

CAPÍTULO

3



Evaluación del kéfir de agua (tibicos)

en sustratos
de melaza y panela
para la producción de etanol

POR

Ana Rosa Alexandra **MONROY ARAGÓN**

Gloria Patricia **LECHÓN CARVAJAL**

Diego Leopoldo **MEJÍA ROMO**

Introducción

Los tibicos o kéfir de agua tibis, también llamados tibiches, búlgaros de agua, granillos, granizo, hongos chinos, kephir, kewra, talai, mudu kekiya, matsoun, matsoni, waterkefir y milkkefir (Porrás, 2012), siendo un cultivo de bacterias y levaduras que se encuentran en una matriz de polisacáridos creada que actúan en simbiosis para mantener un cultivo estable (Mirre 2012) de partículas gelatinosas de color amarillo translúcido de tamaño variable y de forma irregular, pueden ser de 8 a 10 milímetros (Garrido, J., 2010) y se utilizan en la producción de alcohol (Rubio, M., 1993).

En su investigación, Schneedorf (2012) determinó que los granos de tibicos deben ser inoculados en una solución basada en sacarosa, pudiendo contener frutas o extractos de frutas en una proporción del 3 al 10 por ciento y produciendo una bebida artesanal autotcarbonatada de sabor ácido y bajo contenido alcohólico mediante la fermentación de la sacarosa a temperatura ambiente cuando el período de fermentación es corto, pero cuando se prolonga más se transforma en una bebida alcohólica y posteriormente en vinagre.

De acuerdo con varios estudios, los tibicos crecen por medio los microorganismos pertenecientes a las levaduras (Schneedorf, 2012), y cuando los microorganismos encuentran un medio adecuado, los granos aumentan su tamaño y son divididos mecánicamente por el aumento de presión de dióxido de carbono de su interior. Asimismo, los microorganismos suspendidos en el medio también pueden constituir granos al formar pequeñas agrupaciones y generar su propia matriz de polisacáridos.

Monar (2014) menciona que bajo condiciones anaerobias (en ausencia de aire), la levadura en el grano de kéfir produce más dióxido de carbono (gas carbónico) y alcohol que en condiciones aeróbicas (con aire) y el porcentaje de alcohol puede oscilar entre (0,3 - 2,0%) después de dos días de cultivo.

Asimismo, Moreno y Díaz, en su investigación hizo una descripción de la microbiología y análisis químico del vinagre de los tibicos realizando un aislamiento de bacterias y citó las siguientes especies: *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus subtilis* y *B. graveolens* (posible sinónimo de *B. megaterium*).

Para descubrir más microorganismos, también se aislaron las levaduras *Saccharomyces bayanus* y *S. oviformis*, ambas sinónimos de *S. cerevisiae*, y *Pichia chodatii* var. *trumpy*, (= *P. membranifaciens*) (Ulloa y Herrera, 1981).

También Rubio, M.T. et al (1993), mediante una investigación expuso que el tibico posee levaduras *Brettanomyces clausenii*, *Candida guilliermondii*, *Candida valida*, *Cryptococcus albidus*, *Rhodotorula rubra* y *Saccharomyces cerevisiae*, y fueron aisladas al igual que varias especies de *Bacillus* (*B. brevis*, *B. circulans*, *B. coagulans*, *B. firmus*, *B. mace-rans*, *B. polymyxa* y *B. pumilus*) varias bacterias lácticas no identificadas (4 homoláctica y 3 aislamientos heteroláctica) y *Enterobacter aerogenes* N-fijador.

Los microorganismos responsables de la fermentación son de tres tipos: bacterias, mohos y levaduras. Cada uno de estos microorganismos posee características propias sobre la fermentación. A veces, estos microorganismos no actúan solos, sino que cooperan entre sí para la obtención del proceso global de fermentación (Montano, 1992).

En la producción de etanol y ácidos orgánicos de la bebida kéfir de leche y agua integral se observa que en el proceso de fermentación aumenta la concentración de ácido láctico, etanol y ácido acético como consecuencia de las fermentaciones láctica, alcohólica y acética respectivamente por los diferentes grupos de microorganismos presentes en los granos de Kéfir (Teixeira K., et al., s.f.).

