

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL**  
**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la**  
**Producción**

**“Obtención de Bio-combustible orgánico a partir de Zea Mays  
con aplicación de Alfa-Amilasa”**

**TESIS DE GRADO**

**Previo a la obtención del Título de:**

**INGENIERO DE ALIMENTOS**

**Presentada por**

**Miryam Madeleine Lopatinsky Prado**

**GUAYAQUIL- ECUADOR**

**Año: 2008**

## **AGRADECIMIENTO**

Agradezco a Dios por haberme dado la fuerza para terminar lo empezado, a mi familia, y en especial a Jorge Lopatinsky, la MBA Mariela Reyes, al Ing. Roddy Peñafiel, y a todas esas personas que de una u otra forma colaboraron en la realización de este trabajo.

## DEDICATORIA

Dios

Mis Padres

Mis Hermanos

Mis Abuelas

Mi Esposo

Mis Sobrinos

Mis Amigos

## TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

---

Ing. Francisco Andrade S.  
Decano de la FIMCP

---

MBA Mariela Reyes L.  
Directora de Tesis

---

Ing. Priscilla Castillo S.  
Vocal

---

Ing. Jorge Duque R.  
Vocal

## **DECLARACIÓN EXPRESA**

“La responsabilidad del contenido de esta tesis de Grado,  
me corresponde exclusivamente; y el patrimonio  
intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR  
POLITECNICA DEL LITORAL”

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)

---

Miryam Madeleine Lopatinsky Prado

## RESUMEN

La producción Zea Mays o comúnmente llamado maíz es considerable debido a que constituye uno de los principales alimentos a nivel mundial. Su uso no solo se centra en alimentación humana sino también en alimentación animal, constituyendo un ingrediente importante en la elaboración de piensos para cerdos, vacas, y aves. Los tallos de maíz una vez separada la mazorca pueden ser usados para forraje. El cultivo del maíz duro en el Ecuador ha registrado un significativo crecimiento, debido principalmente a la ampliación del área cultivada, anualmente se siembran alrededor de 240.000 hectáreas. Una vez cosechado el maíz, se estima que el 40% se logra limpiar y secar mecánicamente, 30% es secado en tendales y 30% se vende húmedo. Luego se distribuye de acuerdo al porcentaje de humedad e impurezas requeridos por cada empresa. El 80% de la producción de maíz se destina para elaboración de balanceados.

El componente químico principal del grano de maíz es el almidón, al que corresponde hasta el 72-73 por ciento del peso del grano. Otros hidratos de carbono son azúcares sencillos en forma de glucosa, sacarosa y fructosa, en cantidades que varían del 1 al 3 por ciento del grano. El almidón está formado por dos polímeros de glucosa: amilosa y amilopectina. La amilosa es una molécula esencialmente lineal de unidades de glucosa, que constituye hasta el 25-30 por ciento del almidón. El polímero amilopectina también consiste de

unidades de glucosa, pero en forma ramificada y constituye hasta el 70-75 por ciento del almidón. La composición del almidón viene determinada genéticamente.

El objetivo principal de esta tesis consiste en realizar un estudio de factibilidad técnica y económica durante la obtención de biocombustible a partir de almidón de maíz y así darle un valor agregado al nuestro maíz para que sea utilizado como materia prima para la obtención de alcohol etílico el cual será destilado, purificado y rectificado para así obtener un combustible orgánico. El análisis será realizado en los laboratorios de Química Alimentaria y Microbiología de Alimentos.

Un breve resumen de elaboración se describe a continuación: en la primera parte del proceso se procede a hidrolizar la enzima y a su cocción para luego agregar la enzima alfa-amilasa la cual nos ayudará en la obtención del jarabe con el contenido de azúcar deseado. Luego de esto se procede a fermentar en presencia de levaduras que son los microorganismos responsables de la producción de alcohol en condiciones anaerobias. Finalmente se procede a destilar el mosto obtenido y así poder llegar a los grados alcohólicos necesarios para ser usado como combustible. Además se presenta un análisis microbiológico, químico y físico del alcohol y también los costos de producción que se generan para su obtención.

Con la obtención de biocombustible a partir del maíz se presenta una alternativa de producción para los inversionistas y a su vez una forma de generar empleos, teniendo como resultado un producto que cuide al medio ambiente, y un gran desarrollo socio-económico.



# ÍNDICE GENERAL

	Pág.
RESUMEN.....	I
ÍNDICE GENERAL.....	II
ABREVIATURAS.....	III
SIMBOLOGÍA.....	IV
INTRODUCCIÓN.....	1
<b>CAPÍTULO 1</b>	
<b>1. CARACTERÍSTICAS Y GENERALIDADES DE LAS MATERIAS PRIMAS</b>	
<b>1.1. Características y Generalidades del Maíz.....</b>	<b>3</b>
1.1.1. Definición y Clasificación.....	3
1.1.2. Producción de Maíz en el Ecuador.....	4
1.1.3. Jarabe de Maíz.....	4
1.1.4. El Almidón y la Glucosa.....	6
1.2. Bio-combustible .....	9
1.2.1. Bio-combustible y actualidad.....	10
1.2.2. Método de combustión y su funcionamiento.....	12
1.2.3. Producción del Ecuador.....	13
1.3. Enzima.....	14
1.3.1. Alfa-amilasa.....	14

1.4. Fermentación.....	16
1.4.1. Proceso de Fermentación.....	18
1.4.2. Levaduras.....	21
1.4.2.1. Metabolismo de la levadura.....	22
1.5. Destilación.....	23
1.6 Purificación.....	23

## **CAPÍTULO 2**

### **2. EXPERIMENTACION**

2.1. Procesos de Sacarificación.....	25
2.1.1. Cantidad de enzima añadida.....	25
2.1.2. Materiales y Reactivos.....	25
2.1.3. Procedimiento.....	26
2.2. Procesos de Fermentación.....	26
2.2.1. Grados Brix.....	27
2.2.1.1. Materiales y Reactivos.....	27
2.2.1.2. Procedimiento.....	28
2.2.2. Grados Alcohólicos.....	29
2.2.2.1. Materiales y Reactivos.....	29
2.2.2.2. Procedimiento.....	29
2.2.3. Análisis Microbiológico.....	30
2.2.3.1. Materiales y Reactivos.....	30

2.2.3.2. Procedimiento.....	30
2.3. Proceso de destilación.....	31
2.3.1. Materiales y Reactivos .....	31
2.3.2. Procedimiento.....	32
2.4. Proceso de Purificación.....	33
2.4.1. Materiales y Reactivos.....	33
2.4.2. Procedimiento.....	34
2.5. Factores que Inciden durante el Proceso.....	35
2.5.1. Oxígeno.....	35
2.5.2. pH.....	35
2.5.3. Temperatura.....	36
2.5.4 Nutrientes.....	36

## **CAPÍTULO 3**

### **3. INGENIERIA DE PROCESO**

3.1. Descripción del Proceso.....	37
3.2. Diagrama de Flujo.....	40
3.3. Descripción de Equipos.....	41
3.4. Balance de Materia y Energía.....	43
3.4.1. Balance de Agua Pérdida por Evaporación desde la recepción hasta el proceso de filtración.....	43
3.4.2. Balance de Agua Pérdida por Destilación.....	44

3.5. Cálculos de Ingeniería.....	44
3.5.1. Estudio técnico en etapa de sacarificación.....	44
3.5.1.1. Producción de Azúcares Fermentables.....	44
3.5.1.2. Cantidad añadida de Cloruro de Sodio.....	45
3.5.1.3. Variación de Densidad.....	46
3.5.2. Estudio Técnico en Etapa de Fermentación.....	46
3.5.2.1. Hidratación de Levadura.....	46
3.5.2.2. Grado Alcohólico Obtenido.....	47
3.5.2.3. Producción de Dióxido de Carbono.....	47
3.5.2.4. Conteo Microbiológico de Levaduras.....	48
3.5.3. Estudio Técnico en Etapa de Destilación.....	48
3.5.3.1. Rendimiento Etánolico.....	48
3.5.4. Estudio Técnico en Etapa de Purificación.....	48
3.5.4.1. Variación de Densidad.....	48

## **CAPÍTULO 4**

### **4. ESTUDIO DE FACTIBILIDAD ECONÓMICA**

4.1. Ingresos.....	50
4.1.1. Ingresos por Ventas.....	50
4.2. Costos de Producción.....	51
4.2.1. Costo de Materia Prima Directa.....	51
4.2.2. Costo de Mano de Obra Directa.....	52

4.2.3. Costos Indirectos de Fabricación.....	52
4.3. Inversiones.....	53
4.3.1. Costo del Terreno.....	53
4.3.2. Costo de Equipos y Maquinarias.....	53

## **CAPÍTULO 5**

<b>5. ANÁLISIS DE RESULTADOS.....</b>	<b>54</b>
---------------------------------------	-----------

## **CAPÍTULO 6**

<b>6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....</b>	<b>57</b>
---	-----------

APÉNDICES

BIBLIOGRAFÍA

## ABREVIATURAS

ATP	Adenosín trifosfato
ClNa	Cloruro de Sodio
CO <sub>2</sub>	Dióxido de carbono
g	Gramos
Kcal	Kilocalorías
KJ	Kilo joules
l	Litros
mg	Miligramos
MG	Microgranulado
ml	Mililitros
M.O.	Microorganismos
NADH	Nicotidamina adenina dinucleótido
Nm	Nanómetros
N <sub>2</sub>	Nitrógeno
O <sub>2</sub>	Oxígeno
ppm	Partes por millón
μm	Micrómetros

## SIMBOLOGÍA

$^{\circ}\text{C}$	Grados Centígrados
$^{\circ}\text{GL}$	Grados Gay Lussac
$\alpha$	Alfa
$\rho$	Densidad

## INTRODUCCIÓN

El cultivo de maíz tiene especial importancia en el país ya que constituye un elemento esencial para la base de la alimentación actual. En Ecuador las mejores épocas para su producción están comprendidas entre el 15 de diciembre al 15 de enero (estación lluviosa) y del 15 de mayo al 15 de junio (estación seca).

La variedad de maíz conocida como Zea Mays es producida en su mayoría en la costa ecuatoriana, el objetivo de este trabajo es el aprovechamiento de este maíz para la obtención de alcohol etílico y para su posterior uso en biocombustible.

La primera parte de este trabajo presenta los fundamentos teóricos respecto a la producción de maíz en el Ecuador, concepto de biocombustible, la enzima, los microorganismos usados, procesos a realizados, características y propiedades que se necesitan en la obtención del biocombustible.



A continuación se presenta la experimentación, es decir una explicación de cada uno de los procesos realizados junto con la descripción de los materiales utilizados y los parámetros que se controlaron en cada etapa.

Luego se muestra el estudio técnico del proceso, es decir la descripción del mismo junto con el diagrama de flujo así como también los equipos que fueron utilizados

Finalmente se realiza el estudio de factibilidad económica, mediante el cual se conoce si es económicamente posible y rentable la obtención de biocombustible a partir del maíz. Y después las conclusiones y recomendaciones respectivas con respecto al trabajo elaborado.

En el maíz destaca fundamentalmente una inflorescencia femenina llamada mazorca que es donde se encuentran las semillas agrupadas a lo largo de un eje. Junto con el arroz y el trigo constituye uno de los principales alimentos cultivados en el mundo. Su uso no se centra en la alimentación humana sino en la alimentación animal constituyendo un ingrediente muy importante en la elaboración de piensos para cerdos, aves y vacas. Los tallos de maíz se utilizan en la elaboración de forrajes. Así la mitad de población del mundo. Extensas regiones de Asia, África y América dependen de este cereal para poder sobrevivir. Los tres principales cereales en el mundo son el arroz, el trigo y el maíz.

#### **1.1.1. Definición y Clasificación**

El maíz, *Zea mays* L., es una especie monocotiledónea anual, perteneciente a la familia de las poáceas (gramíneas). A diferencia de los demás cereales, es una especie monoica, lo que significa que sus inflorescencias, masculina y femenina, se ubican separadas dentro de una misma planta; esto determina además que su polinización sea fundamentalmente cruzada.

El maíz es utilizado tanto en alimentación humana como animal, pudiendo obtenerse numerosos productos a partir de las distintas variedades botánicas cultivadas; además que se

encuentra entre Los tres principales cereales en el mundo son el arroz, el trigo y el maíz.

Debido a su ingesta relativamente elevada en los países en desarrollo, no se le puede considerar sólo una fuente de energía, sino que además suministra cantidades notables de proteínas. Los granos de este cereal tienen una baja concentración de proteínas y la calidad de éstas se halla limitada por la deficiencia de algunos aminoácidos esenciales, sobre todo lisina y triptófano, pero la adición de estos mejora considerablemente la calidad de este cereal. También se debe señalar que posee altas cantidades de leucina, metionina y valina. Las propiedades nutricionales del maíz se pueden observar en el apéndice A.

### **1.1.2. Producción de Maíz en el Ecuador**

La producción de maíz en el Ecuador se puede verificar en el apéndice B de acuerdo a su producción por provincias en verano e invierno.

