A. Traditional Fermented Foods and Beverages from a Microbiological and Nutritional Perspective: The Colombian Heritage. Compr Rev Food Sci Food Saf. 2014;13(5):1031-48.
 25. NTE INEN 2802. BEBIDAS ALCOHÓLICAS. COCTELES O BEBIDAS ALCOHÓLICAS MIXTAS Y LOS APERITIVOS. REQUISITOS. Norma técnica Ecuatoriana. 2015. p. 8.