Baú TR et al. (2013) realizaron la fermentación a 25 °C con un cultivo de kéfir hasta que se obtuvo un pH de 4,5, obteniendo así un producto fermentado de 3% (w/w) de fibra de soja. La temperatura óptima es de 20 °C para conservar los granos de kéfir como entrantes de suero de fermentación (Londero et al., 2012).

Materiales y métodos

Este ensayo se llevó a cabo en los laboratorios de Química de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador, sede Ibarra, en donde se utilizaron como insumos panela en bloques, melaza comercial y microorganismos (kéfir de agua), y se realizó mediante dos procesos: el de fermentación, en el cual se midieron los siguientes parámetros: °Brix con la finalidad de evaluar porcentajes de azúcar presentes en los sustratos de melaza y de panela empleándose un refractómetro de escala de 0° a 60° para medir compuestos azucarados; pH con el objetivo de determinar la acidez de los sustratos fermentados mediante la utilización de un potenciómetro; **grado alcohólico**, que se determinó una vez terminado el proceso de destilación de cada una de las muestras, de los cuales se destiló 5.000 ml a una temperatura de 85 °C. Para este parámetro se empleó un densímetro portátil, que proporciona resultados en %; **densidad de alcohol**, cuyos datos se tomaron al final de la fermentación y del proceso de destilación de las muestras de 1.000 ml de sustrato fermentado; asimismo se midió mediante un densitómetro portátil, cuyo resultado fue en gr/cm³.; el **rendimiento de alcohol** se obtuvo una vez terminado el proceso de destilación simple y fraccionada con objeto de determinar la cantidad en volumen de etanol la cual nos indica la producción. Para medir el producto final se utilizaron probetas de vidrio de medidas 10ml, 50ml, 100ml, 500ml; la **cantidad de biomasa** se evaluó una vez terminado el proceso de fermentación procediendo a medir la biomasa en gramos tomando en cuenta los gramos que se incorporó al inicio del proceso de fermentación. Este procedimiento se hizo con el objetivo de medir el crecimiento de los tibicos y se realizó de la siguiente manera:

- Se separaron los microorganismos de las diluciones fermentadas.
- Mediante un tamiz se procedió a eliminar la mayor cantidad posible de agua.
- Se utilizó una balanza digital gramera, que nos dio el resultado en gramos, con la finalidad de determinar la reproducción y aumento de los microorganismos después del proceso de la fermentación en cada uno de los sustratos.

Para el análisis estadístico se estructuraron 10 tratamientos con tres repeticiones, a los cuales se aplicó un diseño completamente al azar con un arreglo factorial A x B; en el cual A corresponde al tipo de sustrato y B a la dosis de tibicos en g; cada unidad experimental estuvo conformada por 5 litros de solución, que fue elaborada con melaza y/o panela.

Los factores en estudio fueron Factor A: tipo de sustrato; (S1) melaza, (S2) panela, y el Factor B: dosis de tibicos en gramos; (D1) 0g, (D2) 50g, (D3) 100g, (D4) 150g y (D5) 200g.

Resultados y discusión

°Brix

De los resultados obtenidos en cuanto a la variable en el **GRÁFICO 1** se puede observar la gran variabilidad de grupos al finalizar la fermentación entre los distintos tratamientos, dando un total de 9 grupos; el tratamiento D4S1 (200g de tibicos en sustrato de melaza) es el que mejor resultados presenta con 6.68 °Brix, lo que nos indica que este tratamiento usa en mayor cantidad el azúcar para la producción de alcohol, mientras que el D0S2 (0g de tibicos en sustrato de panela) fue el tratamiento que mayor °Brix alcanza con 18.93, lo que indica que este tratamiento es deficiente al momento de utilizar el azúcar para la producción de alcohol.

