

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

**Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la
Producción**

“Diseño del proceso de maceración con alternativas amiláceas para su uso
en la industria de bebidas alcohólicas”

PROYECTO INTEGRADOR

Previo la obtención del Título de:

INGENIERA EN ALIMENTOS

Presentado por:

Maricielo Landires Solis
Jannia Alexandra Malavé Flores

GUAYAQUIL – ECUADOR

Año: 2019

DEDICATORIA

A mi mamá, por su amor, confianza, esfuerzo, paciencia y apoyo incondicional.

A todas esas personas especiales que me han apoyado, aconsejado, alentado y acompañado en esta etapa.

Maricielo Landires Solis

A mis padres, quienes han sido mi mayor apoyo a lo largo de mi carrera universitaria y me motivan y aconsejan para seguir creciendo como persona. A mis amigos que siempre creyeron en las cosas que soy capaz de conseguir.

Jannia A. Malavé Flores

AGRADECIMIENTOS

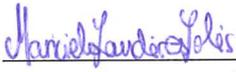
Nuestro más sincero agradecimiento al Ing. Luis Mendoza y a la Ing. Tatiana, quienes nos dieron el soporte técnico necesario para poder realizar este proyecto. Así mismo, agradecemos al PhD. Sócrates Palacios por el apoyo brindado y a nuestros padres por el soporte y disponibilidad en todo momento.

Maricielo Landires Solis

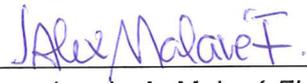
Jannia A. Malavé Flores

DECLARACIÓN EXPRESA

"Los derechos de titularidad y explotación, nos corresponden conforme al reglamento de propiedad intelectual de la institución; *Maricielo Landires Solis* y *Jannia Alexandra Malavé Flores* y damos nuestro consentimiento para que la ESPOL realice la comunicación pública de la obra por cualquier medio con el fin de promover la consulta, difusión y uso público de la producción intelectual"



Maricielo Landires Solis

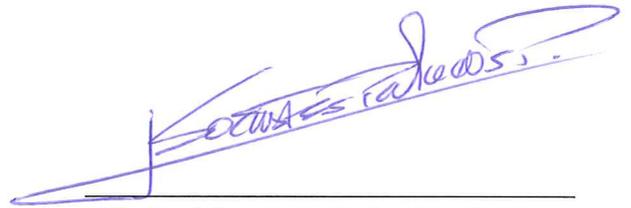


Jannia A. Malavé Flores

EVALUADORES

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'HTorresCamba', written in a cursive style.

M.Sc. Haydée Torres Camba
PROFESOR DE LA MATERIA

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Sócrates Palacios Ponce', written in a cursive style.

Ph.D. Sócrates Palacios Ponce
PROFESOR TUTOR

RESUMEN

La industria cervecera nacional utiliza cebada malteada como principal materia prima en sus procesos para la obtención de bebidas alcohólicas, dicha materia prima se importa, generando salida de divisas y mayor inversión para la industria del país. Es por esto que actualmente ciertas empresas buscan alternativas de materias primas con características amiláceas similares a la malta de cebada, que se puedan incorporar en el proceso para obtener bebidas tipo cerveza, o potenciar a su vez el mercado de bebidas alcohólicas con nuevos productos. Debido a esto, el presente trabajo busca diseñar un proceso de maceración con alternativas amiláceas para su uso en la industria de bebidas alcohólicas. Para lograr dicho objetivo, se establecieron condiciones de trabajo a nivel de laboratorio con la ayuda de una revisión bibliográfica, además del planteamiento de un diseño factorial para evaluar el contenido de alcohol de las muestras. Finalmente, se estableció el diagrama de flujo del proceso de maceración en función de los resultados obtenidos y se estimaron los costos para el mismo en tres distintos escenarios.

Palabras Clave: Materiales amiláceos, enzimas comerciales, maceración, alcohol.

ABSTRACT

The local beer industry uses malted barley as the main raw material to obtain alcoholic beverages, such raw material is imported what generates a currency outflow and greater investment for the local industry. That is why some companies are currently looking for alternatives to raw materials with similar characteristics to malted barley, which can be incorporated into the process to obtain beer-type beverages or to strengthen the alcoholic beverages market with new products. Due to this, the present work aims to design a maceration process with starchy alternatives for use in the alcoholic beverage industry. To achieve this objective, working conditions were established at laboratory scale based on literature review, as well as the approach of a factorial design to evaluate the alcohol content of the samples. Finally, the flowchart of the maceration process was established based on the results obtained, and the costs for three different scenarios were estimated.

Keywords: *Starchy materials, commercial enzymes, maceration, alcohol.*

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	I
ABSTRACT	II
ÍNDICE GENERAL	III
ABREVIATURAS	V
SIMBOLOGÍA	VI
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
ÍNDICE DE TABLAS.....	VIII
CAPÍTULO 1.....	1
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Descripción del problema	1
1.2. Justificación del problema	1
1.3. Objetivos.....	2
1.3.1. Objetivo General	2
1.3.2. Objetivos Específicos.....	2
1.4. Marco teórico.....	2
1.4.1. Materia prima	2
1.4.2. Proceso.....	4
1.4.3. Productos de la maceración.....	8
CAPÍTULO 2.....	9
2. METODOLOGÍA	9
2.1. Caracterización de las materias primas.....	9
2.2. Distribución del tamaño de partícula	10
2.3. Hidrólisis enzimática de sustratos amiláceos	11
2.3.1. Hidrólisis enzimática de sustratos con Termamyl SC DS	11
2.3.2. Hidrólisis enzimática de sustratos con complejo enzimático	12
2.4. Determinación del contenido de alcohol	13
2.5. Diseño de experimentos	13
2.6. Estimación de costos.....	14
CAPÍTULO 3.....	16
3. RESULTADOS Y ANÁLISIS	16
3.1. Caracterización de las materias primas.....	16

3.2. Distribución del tamaño de partícula	17
3.3. Hidrólisis enzimática de sustratos amiláceos	20
3.3.1. Hidrólisis enzimática de sustratos con Termamyl SC DS	20
3.3.2. Hidrólisis enzimática de sustratos con complejo enzimático	23
3.4. Determinación del contenido de alcohol	25
3.5. Diseño de Experimentos	27
3.6. Estimación de costos.....	33
CAPÍTULO 4.....	36
4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	36
4.1. Conclusiones.....	36
4.2. Recomendaciones.....	36
BIBLIOGRAFÍA	
APÉNDICES	

