

# Hidrólisis enzimática de maíz para la obtención de Whiskey

N. Santiago Olivares<sup>#1</sup>, P. A. Lara Flores<sup>#2</sup>, E. Martínez Orozco<sup>#3</sup>, S. Iñiguez Gómez<sup>#4</sup>,  
M. López García<sup>#5</sup>

<sup>#</sup>Tecnológico Nacional de México: Instituto Tecnológico José Mario Molina Pasquel y Henríquez,  
Departamento de Ingeniería en Industrias Alimentarias, Unidad Académica Arandas, Jalisco, México

<sup>1</sup>norberto.santiago@arandas.tecmm.edu.mx, <sup>2</sup>amyylara20@gmail.com,

<sup>3</sup>edgardo.martinez@arandas.tecmm.edu.mx, <sup>4</sup>samuel.iniguez@arandas.tecmm.edu.mx,

<sup>5</sup>mayra.lopez@arandas.tecmm.edu.mx

**Resumen**— El whiskey es una bebida alcohólica destilada que se elabora de cereales malteados o no malteados. Generalmente su elaboración incluye el uso de malta de cebada y maíz. El maíz se debe someter a un proceso de hidrólisis enzimática con la finalidad de obtener un mosto fermentable que después será utilizado por la levadura *Saccharomyces cerevisiae* para la producción de etanol. El objetivo de esta investigación fue evaluar a nivel laboratorio la etapa de maceración y fermentación con el fin de obtener un whiskey elaborado únicamente de maíz. Se encontró que el porcentaje de agua, la temperatura y el tiempo afectan significativamente en el proceso de gelatinización, por lo que de esa manera se determinó que la mejor relación es de 1 Kg de maíz pulverizado con 4.5 de agua (P/V) a una temperatura de 95 °C y un tiempo de 30 min. Las fermentaciones presentaron un contenido de alcohol muy bajo debido a que la enzima Endo  $\alpha$ -amilasa termoestable no hidrolizó adecuadamente por lo que en el proceso de destilación se obtuvieron 375 ml de destilado a 6% Alc.Vol. Además de que en la evaluación sensorial se percató un olor a maíz cocido y un sabor dulce.

**Palabras clave**— Hidrólisis enzimática, Whiskey, Maceración, Fermentación, *Saccharomyces cerevisiae*.

## I. INTRODUCCIÓN

México actualmente se ha convertido en el quinto consumidor de whiskey [1] a pesar de ser un país conocido mundialmente por ser el principal productor de bebidas alcohólicas como: cerveza, tequila y mezcal. Por lo que se ve obligado a importar esta bebida de otros países dado que es muy escasa la fabricación de whiskey [2].

Con la finalidad de que la producción de maíz se eleve se ha orientado la investigación a la obtención de un whiskey únicamente de maíz. Sin embargo, debido a que esta semilla no germinada contiene enzimas en estado latente es necesario evaluar el método de hidrólisis enzimática que garantice la conversión del almidón a azúcar.

El proceso de hidrólisis enzimática consiste en romper las moléculas de almidón hasta obtener glucosa utilizando enzimas sintéticas. La glucosa obtenida es el sustrato en la etapa posterior de fermentación. Una vez obtenidos los azúcares a partir del almidón, estos se convierten a etanol por medio de una fermentación anaerobia, utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae* [3]. Para que el proceso de fermentación alcohólica sea lo más eficiente posible, es

necesario controlar una serie de aspectos tales como: efecto del oxígeno, nutrientes, temperatura, pH, concentración de la glucosa y efecto del etanol hacia las enzimas [4].

El objetivo de esta investigación fue determinar las condiciones óptimas a nivel laboratorio en cuanto a la relación maíz, agua, temperatura y tiempo de cocción para llevar a cabo la etapa de maceración, utilizando una enzima sintética y maíz crudo.

Además, con el fin de explorar el proceso de producción de whiskey, se fermentó y destiló el mosto obtenido de la maceración.