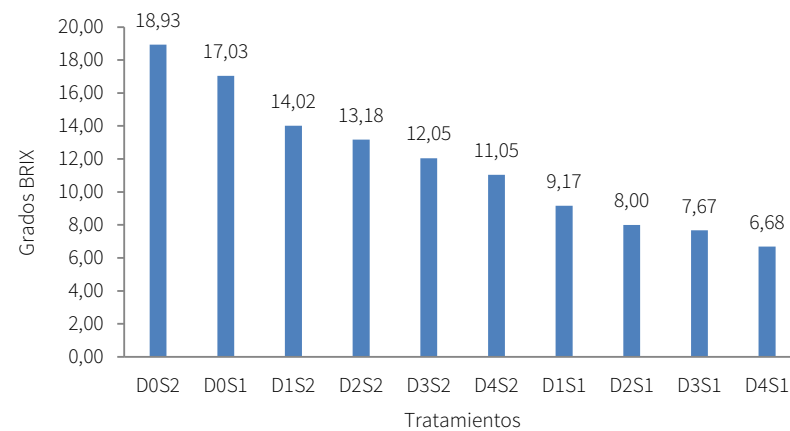


GRÁFICO 1
Representación gráfica de Tukey para la variable °Brix al final de la fermentación.
Fuente: Elaboración propia

PH al final de la fermentación

Para el análisis de este parámetro se realiza igualmente la prueba de Tukey al 5%; en el **GRÁFICO 2** se puede observar de 8 grupos con un comportamiento diferente (a,b,c,d,e,f,-g,h), en donde el rango con mayor promedio es de 5,17. El tratamiento que destaca de los demás y presenta mejores resultados es D4S2 (200g de tibicos en sustrato de panela), con un pH 4.07, siendo más eficaz en la producción de alcohol, ya que las bacterias trabajan mejor en pH ácidos. Según el factor A (sustratos) se determina que el sustrato de panela es más eficiente para el desarrollo de los tibicos.

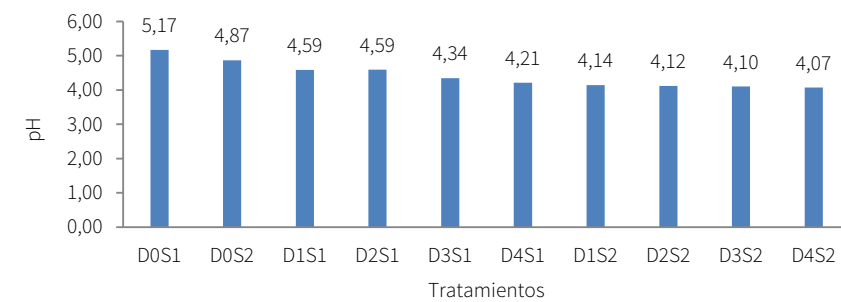


GRÁFICO 2
Representación gráfica con la prueba Tukey del variable pH. Fuente: Elaboración propia.

Cantidad de biomasa

En el **GRÁFICO 3** se observa un incremento de biomasa en todos los tratamientos que fueron sometidos al proceso de fermentación. El tratamiento que mayor cantidad de biomasa alcanzó fue D4S2 (200 g de tibicos en sustrato de panela), entonces se demuestra que existe una relación directamente proporcional, es decir, a mayor cantidad de tibicos, mayor cantidad de biomasa al final del proceso de fermentación.