ABREVIATURAS

INEC	Instituto Nacional de Estadística y Censos
FAO	Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación
ESPAC	Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua
MAG	Ministerio de Agricultura y Ganadería
SIPA	Sistema de Información Pública Agropecuaria
AOAC	Association of Official Analytical Chemists
ISO	International Standard Organization
ANOVA	Análisis de Varianza
PC	Punto de Control
PCC	Punto Crítico de Control
EBC	European Brewing Convention
UMB	Unidad de Medida Base
MOD	Mano de Obra Directa
EE	Energía Eléctrica
PROTAL	Profesionalismo Técnico de Análisis de Laboratorio

SIMBOLOGÍA

%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
ton	Toneladas
ha	Hectárea
D-	Dextrogiro
α	Alfa
β	Beta
g	Gramos
kg	Kilogramo
pH	Potencial de hidrógeno
Mcal	Megacaloría
rpm	Revoluciones por minuto
mm	Milímetro
N°	Número
H ₀	Hipótesis nula
H ₁	Hipótesis alterna
ml	Mililitro
±	Más menos
μm	Micrómetro
t	Tiempo
T	Temperatura
Φ	Diámetro
≤	Menor o igual a
min	Minuto
°	Grados
h	Hora
hl	Hectolitro
l	Litro
\$	Dólar
m ³	Metro cúbico
kW-h	Kilovatios/hora

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 Proceso general de elaboración industrial de cerveza	5
Figura 1.2 Estructura química de la amilosa.....	6
Figura 1.3 Estructura química de la amilopectina	6
Figura 2.1 Esquema del área de cocimiento	15
Figura 3.1 Muestra de quinua.....	16
Figura 3.2 Muestra de arroz	16
Figura 3.3 Molienda de las muestras.....	17
Figura 3.4 Tamizado de las muestras.....	17
Figura 3.5 Distribución del tamaño de partícula del arroz.....	18
Figura 3.6 Porcentaje de acumulados cernidos y retenidos de la muestra de arroz	19
Figura 3.7 Distribución del tamaño de partícula de la quinua	20
Figura 3.8 Porcentaje de acumulados cernidos y retenidos de la muestra de quinua ...	20
Figura 3.9 Curva de maceración con la enzima Termamyl SC DS.....	21
Figura 3.10 Mosto con enzima Termamyl SC DS.....	21
Figura 3.11 Filtración de mostos	22
Figura 3.12 Concentración de azúcares con Termamyl SC DS	22
Figura 3.13 Curva de maceración con el complejo enzimático.....	23
Figura 3.14 Mosto con enzimas del complejo enzimático.....	24
Figura 3.15 Concentración de azúcares con el complejo enzimático	24
Figura 3.16 Muestras fermentadas en Alcoalyzer	26
Figura 3.17 Contenido de alcohol con la enzima Termamyl SC DS	26
Figura 3.18 Contenido de alcohol con enzimas del complejo enzimático.....	27
Figura 3.19 Gráficas de residuos para el porcentaje de alcohol de las muestras.....	28
Figura 3.20 Gráfica normal de efectos estandarizados	28
Figura 3.21 Diagrama de Pareto de efectos estandarizados.....	29
Figura 3.22 Análisis de varianza del diseño factorial.....	29
Figura 3.23 Resumen del modelo.....	30
Figura 3.24 Niveles no codificados y Coeficientes codificados.....	30
Figura 3.25 Diagrama de flujo del proceso básico.....	32

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Materia prima.....	2
Tabla 1.2 Enzimas de interés en alimentos	4
Tabla 1.3 Enzimas comerciales empleadas en el presente proyecto	7
Tabla 2.1 Parámetros y metodología empleada	10
Tabla 2.2 Sistema de mallas del clasificador “Bühler Universal”	10
Tabla 2.3 Matriz de experimentos	14
Tabla 2.4 Condiciones operativas de los tanques	15
Tabla 3.1 Cuantificación proximal.....	17
Tabla 3.2 Composición granulométrica del arroz molido	18
Tabla 3.3 Composición granulométrica de la quinua molida	19
Tabla 3.4 Balance de materia.....	33
Tabla 3.5 Costos de materia prima.....	33
Tabla 3.6 Costos de mano de obra directa.....	34
Tabla 3.7 Costo de producción para una capacidad de 250 hl.....	34
Tabla 3.8 Costo de producción para una capacidad de 416 hl.....	35
Tabla 3.9 Costo de producción para una capacidad de 666 hl.....	35

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Descripción del problema

En el Ecuador, más de 900.000 ecuatorianos consumen alcohol, los hombres en un 89,7% y las mujeres un 10,3% (INEC, 2013). La Organización Mundial de la Salud, informó en mayo de 2014 que en América Latina la bebida alcohólica más consumida es la cerveza (53%), como consecuencia nuestro país está ubicada en la lista de las naciones que más alcohol consume, reflejando el valor de 7,2 litros per cápita por año (El Universo, 2014).

La cerveza consumida en nuestro país generalmente contiene cebada malteada, debido a esto, la empresa patrocinadora pretende desarrollar una nueva bebida alcohólica en la que no se emplee la malta como ingrediente principal, para ello, busca transformar el almidón presente, proveniente de otros materiales amiláceos, en azúcares fermentables a través del uso de enzimas comerciales, requiriendo así, una nueva metodología en dicha etapa del proceso de elaboración de cerveza.

1.2. Justificación del problema

Los pretratamientos, como los procesos de maceración, que involucran el uso o no de enzimas comerciales en la elaboración de bebidas fermentadas, han sido ligeramente explorados a nivel artesanal e industrial en el Ecuador, lo que ha provocado en la actualidad una dependencia de materias primas importadas para la elaboración de dichas bebidas a nivel de industrias.

Es por ello que el presente proyecto tiene como propósito evaluar el uso de materiales amiláceos endógenos, que sirvan como sustitutos de la malta (cebada malteada), ingrediente principal en la elaboración de bebidas alcohólicas fermentadas, con el fin de otorgar una alternativa de materia prima local y con ello mitigar la dependencia de materiales importados y promover a la vez el desarrollo social y económico del sector agrícola del país.

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo General

Diseñar el proceso de maceración con alternativas amiláceas mediante el uso de enzimas comerciales para la industria cervecera.

1.3.2. Objetivos Específicos

1. Proponer la sustitución de malta por materiales amiláceos para su aplicación en la industria cervecera.
2. Estandarizar el proceso de maceración de los materiales amiláceos, aplicando enzimas de tipo comercial.
3. Estimar los costos del proceso de maceración a escala semi industrial para su aplicación en la industria cervecera.

1.4. Marco teórico

1.4.1. Materia prima

Las principales materias primas para la elaboración de la cerveza, de manera tradicional, son la cebada malteada, el lúpulo y agua. Sin embargo, existe la posibilidad de sustituir el uso de cebada por otros materiales amiláceos, que serán hidrolizados mediante el uso de enzimas comerciales, debido a que su contribución en porcentaje de almidón se asemeja a la cebada (Tabla 1.1). A continuación, se detalla brevemente el aporte tecnológico de cada ingrediente en el proceso de elaboración de una bebida fermentada tipo cerveza.