## II. PROCESO PARA LA PRODUCCIÓN DE WHISKEY

### A. Proceso de Maceración

El macerado es la extracción de sólidos a líquido en donde se busca hidrolizar el almidón del grano para obtener azúcares fermentables. Esta operación incluye tres pasos, (1) Molienda para exponer el almidón. (2) Calentamiento o Cocción para gelatinizar el almidón, y (3) Hidrólisis para convertir el almidón gelatinizado a azúcares en un proceso enzimático de dos pasos [5].

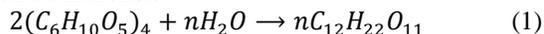
1) *Molienda*: El propósito de la molienda es la de exponer el almidón al romper la estructura del endospermo para facilitar la penetración de agua en la cocción. Una inadecuada molienda puede causar una reducción en el rendimiento debido a la falta de disponibilidad del almidón.

2) *Cocción*: Los granos pulverizados son mezclados con agua y se aplica calor para permitir que el almidón absorba agua y se hinche, favoreciendo la destrucción de la estructura y la liberación del almidón en un ambiente acuoso mejor conocido como gelatinización.

3) *Hidrólisis del almidón*: En la hidrólisis enzimática del maíz es necesaria la acción de enzimas, éstas pueden ser obtenidas de los granos de cereales malteados, o bien, las hay sintéticas comerciales como la alfa y beta amilasa, para la producción de azúcares fermentables. El primer paso enzimático en la conversión del almidón en azúcares se llama Licuefacción. En este paso la enzima alfa-amilasa hidroliza

los enlaces  $\alpha$ -1,4 en amilosa y amilopectina creando oligosacáridos cortos llamados dextrinas. El segundo paso enzimático es conocido como Sacarificación y emplea las “enzimas sacarificadoras” para hidrolizar las dextrinas de cadena corta producida por la alfa-amilasa en los azúcares simples glucosa y maltosa.

Reacción de hidrólisis



### B. Fermentación

Una vez que el almidón está transformado en glucosa, maltosa y dextrina, se introduce la levadura y se transforma en alcohol etílico o etanol y también en otros compuestos en cantidades menores pero que pueden jugar un papel importante en las características del producto final. Las levaduras *Saccharomyces cerevisiae* son las que se especifican para la obtención de whiskey puesto que tienen una elevada capacidad fermentativa, produce etanol aún en presencia de exceso de oxígeno y puede crecer bajo condiciones anaeróbicas, teniendo requerimientos de nitrógeno bajos. El tiempo total de fermentación oscila entre 4 a 5 días [3].

### C. Destilación

La destilación es un proceso físico donde los componentes son separados en virtud de sus diferentes puntos de ebullición. La separación por destilación ocurre cuando un conjunto de componentes en el alambique es llevado a ebullición. Los componentes con menor punto de ebullición vaporizan a temperaturas menores que los componentes con puntos de ebullición más altos. Luego, este vapor es colectado y enfriado hasta condensar nuevamente a un líquido. El líquido resultante, llamado destilado, contiene una concentración considerablemente más alta de componentes de punto de ebullición bajos que de componentes de punto de ebullición altos. El agua tiene un punto de ebullición de 100 °C y el etanol tiene un punto de ebullición de 78.4 °C a presión atmosférica [6].

### D. Maduración

La maduración del whiskey se lleva a cabo en barricas de roble. El líquido dentro de la barrica se expande cuando la temperatura aumenta y se contrae cuando baja. Este movimiento lento y pulsátil causa que el líquido tome color, aroma y sabor de la madera. Además, el color, pH, sólidos totales, ácidos, ésteres y azúcares están muy relacionados con el tipo de barrica [6]. Cuanto más tiempo dure en la maduración, mayor será su calidad. Se puede llamar whisky a este líquido cuando lleva al menos tres años y un día madurando. La mayoría de whiskeys maduran de 12 a 21 años.