### **1.1.3. Jarabe de Maíz**

El jarabe de maíz es un edulcorante líquido isoglucoso, creado a partir del almidón o fécula maíz. Su proceso fue descubierto

por investigadores japoneses en la década 70 del siglo XX y su consumo se ha extendido a todo el mundo.

En un principio se extendió particularmente en Estados Unidos y Canadá, países que han venido limitando su dependencia del azúcar de la caña o sacarosa proveniente de los países tropicales en más de un 35% (1994.)

Al incrementarse la producción de fructosa se obtiene un almíbar comparable a las características de la sacarosa en un radio extendido entre la fructosa y la glucosa en su dulzura. Este proceso ha sido el mejor sustituto para aquellas empresas dedicadas a las bebidas ligeras y los comestibles

Primero, el almidón obtenido del maíz es calentado en forma de leche, es hidrolizado a dextrina mediante licuación enzimática (amilasa) y luego hidrolizado a glucosa por medio de la enzima sacarosa (glucomilasa.)de tal forma que rompamos toda la molécula con la ayuda de las enzimas

Segundo, el jarabe de glucosa resultante es tamizado por filtración para eliminar impurezas que se le hayan pegado en el proceso, es purificado a través de un filtro de carbono para decoloración, se filtra nuevamente por un proceso de refinado y

el jarabe de glucosa es concentrado por proceso de evaporación.

Tercero, el jarabe de glucosa decolorado y concentrado es llevado dentro de un reactor de isomerización que contiene enzimas isomerasa. Alrededor de la mitad del jarabe de glucosa es isomerizada a fructuosa. Luego el jarabe isomerizado es refinado y concentrado hasta obtener un jarabe de fructuosa con un contenido del 42% de fructuosa.

Y finalmente, el jarabe de fructuosa en concentración de 42% es separado, para luego ser mezclado con un jarabe de fructuosa al 80-90% de concentración para obtener un jarabe de fructuosa al 55% de concentración.

#### **1.1.4. El Almidón y la Glucosa**

El almidón es un polisacárido de glucosa, insoluble en agua fría, pero aumentando la temperatura experimenta un ligero hinchamiento de sus granos. El almidón está constituido por dos tipos de cadena:

- Amilosa: polímero de cadena lineal.
- Amilopectina: polímero de cadena ramificada.

Junto con el almidón, vamos a encontrar unas enzimas que van a degradar un 10% del almidón hasta azúcares simples, son la alfa y la beta amilasa.

La alfa y la beta amilasa van a degradar el almidón hasta dextrina, maltosa y glucosa que servirá de alimento a las levaduras durante la fermentación.

La glucosa o dextrosa, es un monosacárido con fórmula empírica  $C_6H_{12}O_6$ , la misma que la fructosa pero con diferente posición relativa de los grupos  $-OH$  y  $O=$ . Es una hexosa, es decir, que contiene 6 átomos de carbono, y es una aldosa, esto es, el grupo carbonilo está en el extremo de la molécula. Es una forma de azúcar que se encuentra libre en las frutas y en la miel

Todas las frutas naturales tienen cierta cantidad de glucosa (a menudo con fructosa), que puede ser extraída y concentrada para hacer un azúcar alternativo. Pero a nivel industrial, tanto la glucosa líquida (jarabe de glucosa) como la dextrosa (glucosa en polvo) se obtienen a partir de la hidrólisis enzimática de almidón de cereales (generalmente trigo o maíz).

La glucosa, libre o combinada, es el compuesto orgánico más abundante de la naturaleza. Es la fuente principal de energía de

las células, mediante su oxidación catabólica, y es el componente principal de polímeros de importancia estructural como la celulosa y de polímeros de almacenamiento energético como el almidón y el glucógeno.

En su forma D-Glucosa, sufre una ciclación hacia su forma hemiacetálica para dar sus formas furano y pirano (D-glucofuranosa y D-glucopiranosa) que a su vez presentan anómeros alfa y beta. Estos anómeros no presentan diferencias de composición estructural, pero si diferentes características físicas y químicas. La D-(+)-glucosa es uno de los compuestos más importantes para los seres vivos, incluyendo a seres humanos.

En su forma  $\beta$ -D-glucopiranosa, una molécula de glucosa se une a otra gracias a los -OH de sus carbonos 1-4 para formar celobiosa a través de un enlace  $\beta$ , y al unirse varias de estas moléculas, forman celulosa.

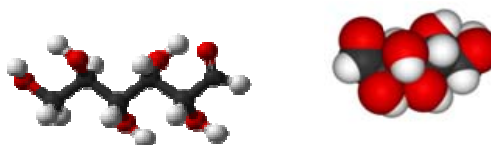


Figura 1.1 Cadenas lineales de glucosa

Fuente: Composición de Glucosa

## 1.2. Biocombustible

El biocombustible es el término con el cual se denomina a cualquier tipo de combustible que derive de la biomasa - organismos recientemente vivos o sus desechos metabólicos, tales como el estiércol de la vaca. La caña de azúcar, productora de bioetanol.

Los combustibles de origen biológico pueden sustituir parte del consumo en combustibles fósiles tradicionales, como el petróleo o el carbón. Los biocombustibles más usados y desarrollados son el bioetanol y el biodiesel.

- El bioetanol, también llamado etanol de biomasa, se obtiene a partir de maíz, sorgo, caña de azúcar, remolacha o de algunos cereales como trigo o cebada. Brasil es el principal productor de bioetanol (45% de la producción mundial), Estados Unidos representa el 44%, China el 6%, la Unión Europea el 3%, India el 1% y otros países el restante 1%.
- El biodiesel, se fabrica a partir de aceites vegetales, que pueden ser ya usados o sin usar. En este último caso se suele usar raps, canola, soja o jatrofa, los cuales son cultivados para este propósito. El principal productor de biodiesel en el mundo es Alemania, que concentra el 63% de la producción. Le sigue Francia



con el 17%, Estados Unidos con el 10%, Italia con el 7% y Austria con el 3%.

### **1.2.1. Bio-combustible y actualidad**

Los biocombustibles son libres en sulfuro y energía renovable con cero emisiones de dióxido de carbono. Así como las plantas usan el sol para crecer, la materia orgánica (biomasa) almacena energía solar como carbono.

La biomasa (de masa biológica) participa del ciclo natural del carbono entre la tierra y el aire. Es energía limpia con beneficio medioambiental diferente a leña, carbón, petróleo.

Es energía renovable no contaminante, junto con la eólica. Su producción agrícola utilizará basura orgánica, desechos metabólicos, excrementos, estiércol ganadero, basura y otros orgánicos e inorgánicos. Proviene también de residuos agrícolas y forestales, como paja, ramas finas, astillas, aserrín y caña de azúcar. Es combustible de recursos biológicos. El biogás, bioalcohol, bioetanol, proporcionarán energías sustitutivas. Igual se obtiene de subproductos árboles, maíz, residuos de la elaboración de aceite, cáscaras de frutos secos,

restos de carpintería, de podas, siegas, limpieza de montes y residuos de la industria alimentaria, caña de azúcar y soja.

El interés de Estados Unidos y Brasil para biocombustibles superará la crisis energética en países desarrollados y subdesarrollados. Brasil, autosuficiente en petróleo, con más del 60% de su energía hidroeléctrica, que posee programas avanzados en el uso de energía solar, eólica y nuclear, abre las puertas para que Ecuador utilice energía renovable biológica, que sustituirán a los fósiles.

Sus gigantescas tierras vírgenes nunca cultivadas, ampliarán su frontera agrícola, generando millones de empleos, regresando el hombre a la tierra, reduciendo la emigración y el calentamiento global. Como combustible o aditivo, el etanol y el biodiesel reducen la emisión de poluyentes (de polución), dando paso a una industria que producirá materiales, medicamentos, abonos y alimentos para animales, diferentes a la petroquímica. Una revolución energética está en curso. No opone biocombustibles a fósiles sino complementariedad. Consolidará Suramérica como la mayor y más diversificado potencial energético del mundo. Los más desarrollados son el bioetanol y

el biodiesel, del maíz, sorgo, caña de azúcar o remolacha y su producción está liderada por Brasil.

El biodiesel, a partir de aceites vegetales, usados o sin usar. Grandes consumidores e importadores de petróleo y gas producen e importan combustibles alternativos para maquinarias y transportes público y privado. Se ha creado la Comisión Interamericana de Etanol, para impulsar su producción. Crea puestos de trabajo y ahorra divisas.

### **1.2.2. Método de combustión y su funcionamiento**

Los biocombustibles son productos obtenidos a partir del maíz, girasol, caña de azúcar o remolacha. El proceso de obtención de biodiesel a partir de aceites vegetales, grasas animales y aceites de fritura usados, para su uso como combustible Diesel, se ha llevado a cabo en los distintos Laboratorios de Desarrollo de Procesos Químicos y Bioquímicos del país.

El proceso comprende la trans-esterificación del aceite o grasa con alcoholes ligeros, utilizándose un catalizador adecuado, para generar esteres de ácidos grasos (biodiesel). El alcohol que generalmente se utiliza es metanol, aunque se pueden utilizar otros alcoholes ligeros, como etanol, propanol o butanol.

Como co-producto se obtiene glicerina, que se puede utilizar en otros procesos de interés industrial, suponiendo un factor positivo desde el punto de vista económico. Para la producción de 1.005 kilos de biodiesel, son necesarios 110 kilos de metanol, 15 de catalizador y mil de aceite, además de 4,29 metros cúbicos de agua. Este procedimiento permite además la obtención de cien kilos de glicerina como subproducto. Estos datos indican que el balance energético de este procedimiento es positivo.

### **1.2.3. Producción del Ecuador**

Ecuador está en el proceso de análisis de la posibilidad de producir biocombustible en grandes cantidades. Las empresas automotrices dicen que se reducirá la contaminación. La Asociación Ecuatoriana de Empresas Automotrices del Ecuador (Aeade) manifestó su apoyo a la producción de biocombustibles en el Ecuador.

Según los estudios realizados por economistas en el país “el uso de biocombustibles es favorable ya que son menos contaminantes, permiten ahorro de divisas y generan importantes fuentes de empleo”. Los datos obtenidos afirman

que con la producción de biocombustibles se podría lograr un ahorro de alrededor de \$33 millones anuales en la importación de gasolinas de alto octanaje, que actualmente asciende a los 2000 barriles diarios.

La producción local de etanol es una alternativa que contribuiría a reducir el volumen de importación de naftas de alto octanaje, lo cual mejoraría la combustión y reduciría la contaminación ambiental.

### **1.3. Enzimas**

Las enzimas son proteínas que actúan como catalizadores de las diferentes reacciones bioquímicas que constituyen el metabolismo de los seres vivos. Para que se produzca una determinada reacción, es necesaria la presencia de un determinado enzima, y la mayor o menor cantidad de éste suele modificar la velocidad de la reacción controlada. En esta parte analizaremos las enzimas que se utilizaran en la elaboración del biocombustible.

#### **1.3.1. Alfa-amilasa**

Su origen es Fúngico (*Aspergillus oryzae*), bacteriano (*B. stearothermophilus*, *B. subtilis*), de cereales y del páncreas.

La enzima alfa-amilasa se encuentra en poca cantidad en el trigo y abunda más en aquel que ha sido parcialmente germinado. Como es sabido, el almidón está formado por la fracción amilosa de cadena recta de moléculas de glucosa unidas por enlaces glucosídicos alfa-1,4; en tanto que la fracción amilopectina, además de la cadena recta, presenta ramificaciones con enlaces glucosídicos 1,6.

La alfa-amilasa cataliza la hidrólisis de la cadena lineal (amilosa) y la ramificada (amilopectina) del almidón, rompiendo enlaces 1,4 interiores (endoamilasa) para formar una mezcla de dextrinas; por ello se la conoce como enzima dextrinogénica (mezcla de amilodextrina, eritrodextrina, acrodextrina y maltodextrina) con poca producción de maltosa.

Por su acción, la alfa-amilasa provee de fragmentos menores que pueden ser utilizados por la enzima beta-amilasa. La enzima alfa-amilasa requiere de un activador como, por ej., cloruro de sodio. Es sensible a una acidez elevada y se vuelve inactiva a pH 3,3 o a pH menor a 0°C por 15 min. El pH óptimo de acción está dentro del rango 5-7, siendo de 6,5 para la alfa-

amilasa bacteriana y pancreática. La enzima es resistente al calor, pues a 70°C conserva un 70% de su actividad. Actúa sobre almidones crudos y gelatinizados. Ver apéndice C, D y E.

#### **1.4. Fermentación**

La fermentación es un proceso catabólico de oxidación incompleta, totalmente anaeróbico, siendo el producto final un compuesto orgánico. Estos productos finales son los que caracterizan los diversos tipos de fermentaciones.

Fue descubierta por Pasteur, que la describió como la *vie sans l'air* (la vida sin el aire). La fermentación típica es llevada a cabo por las levaduras. También algunos metazoos y protistas son capaces de realizarla.