Tabla 1.1 Materia prima

Sustratos	% almidón	Referencias
Cebada	69-73	(Novozymes, 2013)
Arroz	84-88	(Novozymes, 2013)
Quinoa	52-69	(Maradini Filho et al., 2017)

Fuente: Elaboración propia

Arroz

El arroz (*Oryza sativa* L.) constituye un elemento esencial en la dieta de la población, proporcionando el 20% de la energía obtenida a través de alimentos a nivel mundial (FAO, 2004). Su temperatura de gelatinización está entre 68 – 84

°C y su contenido de almidón es alto, en el rango entre 84 – 88% (Novozymes, 2013). El Ecuador registró una producción de 1441 millones de toneladas, con un rendimiento promedio de 5,03 ton/ha, para el año 2017 (INEC, ESPAC, & MAG, 2018).

Quinua

La quinua (*Chenopodium quinua*, Wild.) es un pseudocereal, autóctono de la región andina, con un alto potencial nutricional y diversidad agronómica. Es elemental en la dieta de la población ecuatoriana y su significancia recae en los ingresos que genera, debido a su gran demanda a nivel mundial. Su rendimiento objetivo promedio fue de 1,36 toneladas en el año 2016, colocándolo dentro de los principales cultivos del Ecuador (MAG - SIPA, 2017).

Es una materia prima almidonada con alto contenido de carbohidratos, constituidos principalmente por almidón y azúcares. Su mayor aporte nutricional proviene de la calidad de su contenido proteico, así como también de la fibra, vitaminas del complejo B, E y C y minerales. Presenta aproximadamente 3% de azúcares simples, mayormente maltosa, seguido de D-galactosa, D-ribosa, fructosa y glucosa, y entre 52% y 69% de almidón, el que se gelatiniza a una temperatura entre 62,6 °C y 67 °C, menor que la del almidón de malta y el de arroz (Maradini Filho et al., 2017).

Enzimas

Las enzimas son proteínas que actúan como catalizadores biológicos, aceleran las reacciones químicas y generalmente presentan un alto grado de especificidad (Nelson & Cox, 2007). Se clasifican según la reacción que catalizan (Tabla 1.2), encontrándose las oxidoreductasas, transferasas, hidrolasas, liasas, isomerasas y ligasas. Para el caso particular de materiales amiláceos, las hidrolasas y transferasas son necesarias.

Tabla 1.2 Enzimas de interés en alimentos (Badui Dergal, 2016)

Grupo	Nombre común	Sustrato
<i>Oxidorreductasas</i>	Glucosa oxidasa Catecol oxidasa Catalasa Lipoxigenasa	D-glucosa y oxígeno Catecol y oxígeno Peróxido de hidrógeno Ácidos grasos poliinsaturados
<i>Transferasas</i>	Amilosacarasa Dextrantransferasa Levansacarasa Ciclomaltodextrin Glucosiltransferasa	Sacarosa Sacarosa Sacarosa Almidón
<i>Hidrolasas</i>	Lipasa Pectinesterasa α -amilasa β -amilasa Amiloglucosidasa Endoglucanasa (Celulasa) β -glucanasa Poligalacturonasa Invertasa Pululanasa Subtilisina Papaína Bromelina Renina	Acilglicéridos Pectina esterificada Almidón Almidón Glucos oligosacáridos con enlaces α -(1-4) o α -(1-6) Celulosa Glucanos con enlaces β -(1-4) o β -(1-3) Pectatos Sacarosa Glucos oligosacáridos con enlaces α -(1-6) Proteínas Proteínas Proteínas Caseína
<i>Liasas</i>	Pectato liasa Pectina liasa	Pectatos Pectinas esterificadas
<i>Isomerasas</i>	Glucosa (xilosa) isomerasa	Glucosa (xilosa)

1.4.2. Proceso

El proceso que siguen las industrias cerveceras para elaborar los distintos tipos de cervezas se basa principalmente en moler los granos, seguido de una maceración, con el fin de activar las enzimas propias de la malta para convertir el almidón presente en azúcares fermentables, el producto resultante de esta reacción contiene una parte líquida conocida como mosto, el cual es hervido mientras se añade el lúpulo. Y, una vez concluido el hervor, se enfría y se filtra para añadir la levadura que permitirá la etapa de fermentación, seguido de una segunda filtración y finalmente almacenar la cerveza para su maduración.

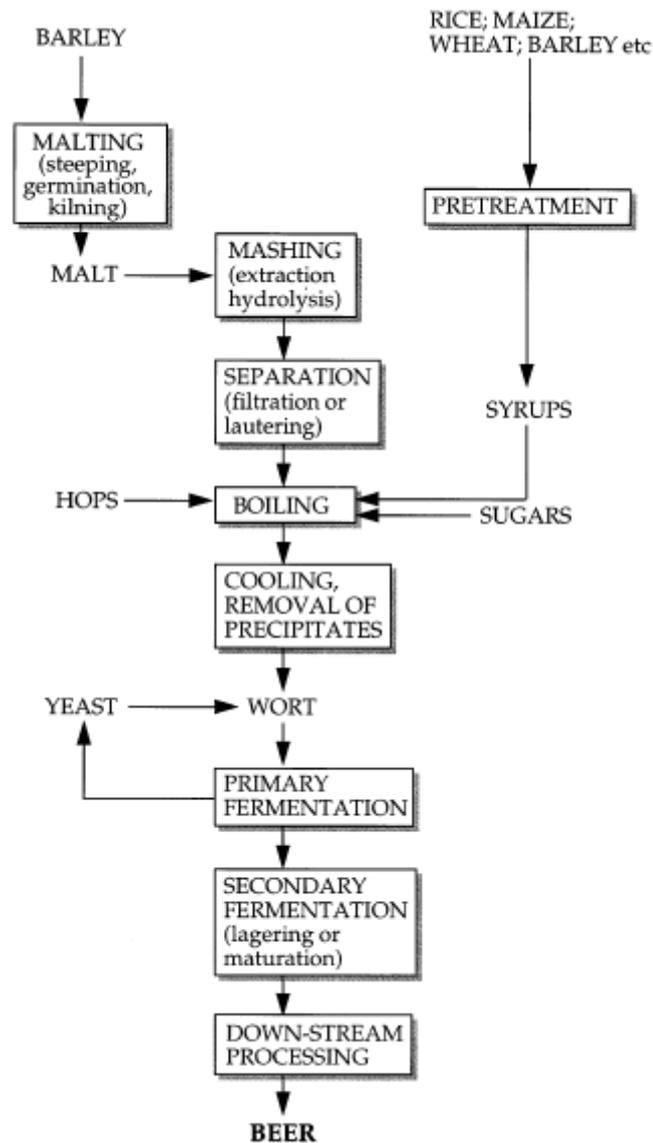


Figura 1.1 Proceso general de elaboración industrial de cerveza (Linko, Haikara, Ritala, & Penttilä, 1998)

Maceración

Esta etapa se fundamenta en una hidrólisis enzimática, donde se produce la ruptura de los enlaces que forman la estructura del almidón, obteniéndose dextrinas reductoras como productos. Cabe destacar que la hidrólisis comprende tres fases continuas: la gelatinización del almidón, licuefacción o dextrinización, y sacarificación (Chaplin, 2014).