## III. MATERIALES Y MÉTODOS

### A. Maíz

Se utilizaron tres variedades de maíz: maíz blanco, amarillo y pozolero (cacahuacintle) [7], los cuales fueron adquiridos en el mercado local.

### B. Enzima

Para realizar la hidrólisis del almidón se utilizó un tipo de enzima sintética, Endo  $\alpha$ -amilasa, para la correcta licuefacción del almidón de maíz. Se recomienda un pH óptimo de 6.0 - 7.0 y la estabilidad de temperatura por encima de 90 °C.

### C. Levadura

Para la fermentación alcohólica se utilizó una cepa de *Saccharomyces cerevisiae*, levadura comercial para panificación, que también funciona para producir enzimas capaces de provocar la fermentación alcohólica de los hidratos de carbono.

### D. Molienda

El maíz es previamente sometido a limpieza, se pesa 1.20 kg de cada maíz y se pulveriza mediante un molino de tornillos sin fin obteniendo una harina.

### E. Cocción

El objetivo de esta etapa fue determinar la cantidad de agua con respecto a la materia prima y el rango de temperatura y el tiempo para la gelatinización.

Se utilizaron diferentes cantidades de agua: 3, 4 y 4.5 litros de agua fría a 1 kg de maíz pulverizado, evitando la formación de grumos. Como se muestra en la Fig. 1.

Luego se calentó hasta alcanzar la temperatura de 95 °C (punto de ebullición), liberando el almidón en el ambiente acuoso y facilitar su hidrólisis. Se probaron diferentes tiempos en la cocción (10, 20, 30 y 60 min) hasta ya no observar cambios en el mosto.



Fig. 1. Adición y mezclado del agua al maíz para evitar la formación de grumos.

### F. Hidrólisis del almidón de maíz

A la solución gelatinizada se le ajustó la temperatura y pH adecuados para que la enzima  $\alpha$ -amilasa termoestable actuara (0.5 ml - 95 °C - pH 6.6) respectivamente. La Fig. 2 muestra cómo actúa la enzima al momento de su adición.



Fig. 2. Adición de la enzima endo  $\alpha$ -amilasa termoestable.

### G. Fermentación

Se redujo la temperatura del mosto a 35 °C la cual es ideal para inocular las levaduras. El mosto de cada maíz se introdujo en cubetas.

Después se adicionó 9.5 g de levadura sin recibir ningún tratamiento previo con respecto a los 4.75 litros de mosto. Así mismo, se adicionó ácido cítrico para bajar el pH a 4 y fosfato diamónico ya que es la forma de nitrógeno más directamente asimilable por las levaduras para activar la fermentación alcohólica. Se mezcló durante 10 min. El tiempo de fermentación fue de 5 días. La Fig. 3 muestra el maíz blanco y pozolero produciendo CO<sub>2</sub>.



A)

B)

Fig. 3. Fermentación. A) Maíz blanco y B) Maíz pozolero produciendo CO<sub>2</sub> en su tercer día de fermentación.

### H. Destilación

Una vez obtenido el mosto fermentado, se filtró y se obtuvieron 3 L de muestra. Luego se procedió a destilar en un equipo a pequeña escala. Se realizó una corrida de extracción donde se obtuvo un destilado de 9% Alc.Vol. los primeros 100 ml, se continuó con la destilación y se cortó a 5% Alc.Vol.

## IV. RESULTADOS

Se observó que, con la adición de 3 l de agua por kg de maíz (para cualquiera de las variedades) en la hidrólisis, queda un atole demasiado espeso, con 4 l la consistencia es menos espesa y con 4.5 l queda adecuada para la gelatinización (ver TABLA I). Entonces se definió la relación de 1 kg de maíz pulverizado con 4.5 l de agua (P/V). En el caso de la temperatura, se estableció a 95 °C (punto de ebullición), puesto que la enzima sintética utilizada soporta más de 90 °C. En cuanto al tiempo, se definió por observación, puesto que, en la gelatinización, primero se espesa y una vez adicionada la enzima, se licúa (se hace más líquido) conforme transcurre el tiempo, pero después de 30 minutos, ya no se observó cambio alguno.