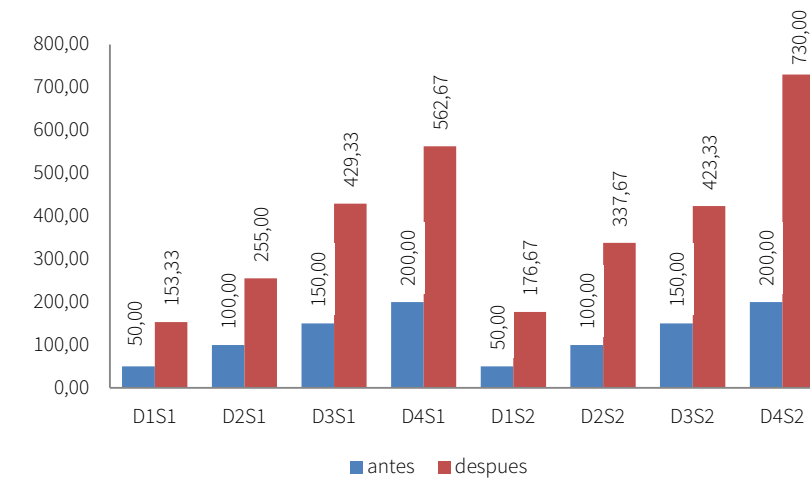


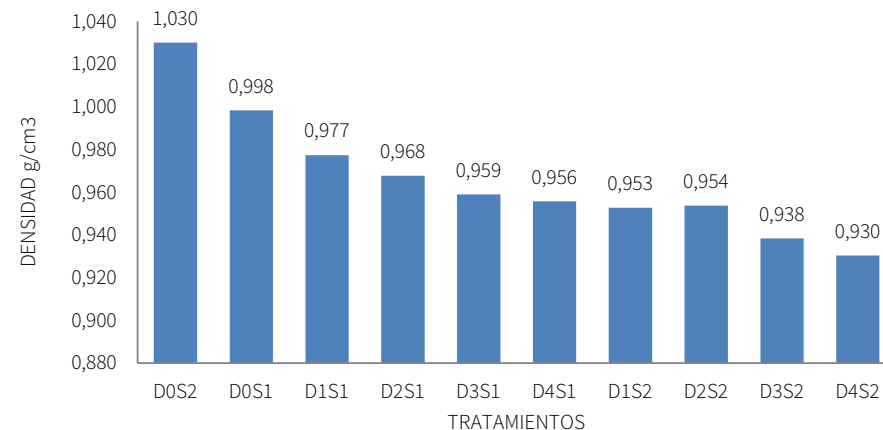
GRÁFICO 3
Representación gráfica de la cantidad de biomasa antes y después de la fermentación. Fuente: Elaboración propia

Densidad

Para este análisis se trabajó con los datos obtenidos después de la destilación. Analizando el **GRÁFICO 4** se puede observar la gran variabilidad de grupos que existe en lo que respecta a la densidad después de la rectificación del destilado en los distintos tratamientos dando un total de 6 grupos, y el mejor tratamiento fue el D4S2 (200 g de tibicos en sustrato de panela) con una densidad de 0.930 gr/cm³ en contraste con D0S2 (0 g de tibicos en sustrato de panela) con una densidad de 1.30 gr/cm³ y con una relación inversamente proporcional, es decir, a mayor cantidad de tibicos, la densidad del alcohol es menor.

GRÁFICO 4

Representación gráfica de Tukey al 5% de la densidad del etanol al final del destilado. Fuente: Elaboración propia