Las fases mencionadas se detallan brevemente a continuación:

Gelatinización

El almidón es un polisacárido que está químicamente compuesto por dos polisacáridos con estructuras similares, la amilosa y la amilopectina (Badui Dergal, 2016). La amilosa es un polímero no ramificado cuyas cadenas están unidas mediante enlaces glucosídicos $\alpha(1,4)$, mientras que la amilopectina presenta una estructura altamente ramificada, y sus cadenas están formadas por enlaces α -D-(1,6) incorporadas a unidades lineales de glucanos (Cornejo et al., 2018). Las Figuras 1.2 y 1.3 muestran la estructura química de la amilosa y la amilopectina, respectivamente.

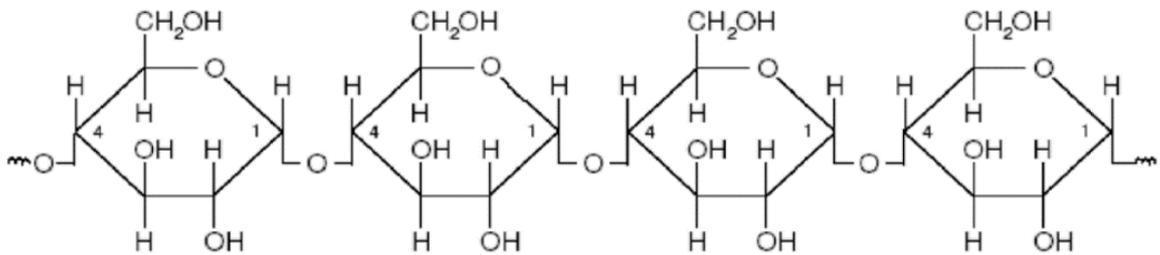


Figura 1.2 Estructura química de la amilosa (Meneses, Corrales, & Valencia, 2007)

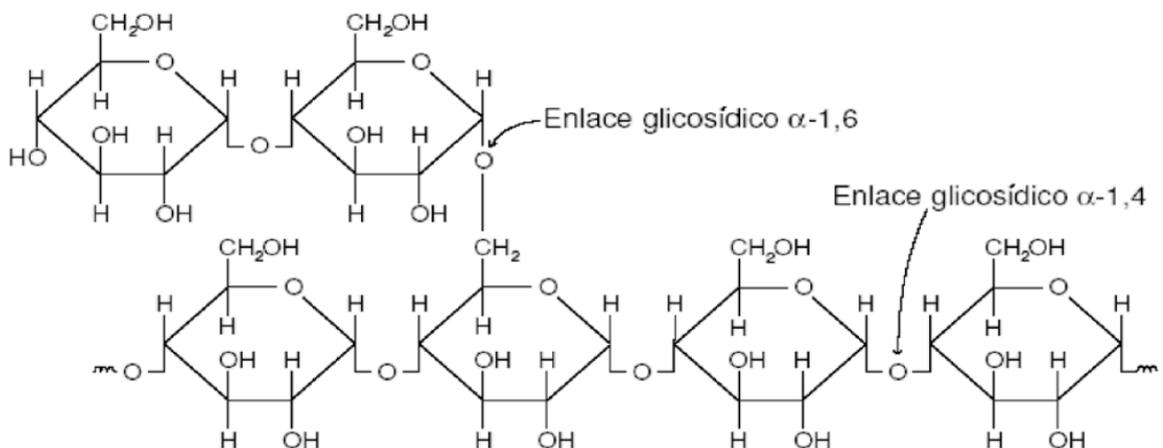


Figura 1.3 Estructura química de la amilopectina (Meneses et al., 2007)

La gelatinización comprende la hidratación y el hinchamiento de los gránulos del almidón por un incremento en la temperatura del medio hasta que alcance su volumen máximo, perdiendo su patrón de difracción de rayos X y la propiedad de birrefringencia. El proceso termina cuando el gránulo es incapaz de retener líquido, rompiendo parcialmente la amilosa y la amilopectina (Badui Dergal, 2016).

Licuefacción y sacarificación

En los procesos de licuefacción y sacarificación intervienen enzimas como α -amilasas y glucoamilasas, respectivamente (Castaño P. & Mejía G., 2008). La α -amilasa es una endoamilasa que rompe los enlaces glucosídicos α -1,4 de la zona interna de la amilosa y la amilopectina, dejando como productos α -oligosacáridos y α -dextrinas, además puede liberar poca glucosa y maltosa. Las enzimas glucoamilasas son exoamilasas, capaces de degradar los enlaces α (1,4) y α (1,6), generando como productos glucosa y maltosa (Aditiya, Mahlia, Chong, Nur, & Sebayang, 2016).

Uno de los enfoques de la tecnología enzimática se centra en un uso más eficiente de las materias primas. Las enzimas Termamyl SC DS, Enzymix 5000 y Granozyme FGDX CAL son productos comúnmente empleados en estudios de producción de bebidas alcohólicas que se ajustan a los sustratos del presente proyecto. Las características de las enzimas antes mencionadas se muestran en la Tabla 1.3, cuya información fue obtenida de fichas técnicas y artículos científicos, en los que emplearon dichas enzimas en procesos de hidrólisis enzimática (Navia, Nina, Mena, & Salcedo, 2019).

Tabla 1.3 Enzimas comerciales empleadas en el presente proyecto

Características	Enzimas comerciales		
	Termamyl SC DS	Enzymix 5000	Granozyme FGDX CAL
Tipo de enzima	Alfa amilasa	Enzima alfa amilasa fungal diluida	Enzima glucoamilasa
Actividad enzimática	120 KNU-S/g	Mín. 5000 SKB/g	Mín. 500 GAU/g
pH	5,4 - 5,8	6,5 - 9,5	3,5 - 6,5
Temperatura	80 °C	70 - 80 °C	45,0 - 75,0 °C
Dosificación	0,15 - 0,45 kg/ton de almidón	1,0 - 8,0 g/50 kg de harina	1,5 - 2,5 kg/ton materia prima
Hidroliza enlace	α (1,4)	α (1,4)	α (1,4) y α (1,6)
Productos	Dextrinas solubles y oligosacáridos	Maltosas y dextrinas	Azúcares fermentables

Fuente: Elaboración propia

Fermentación

La fermentación es un proceso esencial para la producción de bioetanol, en el que los azúcares se convierten en etanol, a través de un agente de fermentación

específico (microorganismo) que se introduce en el hidrolizado. Dicho hidrolizado no es totalmente uniforme en términos de monómeros de azúcar, puesto que consta de distintas fracciones de monómeros y otros oligosacáridos que pueden contener componentes inhibitorios o indigeribles (Aditya et al., 2016).