La fermentación es anaeróbica ya que se produce en ausencia de oxígeno; ello significa que el aceptor final de los electrones del NADH producido en la glucólisis no es el oxígeno, sino un compuesto orgánico que se reducirá para poder re-oxidar el NADH a NAD<sup>+</sup>. El compuesto orgánico que se reduce (acetaldehído, piruvato,...) es un derivado del sustrato que se ha oxidado anteriormente.

Las fermentaciones pueden ser: naturales, cuando las condiciones ambientales permiten la interacción de los microorganismos y los sustratos orgánicos susceptibles; o artificiales, cuando el hombre propicia condiciones y el contacto referido.

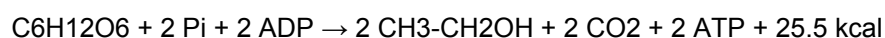
La fermentación alcohólica (denominada también como fermentación del etanol o incluso fermentación etílica) es un proceso biológico de fermentación en plena ausencia de aire (oxígeno - O<sub>2</sub>), originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general azúcares: como pueden ser por ejemplo la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.) para obtener como productos finales: un alcohol en forma de etanol (cuya fórmula química es: CH<sub>3</sub>-CH<sub>2</sub>-OH), dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) en forma de gas y unas moléculas de ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico.

El etanol resultante se emplea en la elaboración de algunas bebidas alcohólicas, tales como el vino, la cerveza, la sidra, el cava, etc. Aunque en la actualidad se empieza a sintetizar también etanol mediante la fermentación a nivel industrial a gran escala para ser empleado como biocombustible.



### 1.4.1. Proceso de Fermentación

La glucólisis es la primera etapa de la fermentación, lo mismo que en la respiración celular, y al igual que ésta necesita de enzimas para su completo funcionamiento. A pesar de la complejidad de los procesos bioquímicos una forma esquemática de la reacción química de la fermentación alcohólica puede describirse como una glicólisis (en la denominada vía Embden-Meyerhof-Parnes) de tal forma que puede verse como participa inicialmente una molécula de hexosa:



Se puede ver que la fermentación alcohólica es desde el punto de vista energético una reacción exotérmica, se libera una cierta cantidad de energía. La fermentación alcohólica produce gran cantidad de CO<sub>2</sub>, que es la que provoca que el Champagne y algunos vinos tengan burbujas. Este CO<sub>2</sub> pesa más que el aire, y puede llegar a crear bolsas que desplazan el oxígeno de los recipientes donde se produce la fermentación. Por ello es necesario ventilar bien los espacios dedicados a tal fin.

El producto es un piruvato tal y como se describe a continuación:



La reacción química se describe como la reducción de dos moléculas de Nicotinamida adenina dinucleótido (NAD<sup>+</sup>) de NADH (forma reducida del NAD<sup>+</sup>) con un balance final de dos moléculas de ADP que finalmente por la reacción general mostrada anteriormente se convierten en ATP (adenosín trifosfato). Otros compuestos trazados en menores proporciones que se encuentran presentes tras la fermentación son: el ácido succínico, el glicerol, el ácido fumárico.

En primer lugar el piruvato se descarboxila mediante la acción de la piruvato descarboxilasa para dar como producto final acetaldehído liberando por ello dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) a partir de iones del hidrógeno (H<sup>+</sup>) y electrones del NADH.

Tras esta operación el NADH sintetizado en la reacción bioquímica catalizada por el GADHP se vuelve a oxidar por el alcohol deshidrogenasa, regenerando NAD<sup>+</sup> para la continuación de la glucólisis y sintetizando al mismo tiempo etanol. Se debe considerar que el etanol va aumentando de

concentración durante el proceso de fermentación y debido a que es un compuesto tóxico, cuando su concentración alcanza aproximadamente un 12% de volumen las levaduras tienden a morir. Esta es una de las razones fundamentales por las que las bebidas alcohólicas (no destiladas) no alcanzan valores superiores a los 20% de concentración de etanol.

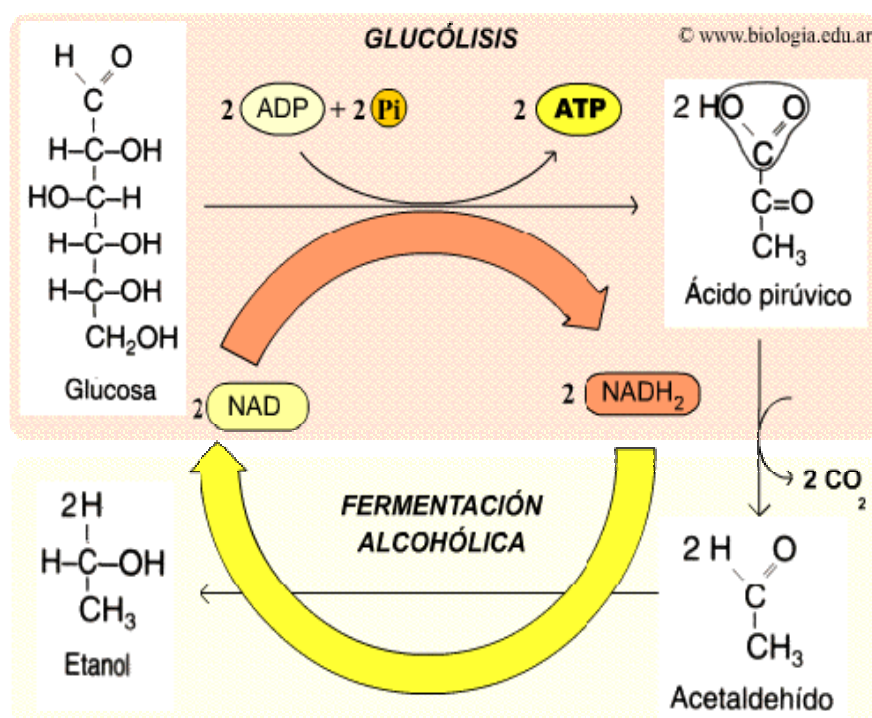


Figura 1.2 FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Fuente: Biología Celular

### 1.4.2. Levaduras

Las levaduras son cuerpos unicelulares, generalmente de forma esférica, de un tamaño que ronda los 2 a 4  $\mu\text{m}$  y que están presentes de forma natural en algunos productos como las frutas, cereales y verduras. Son lo que se denominan: organismos anaeróbicos facultativos, es decir que pueden desarrollar sus funciones biológicas sin oxígeno.

Se puede decir que el 96% de la producción de etanol la llevan a cabo hongos microscópicos, diferentes especies de levaduras, entre las que se encuentran principalmente: *saccharomyces cerevisiae*, *khuyveromyces fragilis*, *torulospora* y la *zymomonas mobilis*.

Los microorganismos responsables de la fermentación son de tres tipos: bacterias, mohos y levaduras. Cada una de estos microorganismos posee una característica propia sobre la fermentación que son capaces de provocar, en algunos casos son capaces de proporcionar un sabor característico al producto final, como en el caso de los vinos o cervezas. A veces estos microorganismos no actúan solos, sino que cooperan entre sí para la obtención del proceso global de fermentación.

#### **1.4.2.1. Metabolismo de las Levaduras**

*S. cerevisiae* es un sistema genético que, a diferencia de la mayoría de otros microorganismos, presenta dos fases biológicas estables: haploide y diploide.

La fase haploide permite generar, aislar y caracterizar mutantes con mucha facilidad, mientras que en la diploide se pueden realizar estudios de complementación. Una levadura haploide contiene 16 cromosomas variando en tamaño de 200 a 2200 kilobases (kb).

Una ventaja adicional de este microorganismo consiste en que se conoce la secuencia completa de su genoma y se mantiene en constante revisión, gracias a su capacidad de generar dióxido de carbono y etanol durante el proceso de fermentación es muy utilizada en la industria de alcoholes. Básicamente este proceso se lleva a cabo cuando esta levadura se encuentra en un medio muy rico en azúcares (como la D-glucosa). En condiciones de escasez de nutrientes, la levadura utiliza otras rutas metabólicas que le permiten obtener un mayor

rendimiento energético, y por tanto no realiza la fermentación. Ver Apéndice F y G.

### **1.5. Destilación**

Es un proceso que consiste en calentar un líquido hasta que sus componentes más volátiles pasan a la fase de vapor y, a continuación, enfriar el vapor para recuperar dichos componentes en forma líquida por medio de la condensación. El objetivo principal de la destilación es separar una mezcla de varios componentes aprovechando sus distintas volatilidades, o bien separar los materiales volátiles de los no volátiles. La finalidad principal de la destilación es obtener el componente más volátil en forma pura. Por ejemplo, la eliminación del agua de la glicerina evaporando el agua, se llama evaporación, pero la eliminación del agua del alcohol evaporando el alcohol se llama destilación, aunque se usan mecanismos similares en ambos casos.

### **1.6. Purificación**

Es un proceso que consiste en calentar un líquido hasta que sus componentes más volátiles pasan a la fase de vapor y, a continuación, enfriar el vapor para recuperar dichos componentes en forma líquida por medio de la condensación. El objetivo principal de

la destilación es separar una mezcla de varios componentes aprovechando sus distintas volatilidades, o bien separar los materiales volátiles de los no volátiles. La finalidad principal de la destilación es obtener el componente más volátil en forma pura. Por ejemplo, la eliminación del agua de la glicerina evaporando el agua, se llama evaporación, pero la eliminación del agua del alcohol evaporando el alcohol se llama destilación, aunque se usan mecanismos similares en ambos casos.

Maíz.- Es la principal materia prima de nuestro producto debido a que de esta se obtendrá el almidón que a su vez será degradado a azúcares simples para proceder a ser fermentado. El maíz a utilizarse es el *Zea mays* L. procedente de la provincia del Guayas.

Agua.- Potable y que cumpla con todos los requerimientos de las normas INEN con respecto a su composición.

Enzima.- La alfa amilasa BAN – 700 MG (microgranulado), respetando los parámetros de temperatura y pH ideales para su funcionamiento.

Cloruro de sodio.-Una sal que actúa como activador de la enzima y como una solución buffer lo que quiere decir que puede corregir el pH de una solución, la cantidad necesaria es de 20 ppm.

Materiales de laboratorio:

- Beaker de 600 ml
- Calentador
- Agitador



- Tirillas para medir pH
- Termómetro
- Refractómetro
- Balanza

### **2.1.3. Procedimiento**

Se procede a hidrolizar el almidón de maíz, el cual se mantendrá a una temperatura de 60°C durante 15 minutos, se controla que el pH no varíe de 5 y se procede a añadir la enzima alfa-amilasa, durante el tiempo de sacarificación se van formando los azúcares necesarios para continuar con el proceso, el tiempo de acción de la enzima utilizada es de un día y se mantiene a la temperatura óptima de trabajo. La mezcla obtenida es filtrada y llevada al proceso de fermentación. Ver apéndice H e I.

### **2.2. Proceso de Fermentación**

La fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico realizado por las levaduras y algunas clases de bacterias. Estos microorganismos transforman el azúcar en alcohol etílico y dióxido de carbono. La glucosa se degrada en un ácido pirúvico. Este ácido pirúvico se convierte luego en CO<sub>2</sub> y etanol. La fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a los

microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno para ello disocian las moléculas de glucosa y obtienen la energía necesaria para sobrevivir, produciendo el alcohol y CO<sub>2</sub> como desechos consecuencia de la fermentación. Las levaduras y bacterias causantes de este fenómeno son microorganismos muy habituales en las frutas y cereales y contribuyen en gran medida al sabor de los productos fermentados.

### **2.2.1. Grados Brix**

Los grados Brix (símbolo °Bx) miden el cociente total de sacarosa disuelta en un líquido. Una solución de 25 °Bx tiene 25 g de azúcar (sacarosa) por 100 g de líquido o, dicho de otro modo, hay 25 g de sacarosa y 75 g de agua en los 100 g de la solución. Los grados Brix se miden con un, refractómetro que mide la gravedad específica de un líquido.

#### **2.2.1.1. Materiales y Reactivos**

Jarabe de maíz.- producto resultante de la sacarificación del maíz, refinado y concentrado hasta obtener un jarabe con un contenido del 42% de fructuosa.

Agua.- Potable y que cumpla con todos los requerimientos de las normas INEN con respecto a su composición.

Levadura.- la especie a utilizarse es la SACHAROMICES CEREVICIAE, a la cual se la proveerá con las condiciones óptimas de pH y temperatura para que pueda realizar su proceso de fermentación.

Materiales de laboratorio:

- Fiola de 600 ml
- Calentador
- Agitador
- Tirillas para medir pH
- Termómetro
- Refractómetro
- Balanza

#### **2.2.1.2. Procedimiento**

La levadura previamente hidratada se la agrega al jarabe obtenido en el proceso de sacarificación. Luego se coloca en el bioreactor la mezcla en botellas cerradas herméticamente pero

con salidas de evacuación para gases y tomas de muestras.

Ver apéndice J.

## **2.2.2. Grados Alcohólicos**

Los grados alcohólicos o grados Gay Lussac se refieren a la medida del etanol en una bebida alcohólica y cada grado equivale a 1% v/v.