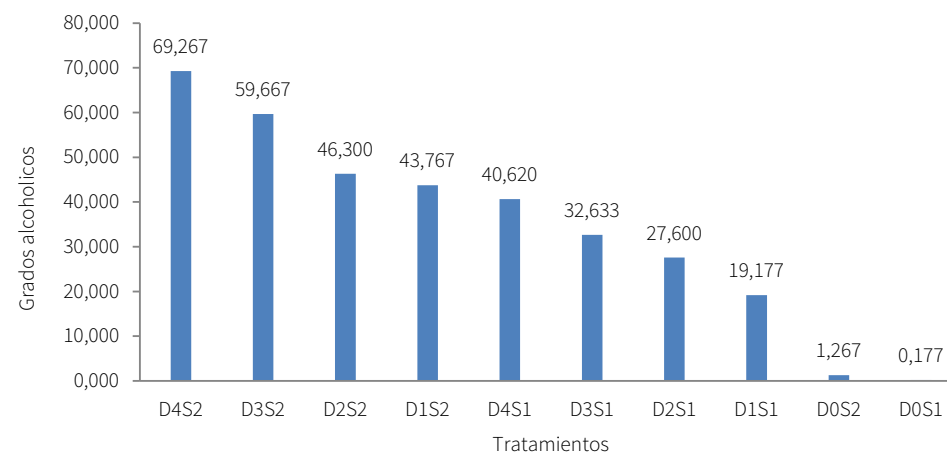


Grado alcohólico

La variable grado alcohólico se realiza después de la destilación en %. Al analizar el **GRÁFICO 5** se puede observar la gran variabilidad de grupos en lo que respecta a grados alcohólicos del destilado en los distintos tratamientos, dando un total de 8 grupos y el mejor tratamiento fue el D4S2 (200g de tibicos en sustrato de panela) con 69.3° en contraste con D0S1 (0g de tibicos en sustrato de melaza) con 0.177°.

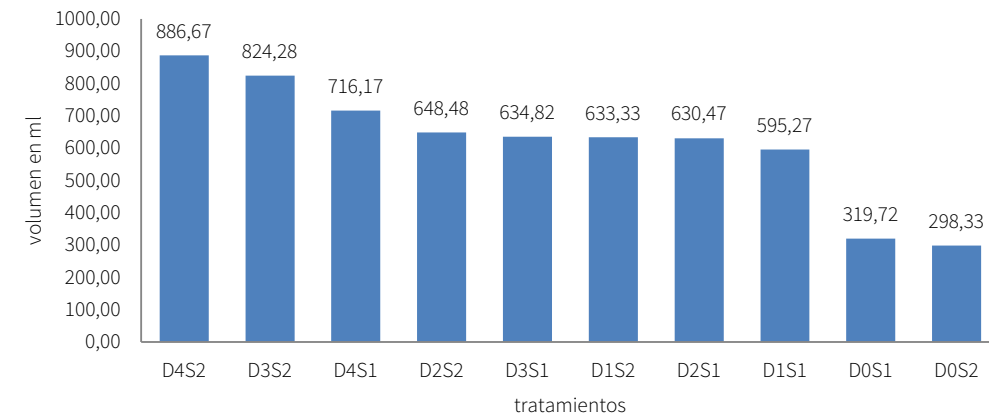
GRÁFICO 5

Representación gráfica de Tukey para la variable grado alcohólico del destilado. Fuente: Elaboración propia.



Rendimiento de etanol

Para esta variable se hace una medición del volumen en ml tomado al final del proceso de la destilación. Analizando la **GRÁFICA 6** se observa la gran variabilidad de grupos que existe en lo que respecta al rendimiento alcohólico del destilado en los distintos tratamientos, dando un total de 4 grupos y el mejor tratamiento fue el D4S2 (200 gr de tibicos en sustrato de panela) con 889.00 ml en contraste con D0S2 (0g de tibicos en sustrato de panela) con 301.33 ml de etanol.

**GRÁFICO 6**

Representación gráfica de prueba Tukey al 5% para variable rendimiento de alcohol. Fuente: Elaboración propia

Conclusiones

En la variable °Brix se determina que en el tratamiento T4 (D4S1) correspondiente a 200g de tibicos en sustrato de melaza existe una disminución de °Brix de una manera continua según el tiempo de fermentación para formar etanol. A mayor cantidad de tibicos que se adiciona en los sustratos, los grados °Brix se reducen, es decir, existe una relación inversamente proporcional. La tasa de producción de alcohol variará dependiendo de la temperatura, la cantidad de granos de kéfir, de azúcar y de las condiciones de reacción de la fermentación.

Se determina que el pH influye en la producción de etanol, siendo así que el tratamiento D4S2 (200g de tibicos en sustrato de panela) con un pH 4.07, al ser más ácido es más eficaz en la producción de alcohol, ya que las bacterias trabajan mejor en pH bajos según la teoría de Gonzales, S. (1978), quien menciona que es el rango óptimo para la producción de etanol es de 4 – 4.5 de acidez.

Con respecto a la cantidad de biomasa obtenida al final de la fermentación se determina que el tratamiento T8 (D4S2) correspondiente a 200 g de tibicos en sustrato de panela fue el que mejor resultado presentó; por lo tanto se puede determinar que la panela es un medio ideal para el crecimiento de estos microorganismos debido a la presencia de mayor cantidad de °Brix.