Es un proceso que requiere condiciones ideales de temperatura y pH para garantizar el crecimiento de los microorganismos, en el rango entre 30 y 38 °C, y un pH entre 6,5 y 7,5; las levaduras, por otro lado, pueden resistir medios más ácidos, entre 3,5 y 5,0. Entre la gran variedad de microorganismos apropiados para la fermentación, el más conocido es *Zymomonas mobilis*, que convierte la glucosa, sucrosa y fructosa, en etanol. De la fermentación se obtienen, en teoría, 0,49 kg de dióxido de carbono y 0,51 kg de etanol, por cada kg de glucosa y xilosa (Aditya et al., 2016).

1.4.3. Productos de la maceración

Debido a la sacarificación incompleta de los sustratos durante la maceración, se forma una pasta pegajosa denominada bagazo. Este subproducto, en el caso de la cebada, contiene entre el 20% y 25% de materia seca, sobre la cual entre el 24% y 26% es proteína, además es rico en fibra, consta de 4% de lignina y 3,9% de cenizas, y es posible metabolizar el 2,86 Mcal/kg de su energía (Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal, 1989). Dadas sus características nutricionales y a la gran cantidad generada por las industrias cerveceras, resulta beneficioso destinarlo a otras aplicaciones, tales como alimento balanceado, fertilizantes orgánicos o abono (compost) (Ferrari, Villagra, Claps, & Tittone, 2017).

En cuanto a la presencia de azúcares al final del proceso de maceración, la concentración se encuentra en el rango entre 13,5 a 15,5 °Plato, según datos de la empresa auspiciante, dependiendo del tipo de cerveza que se quiera obtener.

CAPÍTULO 2

2. METODOLOGÍA

La metodología empleada en el presente proyecto se dividió en dos fases, la caracterización e hidrólisis enzimática de las materias primas, y la fermentación del mosto, las mismas que fueron realizadas en el Laboratorio de Investigaciones Alimentarias – Ing. Grace Vázquez Veliz, M.Sc de la Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción, así como en la empresa auspiciante. También se tomaron en cuenta las consideraciones técnicas y restricciones de la empresa patrocinadora, tales como la capacidad de los equipos, los tipos de sustrato, el uso de una de las enzimas y la levadura que emplean en su proceso, además de la metodología empleada para los análisis a nivel de laboratorio.

Inicialmente se estudiaron las materias primas amiláceas, las cuales fueron caracterizadas y a la vez se determinó la distribución de tamaño de partícula en las mismas. Posteriormente, se planteó un diseño de experimentos utilizando el programa estadístico Minitab 18 para evaluar un proceso de hidrólisis enzimática sobre los sustratos mencionados, empleando enzimas de tipo comercial en la concentración más alta del rango de dosificación de la ficha técnica, con el objetivo de obtener un hidrolizado, del cual su fracción líquida (extracto puro) fue sometida a un proceso de fermentación para la obtención de alcohol. Luego, para analizar los resultados, se elaboraron curvas de maceración, gráficas del contenido de azúcares de cada tratamiento y el porcentaje de alcohol convertido tras la fermentación a nivel laboratorio. Finalmente, se realizó una estimación de costos para tres escenarios de maceración distintos, de acuerdo con las capacidades de los tanques de cocción de la empresa.

2.1. Caracterización de las materias primas

Entre las materias primas disponibles en el país se seleccionaron el arroz y la quinua; la primera fue proporcionada por la empresa auspiciante y la otra fue adquirida en un supermercado de la ciudad. Se realizó un análisis proximal de ambas, con la metodología respectiva que se detalla en la Tabla 2.1. Todos los ensayos fueron realizados en el laboratorio PROTAL de la Escuela Superior Politécnica del Litoral.

Tabla 2.1 Parámetros y metodología empleada

Parámetro	Metodología
Carbohidratos por diferencia	Cálculo
Fibra Cruda	AOAC 20th 978.10
Cenizas	AOAC 20th 923.03 (API-5.8-04-01-00B7)
Proteína	AOAC 20th 920.87
Grasa	AOAC 20th 960,39 (API-5.8-04-01-00B17)
Humedad	ISO 1026:1982

Fuente: Elaboración propia

2.2. Distribución del tamaño de partícula

Las muestras de arroz y quinua se molieron por separado en un molino de discos “Bühler Universal”, se pasaron por un clasificador “Bühler Universal” que utiliza un sistema de mallas detallado en la Tabla 2.2. El tiempo de tamizado de ambas muestras fue de 5 minutos, a una velocidad de 300 rpm. Una vez concluido el ensayo, se pesaron los moldes, se seleccionaron los retenidos con un diámetro de partícula menor a 0,25 mm, y se almacenaron en fundas de polipropileno hasta ser utilizadas.

Tabla 2.2 Sistema de mallas del clasificador “Bühler Universal” (Empresa auspiciante)

Luz de malla (mm)	N° tamiz
1,18	16
1,0	18
0,50	35
0,25	60
0,125	120
Fondo	

Los resultados del análisis de tamizado se presentarán mediante las gráficas de distribución del tamaño de partícula y del porcentaje de acumulados cernidos y acumulados retenidos. Cabe recalcar que, para elaborar ambas gráficas se requiere utilizar el diámetro de partícula que pasa a través de dos tamices consecutivos, para ello se utiliza la ecuación 2.1:

$$D_{p_{medio}} = \frac{A_p + A_r}{2} \quad (2.1)$$

Donde;

$D_{p_{medio}}$: Diámetro medio de partícula entre dos aperturas consecutivas

A_p : Apertura de malla que deja pasar la masa (mm)

A_r : Apertura de malla que contiene la masa retenida (mm)

Para estimar el diámetro de partícula que se obtuvo en el proceso de molienda se emplea la ecuación 2.2:

$$D_p = \frac{1}{\sum_{i=1}^n \frac{\Delta X_i}{D_{p_{i_{medio}}}}} \quad (2.2)$$

Donde;

D_p : Diámetro superficial

ΔX : Fracción o proporción en peso retenido

$D_{p_{medio}}$: Diámetro medio de partícula entre dos aperturas consecutivas

2.3. Hidrólisis enzimática de sustratos amiláceos

Para el proceso de hidrólisis enzimática de los sustratos amiláceos seleccionados (arroz y quinua) se utilizaron enzimas del tipo comercial combinadas con metodologías de trabajo con ciertas modificaciones a las utilizadas por parte de la empresa, como lo es el método congress o congress mash para la cebada malteada, procedimiento que se detalla en el Apéndice A.