Las fermentaciones presentaron un contenido de alcohol muy bajo debido a que la enzima Endo  $\alpha$ -amilasa termoestable no hidrolizó adecuadamente y en el proceso de destilación fue muy poco rendimiento de alcohol. Se obtuvieron 375 ml de destilado a 6% Alc.Vol medido con un densímetro digital.

El destilado presentó un olor a maíz cocido mezclado con otros olores y su sabor era dulce.

TABLA I  
CARACTERÍSTICAS DEL MOSTO CON LA ADICIÓN DE AGUA

Litros de agua / kg de maíz	Características del mosto
3	Demasiado espeso, no se puede mezclar bien y se quema en la gelatinización
4	Espeso, aún no se puede mezclar bien en la gelatinización
4.5	Adecuado, se puede mezclar sin problema en la gelatinización

## V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Se demostró que es posible la obtención de whiskey elaborado únicamente de maíz con el empleo de enzimas sintéticas.

Tanto el porcentaje de agua, temperatura y tiempo de cocción favorecen el rompimiento del almidón en amilosa y amilopectina, por lo que son factores muy importantes en el proceso de hidrólisis enzimática.

Se recomienda realizar determinación de azúcares reductores totales y directos en el grano de maíz pulverizado y en el mosto hidrolizado con la finalidad de conocer cuál maíz tiene mayor rendimiento de azúcares para la obtención de etanol.

Para mejorar los niveles de concentración de etanol se recomienda utilizar las enzimas glucoamilasas en la etapa de sacarificación para hidrolizar las dextrinas de cadena corta producida por la alfa-amilasa.

## AGRADECIMIENTOS

Al Instituto Tecnológico José Mario Molina Pasquel y Henríquez Unidad Académica Arandas por las facilidades otorgadas para la realización de este proyecto.

## REFERENCIAS

- [1] V. Saavedra Ponce (2018) México, entre los principales consumidores de Whisky. El Occidental, Guadalajara, Jalisco, México, 7 marzo 2018. [En línea] Disponible en: <https://www.eloccidental.com.mx/local/mexico-entre-los-principales-consumidores-de-whisky-1292810.html>
- [2] S. Cantera (2014) Whisky: un negocio embriagante en México. Grupo Expansión, México, 28 marzo 2014. [En línea] Disponible en: <https://expansion.mx/negocios/2014/03/28/importaciones-de-whisky-se-disparan>
- [3] C. Suárez Machín, N. A. Garrido Carralero y C. A. Guevara Rodríguez, "Levadura *Saccharomyces cerevisiae* y la producción de alcohol", *Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar*, 50(1), pp. 20-28, 2016. <https://www.redalyc.org/pdf/2231/223148420004.pdf>
- [4] B. Miranda Morales y M. E. Molina Córdoba, "Evaluación de factores que pueden influir en el proceso de sacarificación-fermentación simultáneas para la producción de etanol a partir de materiales amiláceos", *Ingeniería*, vol. 25.1, pp. 47-61, 2015.
- [5] D. P. Milón Mayer, "Elaboración de whiskey de maíz morado denominado Black Whiskey", Tesis de licenciatura, Universidad San Ignacio de Loyola, Lima, Perú, 2019. [En línea]. Disponible en: <https://repositorio.usil.edu.pe/server/api/core/bitstreams/16a44ad8-d5da-4e33-a9f5-6f98430adcd8/content>.
- [6] J. C. R. Espinoza, "Malteado y fermentación de maíz para la obtención de whisky artesanal," Tesis de Maestría, Instituto Politécnico Nacional Unidad Querétaro, Querétaro, Qro, 2018.
- [7] C. G. Benítez Cardoza y H. Pfeiffer Perea, "El maíz: Origen, composición química y morfología", *Materiales Avanzados*, 7, pp. 15-20, agosto de 2007. [En línea]. Disponible: <https://www.iim.unam.mx/revista/pdf/numero07.pdf>