La densidad del etanol varía según el grado alcohólico, es decir, a menor densidad, mayor grado alcohólico.

Por lo tanto se concluye que el mejor tratamiento de esta investigación para la obtención etanol a partir de tibicos en sustratos de melaza y panela fue sin duda el tratamiento T8 (D4S2), que se refiere a 200 g de tibicos en sustrato de panela obteniendo un rendimiento de 886.15 ml con un grado alcohólico de 69,267 % y una densidad de 0.930 gr/cm³.

Referencias

- Betancourt, R. (2001) *Guía de Operaciones Unitarias III*.
- Campués Tul, K. (2011) *Obtención de alcohol a partir de jugo de caña, cachaza y melaza, mediante la incorporación de dos niveles de fermento (Saccharomyces cerevisiae)*. Ibarra 2012.
- Garrido, J.E. (2013) *Evaluación a nivel de laboratorio de la capacidad fermentativa de los granos de tibicos utilizando como sustrato unico el jugo del eje de la inflorescencia de la piña para ser aprovechado como posible bebida probiótica*. Tesis de grado. Guatemala, Universidad San Carlos. Facultad de Ingeniería Química. Recuperdo por: Patricia lechón enero 214 disponible en biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1340_Q.pdf
- Lenntech B.V (2013) *Biocombustibles*. Recopilado el 28/09/2013 disponible en: <http://www.lenntech.es/efecto-invernadero/combustibles-fosiles.htm#ixzz2gEWeEKnv>
- Montano, A.D. (1992) Transformaciones bioquímicas durante la fermentación de productos vegetales. *Grasas y aceites*, 10.
- Manual (1987) *Manual de de energías alternativas*. Recuperado el 22 de julio de 2013, de www.energiasalternativas.com
- Massager, H. (2010) *Aviver,t ciencia y tecnología* . Recuperado el 13 de enero de 2014, de: <http://avibert.blogspot.com/2010/01/fermentacion-alcoholica-fermentaciones.html>
- Mesa, J. (s.f.) *La agroindustria de la caña de azúcar en un marco de desarrollo sostenible*, Instituto Cubano Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar, Recopilado en: <http://www.monografias.com/trabajos12/mnagraz/mnagraz.shtml#ixzz2gEPebOrB>.
- Monar, Miguel (2014) Chemical and microbiological characterization of Ecuadorian homemade water kefir. *Avances en ciencias e ingenierías* , 2-3.
- Mirre, J.C. (2012) *Web de la revista discovery salud*. Recuperado el 22 de diciembre de 2013: <http://www.dsalud.com/index.php?pagina=articulo&c=1746>.
- Porras, P. E. (2012) *Elaboración de una Bebida Probiótica con Cultivos de tibicos*. Universidad de Guayaquil. Facultad de Ingeniería Química, Guayaquil.
- Quezada, W. (2007) *Agroindustria panelera*. Editorial Creadores Gráficos. Ibarra-Ecuador.
- Rubio Monroy, María Teresa (1991) *Caracterización microbiológica y bioquímica de la fermentación de tibicos en piloncillo*. Tesis. México disponible en internet. www.cabdirect.org/abstracts/19950314684.html
- Schneedorf, J.M. (2012) *Kéfir D'aguamarina y sus propiedades probióticas*. Recuperado el 6 de noviembre de 2013, de Kéfir D'aguamarina y sus propiedades probióticas: <http://www.intechopen.com/books/probiotic-in-animals/kefir-d-aqua-and-its-probiotic-properties>
- TABACAL (s.f) *Elaboración de alcohol etílico*. Recopilado el 28/09/2013, Disponible en: http://www.tabacal.com.ar/web/files/elaboracion_alcohol.pdf
- TOALA, G. (2010) *Proyecto de implementación de una planta productora de etanol con base en la caña de azúcar en la península de Santa Elena, provincia del Guayas*. Guayaquil-Ecuador.
- Vázquez, O. Dacosta (2007) Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas. En: *Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal*, 249-259.