Los mostos filtrados obtenidos del proceso de maceración, también denominados extracto puro de cada sustrato, se analizaron para determinar su contenido de azúcares totales, medidos en °Plato, mediante el equipo DMA 35. El procedimiento realizado se detalla en el Apéndice B.

2.3.1. Hidrólisis enzimática de sustratos con Termamyl SC DS

Para el proceso de hidrólisis enzimática con la enzima Termamyl SC DS, se mezclaron los sustratos con agua a 45 °C en relación 1:4 (arroz) y 1:5 (quinua),

en frascos de vidrio. La cantidad de enzima que se utilizó dependió de la cantidad de sustrato y las especificaciones de la ficha técnica.

Cada tratamiento fue sometido inicialmente a dos condiciones de temperatura (55 y 80 °C), utilizando un shaker y luego en un baño maría para alcanzar la temperatura final del proceso (98 °C).

Procedimiento:

1. Colocar los frascos de vidrio en el shaker y mantener la mezcla con una agitación de 150 rpm.
2. Elevar la temperatura a 55 °C.
3. Añadir la enzima al medio y mantener las condiciones por 10 minutos.
4. Elevar la temperatura a 80 °C y mantener por 15 minutos.
5. Transferir los frascos de vidrio al baño maría y mantenerlos a 98 °C, por 10 minutos.
6. Al final del proceso se deben centrifugar las muestras a 3.000 rpm, por 10 minutos, para obtener el sobrenadante.

El pH fue controlado en el transcurso del proceso y no hubo necesidad de ajuste.

2.3.2. Hidrólisis enzimática de sustratos con complejo enzimático

Para el caso del complejo enzimático (Enzymix 5000 y Granozyme FGDX Cal) se utilizaron las mismas relaciones sustrato: agua, mencionadas anteriormente en el ápice 2.4.1. Cabe recalcar que el complejo enzimático corresponde a una relación de enzimas cuyas dosis de aplicación se mantuvieron constantes en los tratamientos experimentales, dichas dosis corresponden a las más altas del rango establecido en las fichas técnicas de cada enzima.

Los frascos fueron calentados a las temperaturas óptimas a las que trabajan las enzimas específicas (55 °C y 75 °C).

Procedimiento

1. Colocar los frascos de vidrio en el shaker, donde la mezcla se debe mantener a una agitación de 150 rpm.
2. Elevar la temperatura a 55 °C.

3. Añadir la enzima Granozyme FGDX Cal y mantener las condiciones durante 30 minutos.
4. Elevar la temperatura a 75 °C.
5. Añadir la enzima Enzymix 5000 y nuevamente, mantener por 30 minutos.
6. Al finalizar el proceso, se deben centrifugar las muestras a 3.000 rpm, por 10 minutos, para obtener el sobrenadante.

Así mismo, luego de cada etapa de reposo, se tomó pH como control y no fue necesario ajustarlo.

2.4. Determinación del contenido de alcohol

Una vez obtenido el mosto filtrado de cada tratamiento experimental, se procedió a fermentarlo con el objetivo de transformar los azúcares disponibles presentes en alcohol, utilizando levadura activa.

Procedimiento

1. Filtrar el sobrenadante en un matraz de 500 ml, utilizando papel filtro circular MN 615, tierra filtrante y un embudo.
2. Adicionar 20 g de levadura, por cada 200 ml de mosto.
3. Añadir una gota de octanol 100% en el borde del matraz, para evitar la formación de espuma, y tapar con papel aluminio.
4. Colocar el matraz en una incubadora con agitación refrigerada, por 20 horas a 20 °C.

Cuando el tiempo de fermentación culminó, se filtraron las muestras para determinar el porcentaje de alcohol de cada una, mediante el equipo “Alcolyzer Beer Analyzing System”, funcionamiento que se detalla en el Apéndice C.

2.5. Diseño de experimentos

Se planteó un diseño experimental factorial 2²: dos factores y dos niveles, los cuales se detallan en la Tabla 2.3, con un total de 4 combinaciones o tratamientos experimentales, utilizando el programa estadístico Minitab 18. Las concentraciones, los tiempos y las temperaturas de trabajo empleados en cada tratamiento fueron definidas utilizando información bibliográfica, revisión de fichas

técnicas de las enzimas, así como indicaciones de las condiciones operativas de la empresa.

El objetivo del diseño experimental planteado fue determinar la combinación enzima-sustrato que permita la mayor conversión de azúcares reductores disponibles en alcoholes, considerando valores cercanos a los que obtiene la empresa regularmente en sus productos en proceso. Todos los análisis fueron realizados por duplicado.

Tabla 2.3 Matriz de experimentos

Sustrato	Enzima	
	Termamyl	Complejo enzimático (Granozyme + Enzymix)
Arroz	Y_{11}	Y_{12}
Quinua	Y_{21}	Y_{22}

Fuente: Elaboración propia

Las hipótesis que se relacionan al diseño de experimentos planteados son las siguientes:

H₀: El tipo de sustrato y enzima no influyen en el contenido de alcohol de la muestra.

H₁: El tipo de sustrato y enzima influyen en el contenido de alcohol de la muestra.

Para realizar el análisis de resultados frente a la variable respuesta “contenido de alcohol”, se utilizará el mismo programa estadístico para obtener el ANOVA e identificar la combinación más idónea de enzima:sustrato.

2.6. Estimación de costos

Para la estimación de costos se consideraron aspectos tales como el rubro de materia prima, la mano de obra directa e indirecta, los servicios y suministros, como agua y energía eléctrica. La estimación se realizó para el área de cocimiento considerando los equipos que se detallan en la Figura 2.1. Se establecieron tres escenarios, acorde al área de proceso; el primero sin la olla de maceración, el segundo sin la olla de adjuntos y el tercero, todas las ollas. La Tabla 2.4 detalla las condiciones operativas de los equipos antes mencionados.