### **2.2.2.1. Materiales y Reactivos**

Mosto.- sustancia resultante proveniente del proceso de fermentación.

Materiales de laboratorio:

- Tubo de ensayo
- Matraz Volumétrico

### **2.2.2.2. Procedimiento**

Se colocan 25 ml de muestra de mosto fermentado en un tubo de ensayo cerrado el mismo que se agitara por algunos segundos para liberar el CO<sub>2</sub>. La muestra agitada colocar en la copa de entrada de equipo, limpiar con agua destilada, cerrar la entrada.

Se acopla un matraz volumétrico al final del condensador de modo que la punta de éste entre 2 o 3 centímetros en el balón. Antes de completar el llenado del matraz volumétrico (50 ml) retirar del condensador el cual va a ser completado con agua destilada, luego se lee el porcentaje de alcohol en el densímetro digital.

### **2.2.3. Análisis Microbiológico**

Análisis en el que se procede a conteo de levaduras que existen en la muestra que se ha fermentado.

#### **2.2.3.1. Materiales y Reactivos**

Mosto.- sustancia resultante proveniente del proceso de fermentación.

Materiales de laboratorio:

- Tubo de ensayo
- Placa Petriflim

#### **2.2.3.2. Procedimiento**

Se toma una muestra de 1 ml y se coloca en 9 ml de agua de peptona obteniéndose una dilución 1:10, luego tomar una

muestra de ahí y colocar en otro tubo que contenga 9 ml donde se obtiene una dilución 1:100 y repetir este procedimiento para obtener la última dilución 1:1000.

A continuación se obtiene un ml de estas diluciones para colocarlas con una pipeta en la placa petrifilm y luego ejercer ligera presión con el aplicador de cara lisa para homogenizar sobre el área de la placa petrifilm.

Luego de la siembra se ponen las placas en la estufa e incubar a 35 0C aproximadamente de 24 a 48 horas. Finalmente ver las placas, contar y observar los resultados.

### **2.3. Proceso de destilación**

Este proceso separa líquidos dependiendo de su punto de ebullición de las impurezas no volátiles, o bien separa mezclas de dos componentes que hiervan con una diferencia de puntos de ebullición de al menos 25°C.

#### **2.3.1. Materiales y Reactivos**

Mosto.- sustancia resultante proveniente del proceso de fermentación.

Materiales de laboratorio:

- Matraz Volumétrico (600 ml)
- Soporte
- Pinza
- Termómetro
- Calentador
- Refrigerante
- Fiola

### **2.3.2. Procedimiento**

El líquido que se quiere destilar se pone en el matraz (que no debe llenarse mucho más de la mitad de su capacidad) y se calienta con la placa calefactora. Cuando se alcanza la temperatura de ebullición del líquido comienza la producción apreciable de vapor, condensándose parte del mismo en el termómetro y en las paredes del matraz.

La mayor parte del vapor pasa al refrigerante donde se condensa debido a la corriente de agua fría que asciende por la camisa de este. El destilado (vapor condensado) escurre al matraz colector a través de la alargadera.

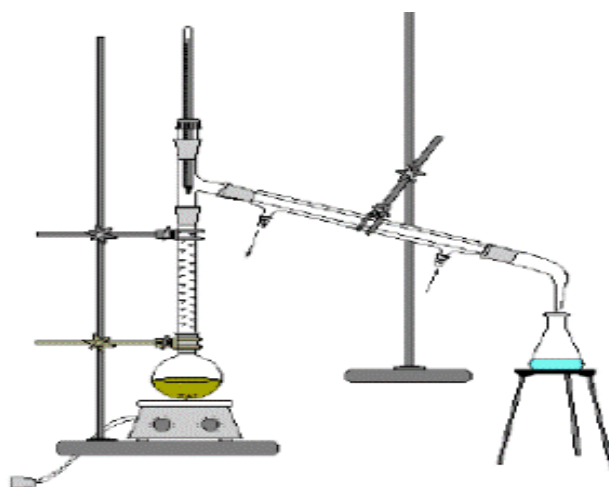


Figura 2.1 Destilación Fraccionada

Fuente: Química Orgánica

## 2.4. Proceso de Purificación

La purificación del alcohol es lo más importante en la completa fabricación. Esto es lo principal en la obtención de los mejores resultados. El método de purificación lo describo este es el absolutamente es el único método que brinda alcohol puro. Si se tiene un buen carbón activado es usado en de un tamaño de grano pequeño en donde 1.7 litros (0.5 – 1 Kg) son suficiente para 1-5 litros de alcohol (diluidos bajo el 50%) o más.

### 2.4.1. Materiales y Reactivos

Carbón Activado.- se puede comparar con pequeñas esponjas lleno de perforaciones. La capacidad de absorción del carbón



activo se mide en el área de estas perforaciones por gramo (expresado en  $m^2$ /gramos. El tamaño del grano del carbón activo determina que tan rápido absorbe las impurezas. El carbón activado es Efectivo si tiene un gran tamaño de aproximado de 1 mm Los granos grandes son inefectivos y no son buenos usar la superficie del grano. Un poderoso carbón no se es usado como el mejor método de purificación y se considera como poderoso consolidación y bloque de procesos.

Las impurezas son absorbidas por los poros de los carbones activados, incluyendo los aceites fundidos y los sabores de la levadura. Para obtener la mejor ventaja de los poros en un filtro es hacerlo lentamente para que pase todo por una capa de carbón activado (1.5 mts) y que sé pre humedezca.

Etanol.- es un alcohol incoloro y volátil que está presente en diversas bebidas fermentadas

Materiales de laboratorio:

- Fiola (600 ml)

#### **2.4.2. Procedimiento**

Se procede a usar el alcohol destilado y a ser filtrado con el carbón activado. El alcohol se filtra en flujo continuo.

## **2.5. Factores que Inciden durante el Proceso**

Durante el proceso de obtención de alcohol existen factores que regulan la velocidad de producción y a su vez pueden complicar o favorecer todas las etapas en las que están presentes.

### **2.5.1. Oxígeno**

El contacto con el aire se refiere a una intervención de oxígeno (por mínima que sea) en el proceso lo detiene por completo (es el denominado Efecto Pasteur). Esta es la razón por la que los recipientes fermentadores se cierran herméticamente.

### **2.5.2. pH**

El pH es un factor limitante en varias etapas del proceso de obtención de jarabe y luego en el de obtención de alcohol. Para que la alfa-amilasa funcione el pH óptimo debe ser de 5.3 siendo tolerable hasta 7. Las levaduras se encuentran afectadas claramente por el ambiente, bien sea alcalino o ácido. Por regla general el funcionamiento de las levaduras está en un rango que va aproximadamente desde 3.5 a 5.5 pH

### **2.5.3. Temperatura**

La temperatura es un factor importante durante la obtención de jarabe debido a que la enzima trabaja óptimamente a 60°C si esta llegara a 70°C se inactivaría. En la obtención de alcohol influye en el rendimiento de la producción de alcohol por medio de las levaduras debido a que deben ser hidrolizadas a 40-45 °C. El proceso de fermentación es exotérmico, y las levaduras tienen un régimen de funcionamiento en unos rangos de temperatura óptimos, se debe entender además que las levaduras son seres mesófilos. Si se expone cualquier levadura a una temperatura cercana o superior a 55 °C por un tiempo de 5 minutos se produce su muerte. La mayoría cumple su misión a temperaturas de 30°C.

### **2.5.4. Nutrientes**

La concentración de azúcares o también llamados hidratos de carbono en forma de monosacáridos y disacáridos puede frenar la actividad bacteriana. De la misma forma la baja concentración puede frenar el proceso. Las concentraciones límite dependen del tipo de azúcar así como de la levadura responsable de la fermentación. Las concentraciones de azúcares afectan a los procesos de osmosis dentro de la membrana celular.

Tanto el cloruro de sodio como la levadura *SACHAROMICES CEREVICIAE* se deben almacenar en lugares frescos y secos para hacer conservar sus características esenciales para la elaboración de este proceso.

Hidrolisis.- el almidón se mezcla con el agua, se debe mantener una temperatura de 25°C durante 15 minutos.

Cocción.- el almidón hidrolizado se mezcla con agua previamente calentada a 25°C, luego se lleva a 60°C temperatura que se debe mantener durante 15 minutos en los cuales se rompen las cadenas de almidón y se favorece a la enzima.

Estabilización.- o también llamada sacarificación del almidón, es la etapa donde se forman azúcares que aumentaran con respecto al tiempo, la temperatura debe de mantenerse en 60°C debido a que es la temperatura optima de trabajo de la enzima y durara 1 día.

Filtración.- al ser filtrada la mezcla tendremos dos productos resultantes. El primero llamado torta se utilizara al ser secado y luego mezclado con otros elementos para producir balanceado (alimento

para animales). Lo restante es un líquido amarillento que contiene el 8% de sólidos solubles.

Fermentación.- es la transformación de azúcares en alcohol etílico y anhídrido carbónico, el cual es un fenómeno químico biológico producido por fermentos o levaduras las cuales actúan y se desarrollan en un medio adecuado.

Destilación.- es el proceso que consiste en calentar un líquido hasta que sus componentes más volátiles pasan a la fase de vapor y, a continuación, enfriar el vapor para recuperar dichos componentes en forma líquida por medio de la condensación. El objetivo principal de la destilación es separar una mezcla de varios componentes aprovechando sus distintas volatilidades, o bien separar los materiales volátiles de los no volátiles. La eliminación del agua del alcohol evaporando el alcohol se llama destilación.

El agua, que hierve a 100 °C, y alcohol, que hierve a 78,5 °C debido a esto se usa la destilación fraccionada. Si se hierve una mezcla de estos dos líquidos, el vapor que sale es más rico en alcohol y más pobre en agua que el líquido del que procede, pero no es alcohol puro. Con el fin de concentrar una disolución que contenga un 10%

de alcohol (como la que puede obtenerse por fermentación) para conseguir una disolución que contenga un 50% de alcohol (frecuente en el whisky), el destilado ha de volver a destilarse una o dos veces más, y si se desea alcohol industrial (95%) son necesarias varias destilaciones. Se separan los materiales no deseados productos de la fermentación como alcohol metílico, acetaldehídos y cetonas.

Purificación.- con el uso de carbón activado se procede a la filtración.

Rectificación.- es solo volver a destilar el alcohol para obtener un alcohol al 99%.

## 3.2 Diagrama de Flujo

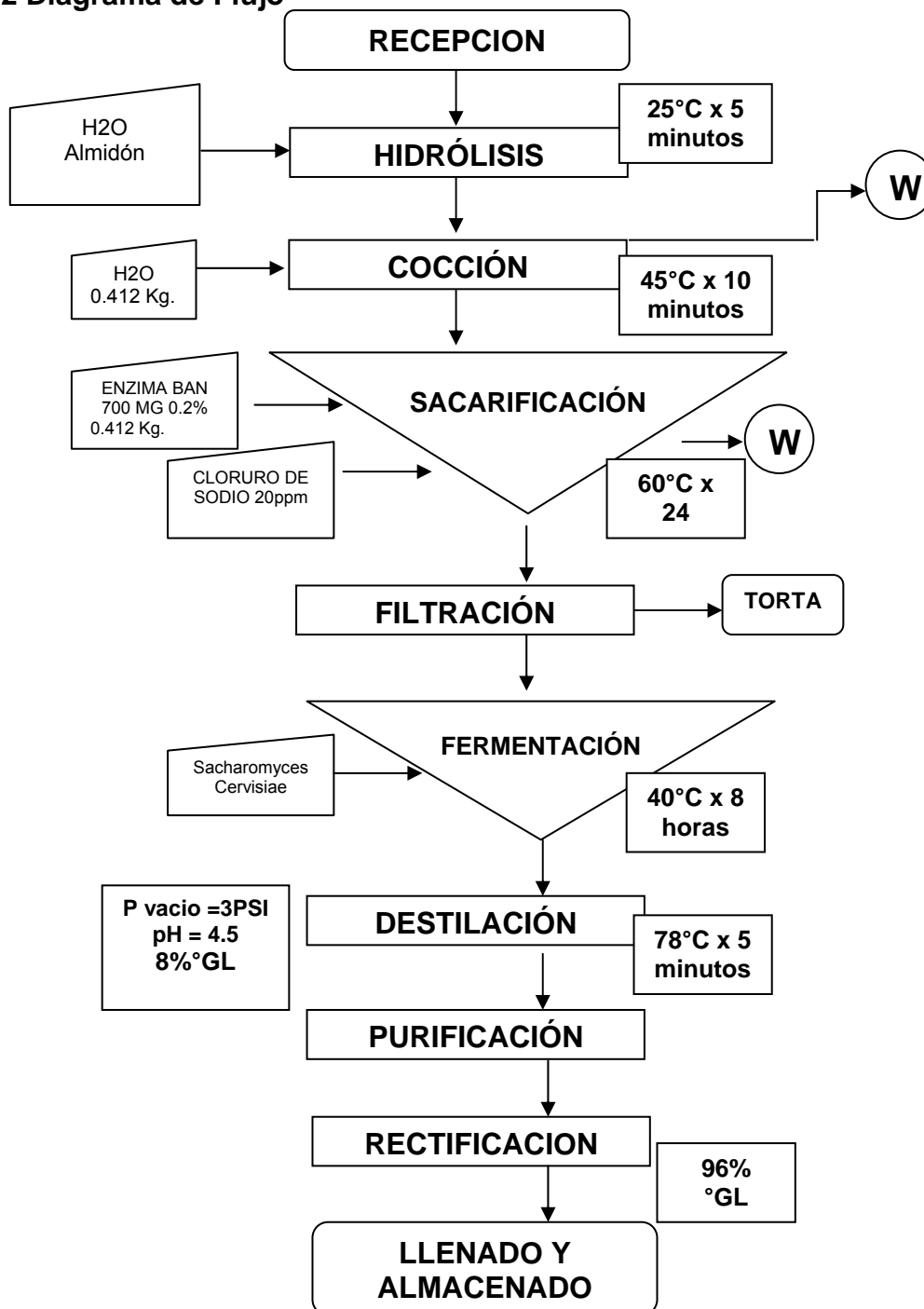


Figura 3.1 Diagrama de Flujo

Fuente: Madeleine Lopatinsky

### 3.3. Descripción de Equipos

Tanque mezclador.- contiene una hélice que es la encargada de realizar la mezcla de componentes. Ver apéndice K

Marmita o Tanque de Cocción.- Es un sistema de calentamiento indirecto muy utilizado en la industria alimentaria, consiste básicamente en una cámara de calentamiento al cual se suministra vapor por medio de una caldera. Ver apéndice L.