Tabla 2.4 Condiciones operativas de los tanques (Empresa auspiciante)

Descripción	Olla de adjuntos	Olla de maceración
Capacidad de la olla (l)	25000	41600
Utilización (%)	74.00%	96.63%
Capacidad Batch (l)	18500	40198

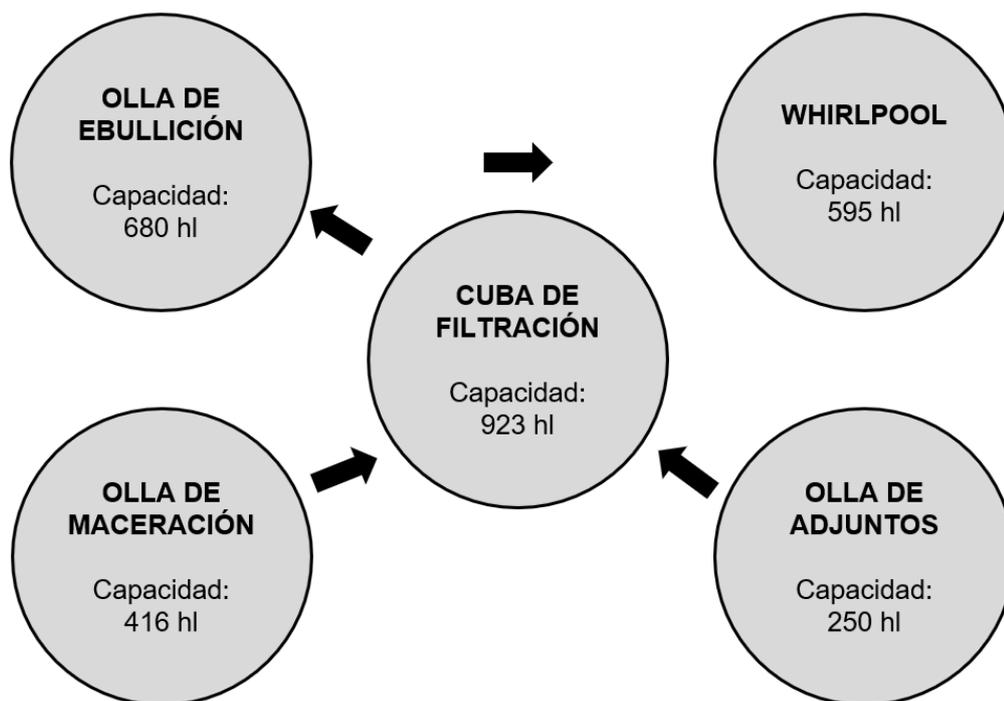


Figura 2.1 Esquema del área de cocimiento (Empresa auspiciante)

CAPÍTULO 3

3. RESULTADOS Y ANÁLISIS

El presente capítulo detalla los resultados obtenidos empleando la metodología de trabajo propuesta en el capítulo 2. En el mismo se incluyen, la caracterización de las materias primas amiláceas y su distribución de tamaño de partícula; seguido del diseño de experimentos, donde se observa la influencia de los sustratos empleados sobre la variable respuesta; posteriormente, se presentan las curvas de maceración obtenidas durante los procesos de hidrólisis empleando las enzimas comerciales, además del diagrama de flujo del proceso utilizado. Finalmente, se muestran los costos de producción en la etapa de maceración.

3.1. Caracterización de las materias primas

En las Figuras 3.1 y 3.2 se observan las muestras de quinua y arroz, respectivamente, que fueron sometidas a análisis proximales. La Tabla 3.1 detalla los valores obtenidos de las cuantificaciones de los componentes descritos en la Tabla 2.1.



Figura 3.2 Muestra de quinua
(Maquita)



Figura 3.1 Muestra de arroz
(Empresa auspiciante)

Tabla 3.1 Cuantificación proximal

Parámetro	Arroz (%)	Quinoa (%)
Carbohidratos	79,02	64,11
Fibra cruda	0,00	2,68
Cenizas	0,35	2,52 ± 0,05
Proteína	7,00 ± 1,26	13,21 ± 2,39
Grasa	1,04	6,41
Humedad	12,59 ± 0,13	13,75 ± 0,14

Fuente: Elaboración propia

Los valores obtenidos de los análisis proximales realizados, a la muestra de quinoa, guardan relación con lo reportado por Navia et al. (2019) en su estudio de hidrólisis enzimática empleando enzimas comerciales; mientras que, para el arroz no se reportan datos por otros autores.

3.2. Distribución del tamaño de partícula

En las Figuras 3.3 y 3.4 se observan los procesos de molienda y tamizado, respectivamente, aplicados en las muestras de arroz y quinoa. Las Tablas 3.2 y 3.3 detallan la composición granulométrica de ambas muestras.



Figura 3.3 Molienda de las muestras

Fuente: Elaboración propia



Figura 3.4 Tamizado de las muestras

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 3.2 se observan los valores de distribución granulométrica de la muestra de arroz, donde el mayor porcentaje de retenido se obtuvo en el tamiz N° 60, que está asociado a un tamaño de partícula de 0,25 mm (250 μ m). La Figura 3.5 muestra la granulometría obtenida, mientras que la Figura 3.6 muestra la distribución acumulada de retenidos y cernidos. La distribución del diámetro de partícula estimada, utilizando la ecuación 2.2, fue de $0,18 \pm 0,03$ mm.

Tabla 3.2 Composición granulométrica del arroz molido

N° tamiz	Luz de malla (mm)	Dpi medio (mm)	Retenido (g)	Retenido (%)	% Acumulados retenidos	% Acumulados cernidos
16	1,18	1,0900	0,4	0,07%	0,07%	99,93%
18	1,0	0,7500	0,4	0,08%	0,15%	99,85%
35	0,5	0,3750	84,2	14,98%	15,13%	85,06%
60	0,25	0,1875	375,3	66,29%	81,41%	12,67%
120	0,125	0,0625	56,0	10,38%	91,80%	8,85%
		Fondo	46,4	8,20%	100,00%	0,00%
		Total	562,7			