Tanque de Estabilización.- Aquí se realiza la adición del cloruro de sodio y de la enzima. Este equipo debe constar de un agitador para la eficiente mezcla y de un filtro de tal forma que se separe la torta del líquido que será fermentado. Ver apéndice M.

Bioreactor.- en este equipo se realiza la fermentación esta sellado herméticamente debido a que aquí se inocula la levadura y se obtiene como resultado alcohol etílico. Contiene una válvula de salida de gases, una válvula de salida de muestra, una válvula de entrada de inóculo y un manómetro. Este equipo debe ser de acero inoxidable. Ver apéndice N y O.



Caldera.- equipo donde se produce la combustión y un intercambiador de calor, donde el agua se calienta. Además tiene que tener un sistema de evacuar los gases procedentes de la combustión. Ver apéndice P.

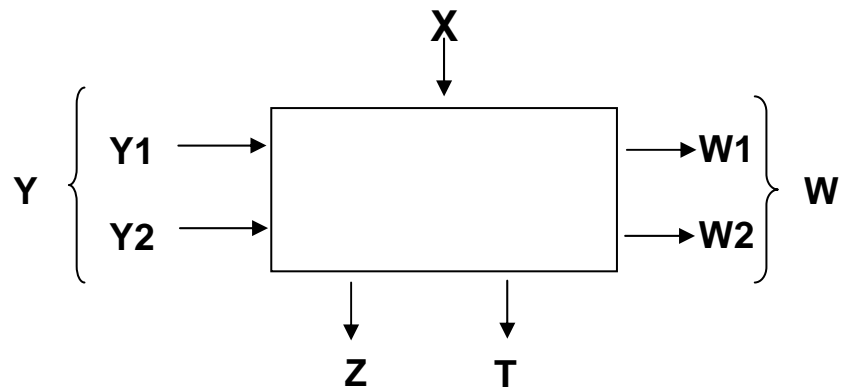
Densímetro y Refractómetro.- se utiliza para determinar concentraciones en mezclas con varios componentes. Es un instrumento de medida combinados, además de la densidad y del índice de refracción, también pueden calcular hasta dos resultados a partir de la densidad, el índice de refracción o ambos valores, utilizando fórmulas o tablas de concentraciones previamente suministradas. Ver apéndice Q.

Destilador.- equipo donde se produce la combustión y un intercambiador de calor, donde el agua se calienta. Además tiene que tener un sistema de evacuar los gases procedentes de la combustión.

Purificador.- equipo donde se produce la combustión y un intercambiador de calor, donde el agua se calienta. Además tiene que tener un sistema de evacuar los gases procedentes de la combustión.

### 3.4 Balance de Materia y Energía

#### 3.4.1. Balance de Agua Pérdida por Evaporación desde la recepción hasta el proceso de filtración



X = almidón (240 gr.)

Y = Y1 + Y2 = H<sub>2</sub>O (572 ml.)

W = W1 + W2 = H<sub>2</sub>O evaporada (?)

Z = Jarabe (250 ml)

T = Torta (62 gr.)

$$X + Y = Z + T + W$$

$$240 + 572 = 250 + W + 62$$

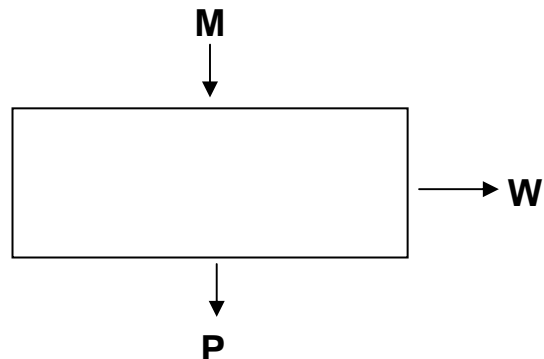
$$W = 500 \text{ ml.}$$

$$\% \text{ H}_2\text{O no evaporada} = ( \text{H}_2\text{O evaporada} / \text{H}_2\text{O} ) * 100$$

$$(500/572) * 100 = 87.74\%$$

$$\% \text{ H}_2\text{O evaporada} = 12.58\%$$

### 3.4.2. Balance de Agua Pérdida por Destilación



M= mosto fermentado (249 ml.)

P = alcohol etílico (24.57 ml)

W = H<sub>2</sub>O evaporada (?)

$$M = P + W$$

$$249 = 24.57 + W$$

$$W = 224.43 \text{ ml.}$$

## 3.5. Cálculos de Ingeniería

### 3.5.1. Estudio técnico en etapa de sacarificación

#### 3.5.1.1. Producción de Azúcares Fermentables

Al romper las cadenas de almidón se producen monosacáridos que serán esenciales para servir de alimento para las levaduras en el proceso de fermentación. A continuación se muestra el

gráfico que relaciona la producción de Grados Brix con respecto al tiempo.

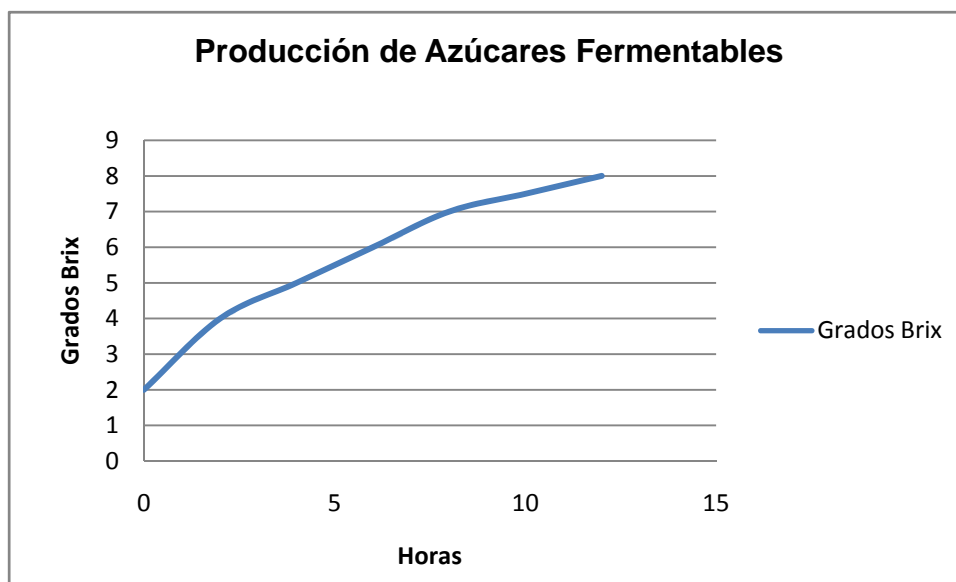


Figura 3.2 Relación Grados Brix vs. Tiempo

Fuente: Madeleine Lopatinsky

### 3.5.1.2. Cantidad añadida de Cloruro de Sodio

El cloruro de sodio sirve como activador de la enzima alfa amilasa debido a su capacidad de volver a las membranas mas permeables. En consecuencia, permite lograr una separación diferencial de unas sustancias frente a otras. Al añadir Cloruro de Sodio en 20 ppm se facilita la acción de la enzima en esta parte del proceso. A continuación los cálculos realizados.

$$20 \text{ ppm} = 0.02 \text{ g}/1000 \text{ g}$$

$$\text{Peso de la muestra} = 912 \text{ g}$$

$$\text{Cantidad de ClNa agregado} = 20 \text{ ppm}$$

$$(912 \text{ g} * 0.02 \text{ g}) / 1000 \text{ g} = 0.018 \text{ g}$$

### 3.5.1.2. Variación de Densidad

En esta etapa existe una variación de densidad debido a que al principio se tenía una solución con mayor viscosidad y luego se obtuvo una solución con menor viscosidad es decir más líquida y fluida. A continuación los valores obtenidos en esta variación.

$$\rho_1 = m/v \quad \rho_1 = 912 \text{ g} / 572 \text{ ml} = 1.59 \text{ g/ml}$$

$$\rho_2 = m/v \quad \rho_2 = 357.46 \text{ g} / 250 \text{ ml} = 1.42 \text{ g/ml}$$

## 3.5.2. Estudio Técnico en Etapa de Fermentación

### 3.5.2.1. Hidratación de Levadura

Para la hidratación de la *Sacharomices Cereviciae* se utilizó el 2% de la cantidad de jarabe obtenido hidrolizada a una temperatura que osciló entre 40-45 °C.

$$\text{Levadura} = (250 * 2) / 100 = 5 \text{ g}$$

### 3.5.2.2. Grado Alcohólico Obtenido

Una vez transcurrido el proceso de fermentación se obtuvieron los siguientes resultados.

Tiempo utilizado = 25 horas

°GL = 8.1

Temperatura = 20 °C

### 3.5.2.3. Producción de Dióxido de Carbono

A medida que transcurren los días de fermentación el dióxido de carbono va ganando espacio en la botella de agua que se encuentra conectada al bioreactor en forma experimental. Por diferencia de pesos se conoce la cantidad de dióxido de carbono producido durante la fermentación.

Peso 1 = envase + agua

Peso 1 = 412.10 + 250 ml

Peso 2 = envase

Peso 2 = 662.73 g

Peso CO<sub>2</sub> = (Peso 2 – Peso 1) = 662.73 - 662.1 = 0.63 gr de CO<sub>2</sub>

### 3.5.2.3. Conteo Microbiológico de Levaduras

Los resultados microbiológicos de conteo de levaduras al día 10mo fueron:

Disolución	10 -- 1	10 – 2	10 -- 3
Número de M.O.	1220	150	10

Fuente: Madeleine Lopatinsky

### 3.5.3. Estudio Técnico en Etapa de Destilación

#### 3.5.3.1. Rendimiento Etánolico

Se aplica la siguiente fórmula tanto para destilación en el laboratorio como para destilación industrial

Rendimiento etánolico = (volumen inicial del mosto \* °GL inicial) / (°GL final \* eficiencia destilación \* 0.9 de fracción etánolica)

RE = (249\*0.081) / (0.96\*0.95\*0.9) = 24.57 ml. de alcohol etílico al 96%

### 3.5.4. Estudio Técnico en Etapa de Purificación

#### 3.5.4.1. Variación de Densidad

En esta etapa existe una variación de densidad debido a que el alcohol ha sido purificado con carbón activado y los sólidos

suspendidos han sido retenidos por el mismo. A continuación los valores obtenidos en esta variación.

$$\rho_1 = m/v \quad \rho_1 = 357.46 \text{ g} / 250 \text{ ml} = 1.42 \text{ g/ml}$$

$$\rho_2 = m/v \quad \rho_2 = 33.43 \text{ g} / 24.57 \text{ ml} = 1.36 \text{ g/ml}$$



En Ecuador existen muy pocas empresas destinadas a la elaboración de biocombustible. SODERAL es una de las más grandes y en Septiembre de 2008 exporto 40000 galones a Estados Unidos.

Producción de Biocombustible En Ecuador			Ingreso por ventas		
Años	mensual	anual	Precio galón (\$)	Total/mes (\$)	Total/año(\$)
2007	25500	306000	7.5	50595	2295000
2008	45000	540000	8	95238	4320000

Fuente: Banco Central del Ecuador

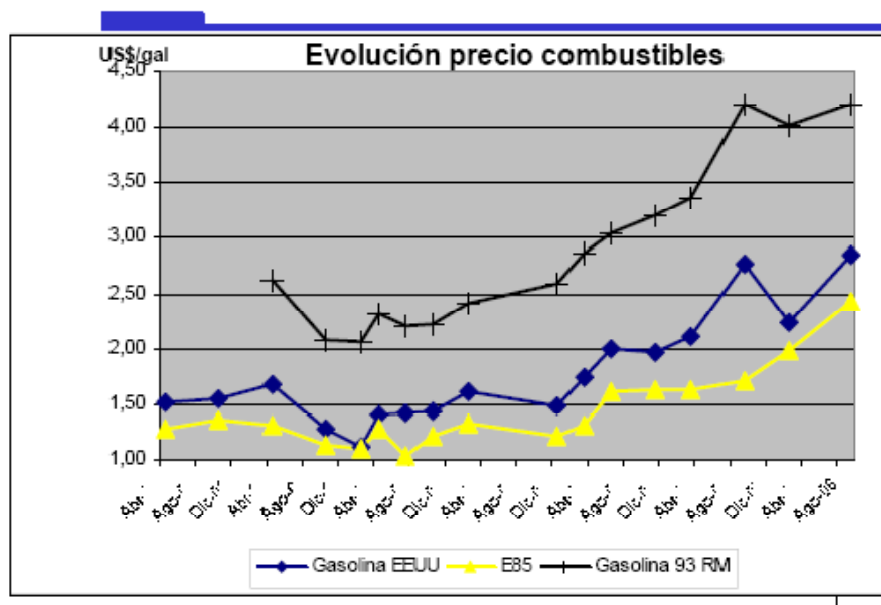


Figura 4.1 Evolución de precio de Biocombustible mezclado hasta agosto de 2006

FUENTE: BANCO CENTRAL DEL ECUADOR

Mensualmente se desean producir 30000 litros de etanol destinados al uso interno.

#### 4.2. Costos de producción

Los costos directos de fabricación mas los costos indirectos de fabricación son necesarios para poder definir los costos de producción del proceso.

Costos de producción	Costo /día	Costo /mes	Costo / año
Materia Prima Directa	2439.21	73176.21024	878114.5229
Mano de Obra Directa	28.4685952	854.0578559	10248.69427
Costos indirectos	18.06	18.06	26.64
Total	2485.7	74048.3	888389.9

Fuente: Madeleine Lopatinsky

##### 4.2.1. Costo de Materia Prima Directa

El costo de cada materia prima se detalla en el siguiente cuadro:

Costos de materia prima directa						
Componentes	Flujo por batch 1000 lts					
	(kg)	(%)	Costo/ Kg (\$)	Costo /día (\$)	Costo /mes(\$)	Costo /año(\$)
Agua	25675.62	65.77	0.001	25.67	770.27	9243.22
Almidón de maíz	12837.81	32.88	0.15	1925.67	57770.15	693241.74
Ban 700 MG	12.83781	0.03	30	385.13	11554.03	138648.35
Cloruro de Sodio	0.77	0.002	0.03	0.0231	0.69	8.32
Levadura	513.51	1.32	0.2	102.70	3081.07	36972.89
<b>Total</b>	<b>39041</b>	<b>100</b>	<b>30.38</b>	<b>2439.21</b>	<b>73176.21</b>	<b>878114.52</b>

Fuente: Madeleine Lopatinsky

#### 4.2.2. Costo de Mano de Obra Directa

El costo de mano de obra se detalla en el siguiente cuadro:

<b>Costos de Mano de Obra directa</b>				
	<b>x Obrero</b>			
<b>Obreros (3)</b>	<i>mensual</i>	<i>anual</i>	<i>mensual</i>	<i>total</i>
salario	200	2400	600	7200
compensaciones	1.82	21.82	5.45	65.45
bono navideño (13vo)	18.18	218.18	54.55	654.55
bono escolar (14vo)	15.38	184.62	46.15	553.85
vacaciones	8.33	100	25	300
fondo de reserva	16.67	200	50	600
aportes patronales	24.30	291.62	72.90	874.85
<b>Total</b>	<b>284.69</b>	<b>3416.2</b>	<b>854.06</b>	<b>10248.6</b>

Fuente: Madeleine Lopatinsky

#### 4.2.3. Costos Indirectos de Fabricación

Son todos los materiales que no interfieren directamente en el proceso de elaboración de etanol.

<b>Costos Indirectos de Fabricación</b>					
<b>Materiales</b>	<b>Cantidad/Batch</b>	<b>Precio (\$)</b>	<b>Costo / día (\$)</b>	<b>Costo / mes (\$)</b>	<b>Costo / año (\$)</b>
<b>Guantes</b>	3	0.5	1.5	1.5	1.5
<b>Mandiles</b>	3	2	6	6	6
<b>Botas</b>	3	3.5	10.5	10.5	10.5
<b>Cofias</b>	3	0.02	0.06	0.72	8.64
<b>Total</b>	<b>12</b>	<b>6.02</b>	<b>18.06</b>	<b>18.72</b>	<b>26.64</b>

Fuente: Madeleine Lopatinsky

### 4.3. Inversiones

Para definir el monto total de la inversión se debe tomar en cuenta a los equipos necesarios para el proceso así como también el costo del terreno.

#### 4.3.1. Costo del terreno

Un terreno de 10000 metros cuadrados construido en la vía a Daule tiene un costo de \$16 dólares americanos por metro cuadrado en la zona industrial. El costo total sería de 160000 dólares americanos.

#### 4.3.2. Costo de Equipos y Maquinaria

A continuación se detallan los precios de los equipos a utilizarse en la elaboración del proceso.

Costo de equipos	costo (\$)	cantidad	costo total (\$)
Marmita cap. 5000 gal.	120000	2	240000
Tanque fermentador de acero inox. cap. 5000 gal.	450000	1	450000
filtro de placas	8250	1	8250
Tanque con agitador de acero inox. cap. 9000 gal.	30000	1	30000
columna destiladora	495000	1	495000
caldera	18000	1	18000
Tanque de acero inox. cap. 4500 gal.	15000	1	15000
tanque de acero inox. cap. 1000 gal	10000	1	10000
<b>total</b>	<b>1146250</b>	<b>9</b>	<b>1266250</b>

Fuente: Madeleine Lopatinsky

<b>Producción de Sólidos Solubles</b>		
<b>Horas</b>	<b>Grados Brix</b>	<b>pH</b>
0	2	5
2	3.5	5
4	4.5	5
6	5	5
8	6	5
10	7	5
12	8	5

Fuente: Madeleine Lopatinsky

### **Proceso de Fermentación**

La variación de grados Brix demuestra que la levadura está realizando procesos metabólicos en los cuales se controlaron los parámetros establecidos.

<b>Variación de Grados Brix</b>				
	<b>Muestras</b>			
<b>Días</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>
1	22.5	20	12.5	8
2	22.5	17.5	10	5
3	22.5	16.5	8	4
4	22.5	15.5	6	3
5	20.5	15	5	2
6	20.5	14.5	4	2
7	20.5	14	3	2
8	20.5	13.8	2	2

Fuente: Madeleine Lopatinsky

### Variación de Densidades

La variación de la densidad demuestra que los procesos metabólicos se están realizando de manera adecuada y que la levadura no ha dejado de actuar.

Variación de Densidad				
	Muestras			
Días	1	2	3	4
1	1.52	1.52	1.52	1.52
2	1.52	1.488	1.5	1.5
3	1.52	1.476	1.48	1.48
4	1.52	1.464	1.46	1.46
5	1.512	1.44	1.44	1.44
6	1.512	1.434	1.432	1.44
7	1.504	1.432	1.424	1.44
8	1.504	1.42984	1.416	1.44

Fuente: Madeleine Lopatinsky

### Producción de CO<sub>2</sub> y su relación con el tiempo

El dióxido producido por las levaduras al consumir los azúcares fermentables fue medido dando un resultado final de 1.67 gramos/250 ml de agua después de los 8 días del proceso fermentativo como muestra el siguiente cuadro.

<b>Variación de CO2</b>		
	<b>Peso (gr)</b>	<b>Producción de CO2 (gr)</b>
<b>Días</b>		
1	662.1	0
2	662.73	0.63
3	662.89	0.79
4	663.02	0.92
5	663.42	1.32
6	663.54	1.44
7	663.71	1.61
8	663.77	1.67

Fuente: Madeleine Lopatinsky

fuentes renovables de energía, a diferencia de otros recursos naturales como el petróleo, carbón y los combustibles nucleares. Aunque se puede hablar de muchos tipos de biocombustible, por su importancia, aplicación y volumen de producción, básicamente hay dos: el bioetanol y el biodiesel. Se cree que pueden sustituir a los combustibles fósiles más tradicionales, en virtud de su bajo o nulo deterioro ambiental y sus características de renovación.

- El costo de producción de un litro de alcohol etílico al 96% es de 2.48 dólares americanos debido a que este proceso de elaboración parte con almidón como materia prima, los costos de producción se reducirían considerablemente si se partiera de maíz.
- Para que los resultados del proceso se den de forma adecuada se debe controlar las temperaturas ya pre-establecida ya que si existe variación de este parámetro, la enzima y la levadura no actuarán con la capacidad deseada.
- Los resultados obtenidos experimentalmente en este proyecto se pueden llevar a procesos a gran escala y servirán como guía para la creación de una planta de biocombustible.



## **RECOMENDACIONES**

- Se recomienda usar buenas prácticas de manufactura durante todo el proceso para así poder evitar cualquier tipo de contaminación que pudiera llevar a una pérdida parcial o total de la producción diaria.
- Las Materias Primas deben ser almacenadas en condiciones apropiadas que aseguren la protección contra contaminantes. El depósito debe estar alejado de los productos terminados, para impedir la contaminación cruzada. Además, deben tenerse en cuentas las condiciones óptimas de almacenamiento como temperatura, humedad, ventilación e iluminación
- Para abaratar costos se debería empezar con maíz como materia prima y el proceso empezaría con la etapa de molienda en la cual se desintegra la proteína que, a su vez, es responsable de la retención del almidón y la eliminación de productos solubles indeseables que interfieren con la separación.
- Se debe recordar que los biocombustibles se encuentran en un estado de desarrollo tecnológico aún muy joven. Esto nos indica que en un corto o mediano plazo abra una reducción significativa

de los costos de producción debido a la optimización materias primas y mejor uso de los productos residuales.

- Mantener las condiciones de asepsia durante todo el proceso debido a que se puede dar una contaminación y tanto el proceso de sacarificación como el de fermentación podrían verse seriamente afectados.
- Una de las formas para disminuir los costos de inversión inicial es comprando equipos usados y en buen estado.

# **Apéndices**

## APÉNDICE A

### Propiedades Nutricionales

#### Composición de Maíz por cada 100 gr.

Materia Seca	88 g
Proteína	0.90 g
Grasa	3.50 g
Fibra	2.90 g
Calcio	0.01 g
Fósforo	0.25 g
Cenizas	1.50 g
Caróteno	1.00 mg/Kg
Vitamina A	2.20 mg/Kg
Thiamina	3.70 mg/Kg
Vitamina E	22.00 mg/Kg
Rizoflamina	1.10 mg/Kg
Acido Paritolenico	5.70 mg/Kg
Biotina	80.00 mg/Kg
Acido Flórico	375.00 mg/Kg
Niacina	21.50 mg/Kg
Sodio	0.03 g
Potasio	0.33 g
Magnesio	0.15 g
Azufre	0.12 g
Manganeso	4.10 p.p.m.
Hierro	35.00 p.p.m.
Cobre	3.40 p.p.m.
Zinc	10.40 p.p.m.
Selenio	0.04 p.p.m.

Fuente: Feedstuffs Ingredient Analysis

## APÉNDICE B

### Producción de Maíz por Provincias

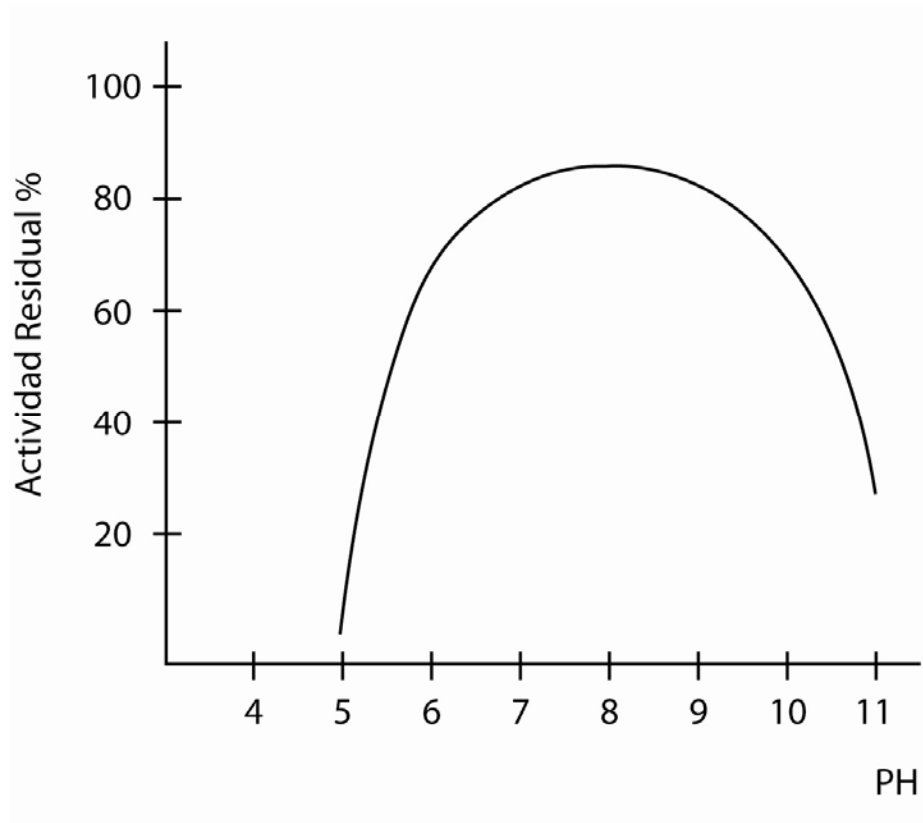
<b>VERANO</b>				
<b>Provincia</b>	<b>Área Sembrada (HAS.)</b>	<b>Área Perdida (HAS.)</b>	<b>Área Cosechada (HAS.)</b>	<b>Rendimiento Estimado (T.M.)</b>
Guayas	5.500	0	5.500	3,31
Los Ríos	13.066	0	13.066	3.31
Manabí	2.175	0	2.175	2.27
Loja	9.050	1.100	7.950	4.68
Otras	3.500	0	3.500	2.50
<b>Total</b>	<b>33.291</b>	<b>1.100</b>	<b>32.191</b>	<b>3.49</b>
<b>INVIERNO</b>				
<b>Provincia</b>	<b>Área Sembrada (HAS.)</b>	<b>Área Perdida (HAS.)</b>	<b>Área Cosechada (HAS.)</b>	<b>Rendimiento Estimado (T.M.)</b>
Guayas	47.078	385	46.693	3.05
Los Ríos	92.619	271	92.348	2.95
Manabí	63.224	25.776	37.448	2.27
Loja	18.834	565	18.269	2.90
Otras	22.500	0	22.500	2.50
<b>Total</b>	<b>244.255</b>	<b>26.997</b>	<b>217.258</b>	<b>2.80</b>

Fuente: Ministerio de Agricultura y Ganadería

Elaboración: Ing. Agr. Roosevelt Idrovo Dominguez

## APÉNDICE C

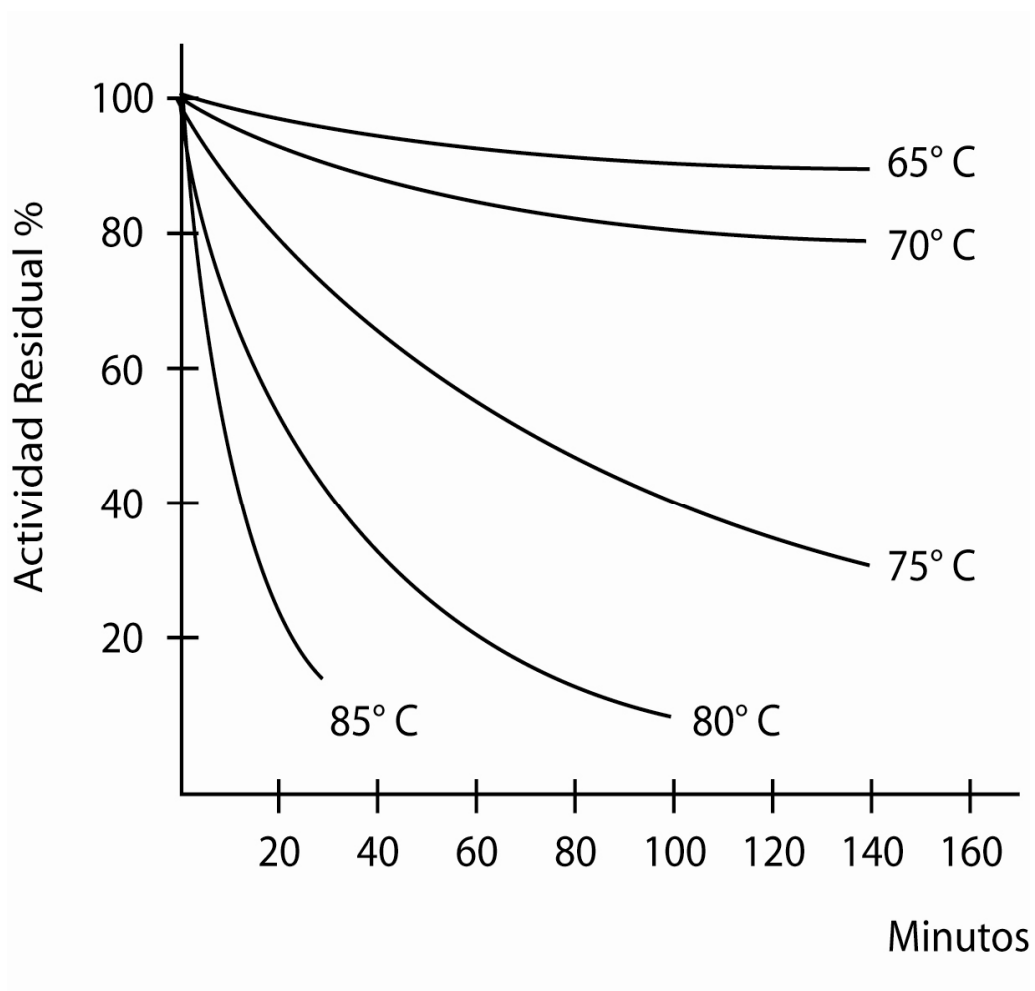
Actividad de la Enzima con Respeto al pH



Fuente: Granotec S.A.

## APÉNDICE D

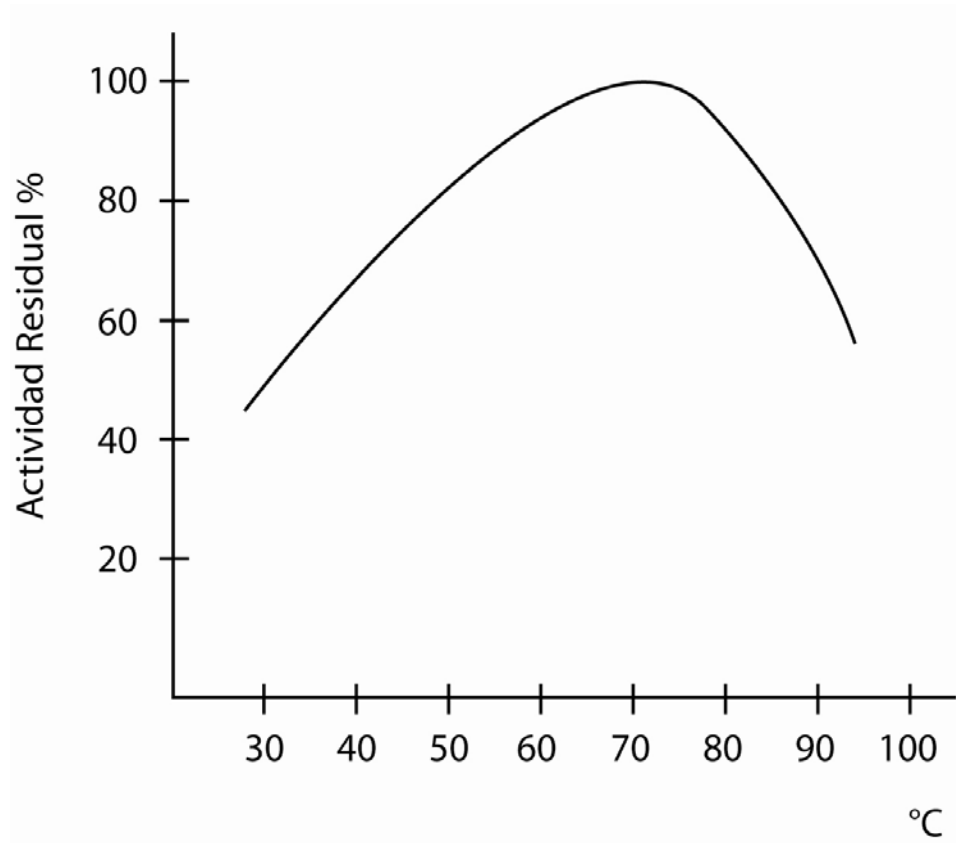
Actividad de la Enzima en relación con el tiempo y la temperatura



Fuente: Granotec S.A.

## APÉNDICE E

### Actividad de la Enzima con Respeto a la Temperatura

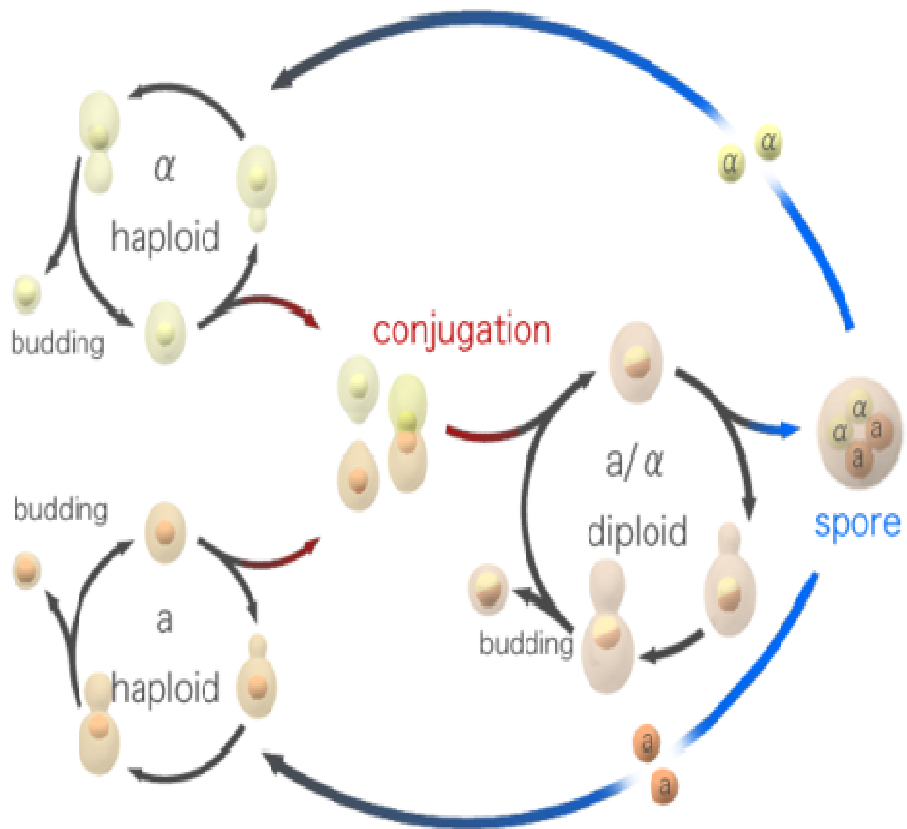


Fuente: Granotec S.A.



## APÉNDICE F

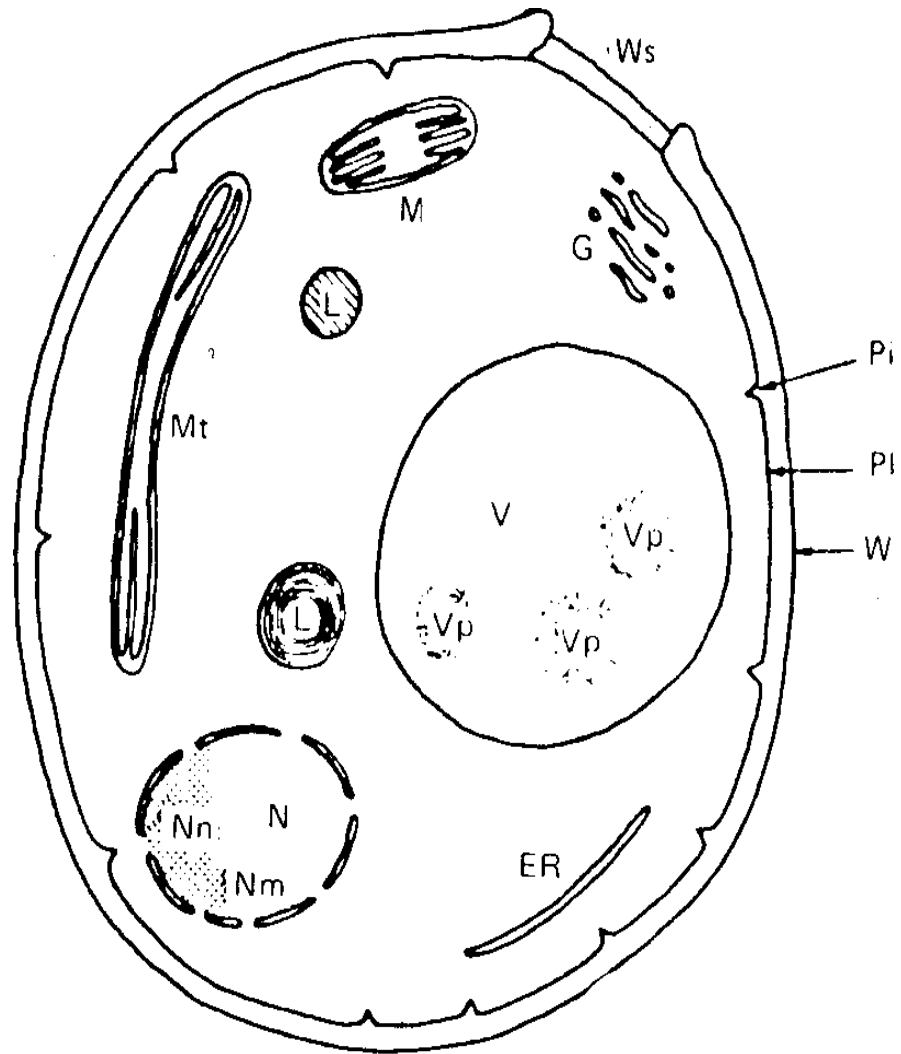
### Ciclo Vital de las Levaduras



Fuente: Levaduras y sus aplicaciones

## APÉNDICE G

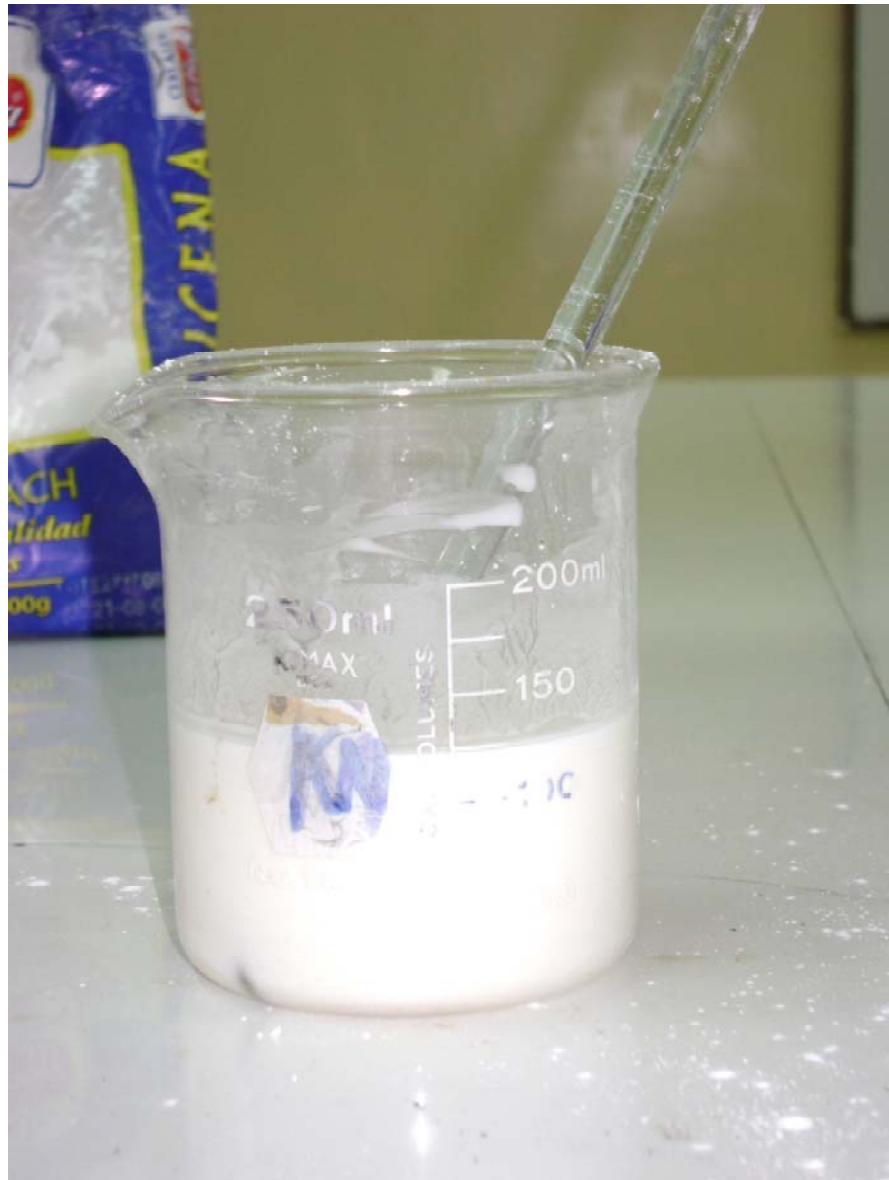
Diagrama de una Levadura



Fuente: Levaduras y sus aplicaciones

## APÉNDICE H

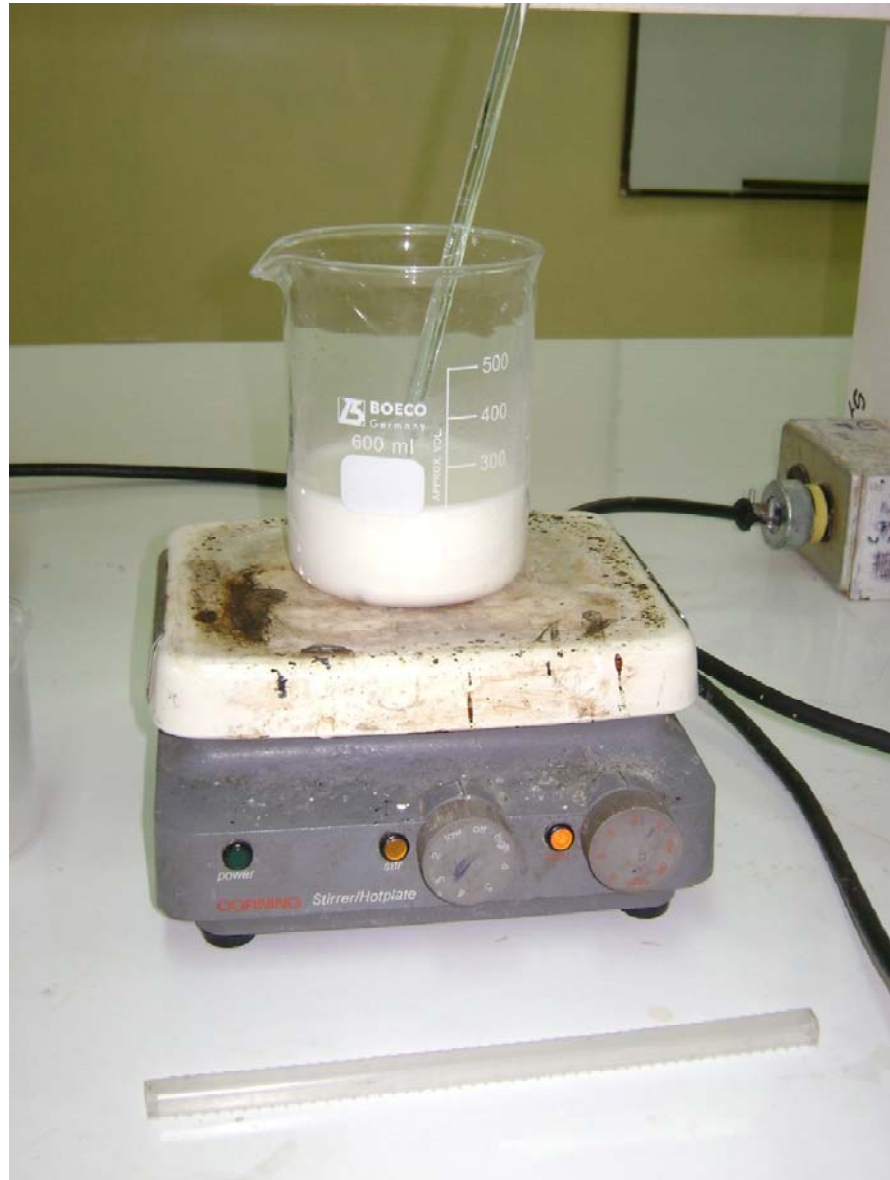
Muestra en Proceso de Sacarificación (almidón hidrolizado)



Fuente: Madeleine Lopatinsky

## APÉNDICE I

### Muestra en Proceso de Sacarificación



Fuente: Madeleine Lopatinsky

## APÉNDICE J

### Bioreactor usado Experimentalmente



Fuente: Madeleine Lopatinsky

**APÉNDICE K**  
**Tanque Mezclador**



Fuente: Biotecnología de Alimentos

## APÉNDICE L

### Marmita



Fuente: Biotecnología de Alimentos



## APÉNDICE M

### Tanque de Estabilización



Fuente: Biotecnología de Alimentos



## APÉNDICE N

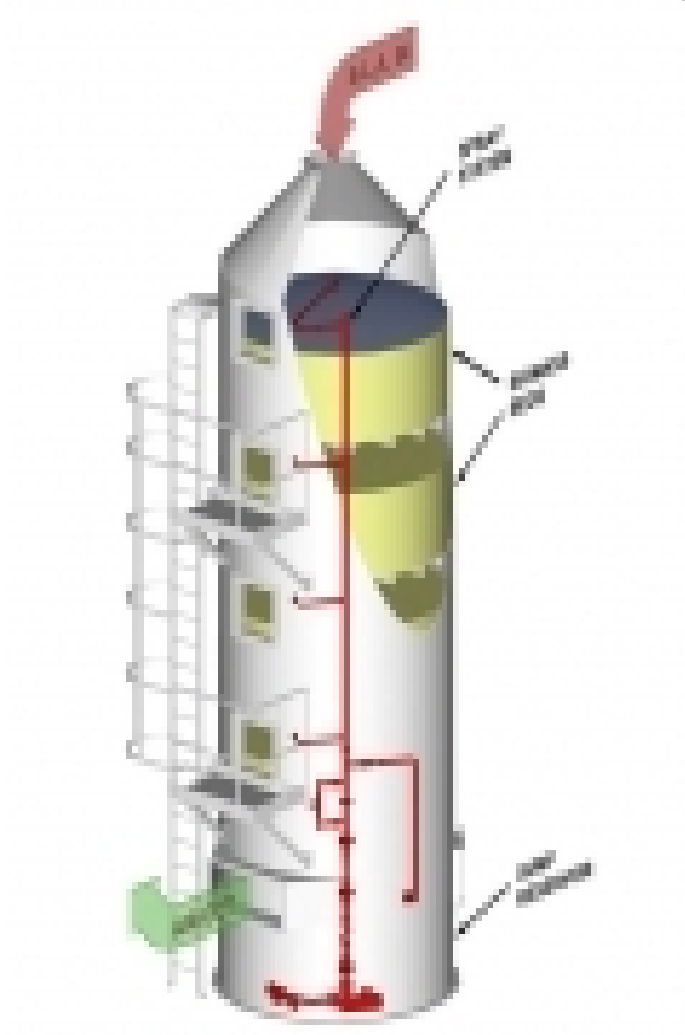
### Bioreactor



Fuente: Biotecnología de Alimentos

## APÉNDICE O

### Bioreactor



Fuente: Biotecnología de Alimentos

## APÉNDICE P

### Caldera



Fuente: Biotecnología de Alimentos

## APÉNDICE Q

### Densímetro y Refractómetro



Fuente: Biotecnología de Alimentos

## **BIBLIOGRAFIA**

1. Wiseman A, Manual de Biotecnologías de las Enzimas. Editorial Acribia, 1998, España.
2. Miralbes C, Enzimas de Panadería, Editorial Acribia, 2008, España.
3. Benduhn T., Ethanol and Other New Fuels. The Energy for Today, paperback, 2008, Inglaterra.
4. Laine J., Biofuels in the energetic and food crisis, Interciencia, 2008, Inglaterra.

### **Links de internet**

1. [www.tecno-point.com/es/b1/13857/biotecnologia-de-la-cerveza-y-la-malta.html](http://www.tecno-point.com/es/b1/13857/biotecnologia-de-la-cerveza-y-la-malta.html)
2. [es.wikipedia.org/wiki/Biocombustible](http://es.wikipedia.org/wiki/Biocombustible)
3. [www.elcomercio.com/noticiaEC.asp?id\\_noticia=144840&id\\_seccion=8](http://www.elcomercio.com/noticiaEC.asp?id_noticia=144840&id_seccion=8)
4. [es.wikipedia.org/wiki/Alcohol\\_etílico](http://es.wikipedia.org/wiki/Alcohol_etílico)
5. [es.wikipedia.org/wiki/Levadura](http://es.wikipedia.org/wiki/Levadura)
6. [es.wikipedia.org/wiki/Fermentación\\_alcohólica](http://es.wikipedia.org/wiki/Fermentación_alcohólica)
7. [es.wikipedia.org/wiki/Alcohol](http://es.wikipedia.org/wiki/Alcohol)