Fuente: Elaboración propia

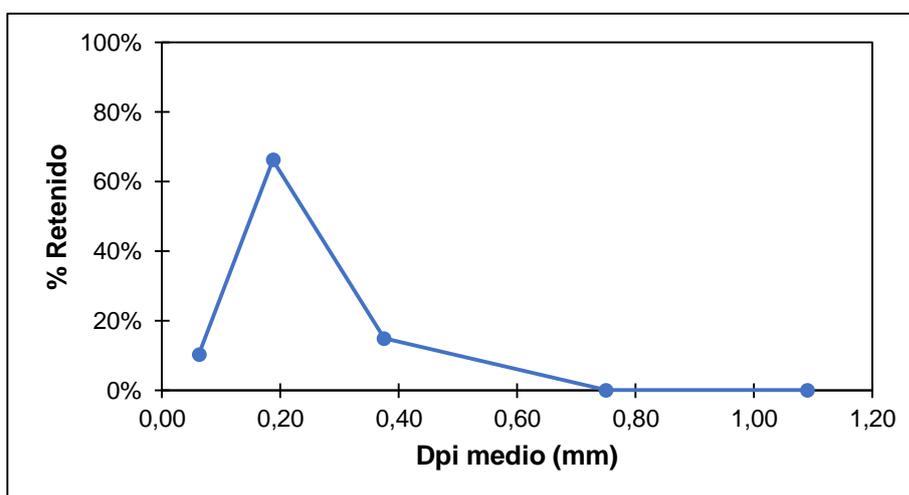


Figura 3.5 Distribución del tamaño de partícula del arroz

Fuente: Elaboración propia

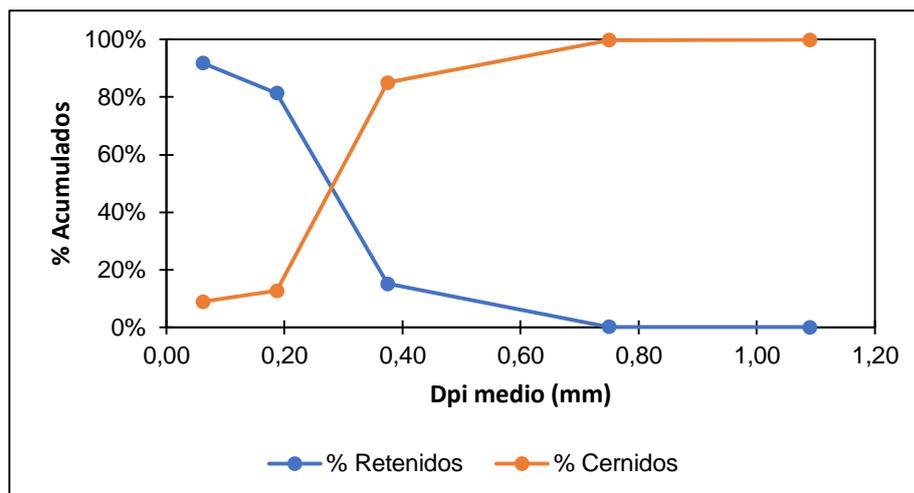


Figura 3.6 Porcentaje de acumulados cernidos y retenidos de la muestra de arroz

Fuente: Elaboración propia

En la Tabla 3.3 se observan los valores de distribución granulométrica de la muestra de quinua, donde el mayor porcentaje de retenido se obtuvo en el tamiz N° 60, que está asociado a un tamaño de partícula de 0,25 mm (250 μ m). La Figura 3.7 muestra la granulometría obtenida, mientras que la Figura 3.8 muestra la distribución acumulada de retenidos y cernidos. La distribución del diámetro de partícula estimada, utilizando la ecuación 2.2, fue de $0,16 \pm 0,004$ mm.

Tabla 3.3 Composición granulométrica de la quinua molida

N° tamiz	Luz de malla (mm)	Dpi medio (mm)	Retenido (g)	Retenido (%)	% Acumulados retenidos	% Acumulados cernidos
16	1,18	1,0900	1,2	0,12%	0,12%	99,88%
18	1,0	0,7500	4,0	0,41%	0,54%	99,46%
35	0,5	0,3750	156,4	15,96%	16,49%	83,51%
60	0,25	0,1875	518,6	52,89%	69,38%	30,62%
120	0,125	0,0625	189,0	19,25%	88,64%	11,36%
		Fondo	111,5	11,36%	100,00%	0,00%
		Total	980,6			

Fuente: Elaboración propia

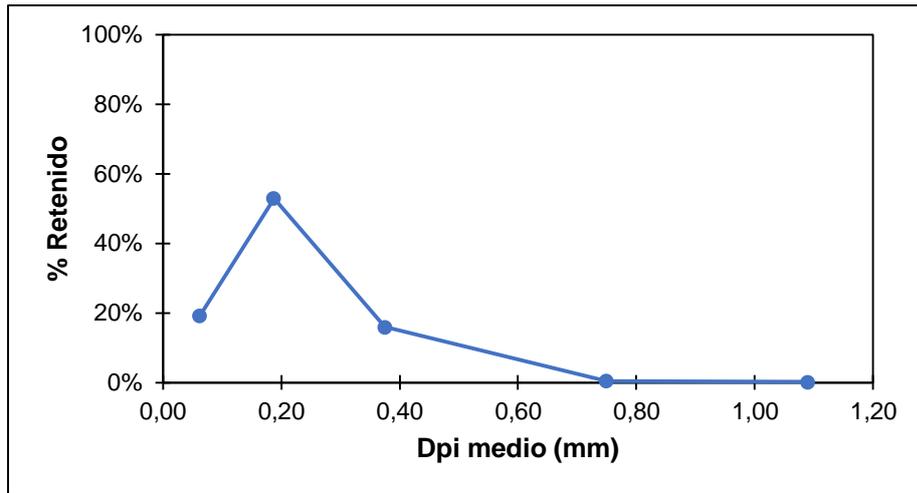


Figura 3.7 Distribución del tamaño de partícula de la quinua

Fuente: Elaboración propia

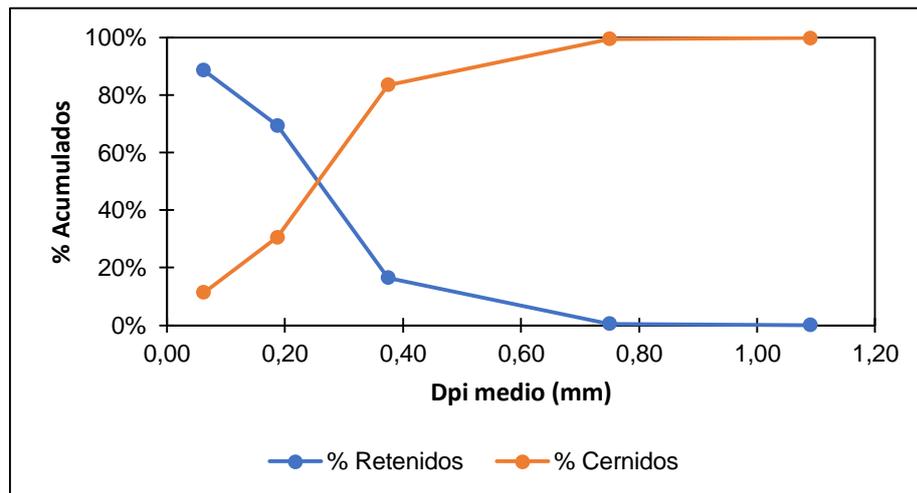


Figura 3.8 Porcentaje de acumulados cernidos y retenidos de la muestra de quinua

Fuente: Elaboración propia

3.3. Hidrólisis enzimática de sustratos amiláceos

3.3.1. Hidrólisis enzimática de sustratos con Termamyl SC DS

En la Figura 3.9 se muestra la curva de maceración con Termamyl SC DS, en función del tiempo.

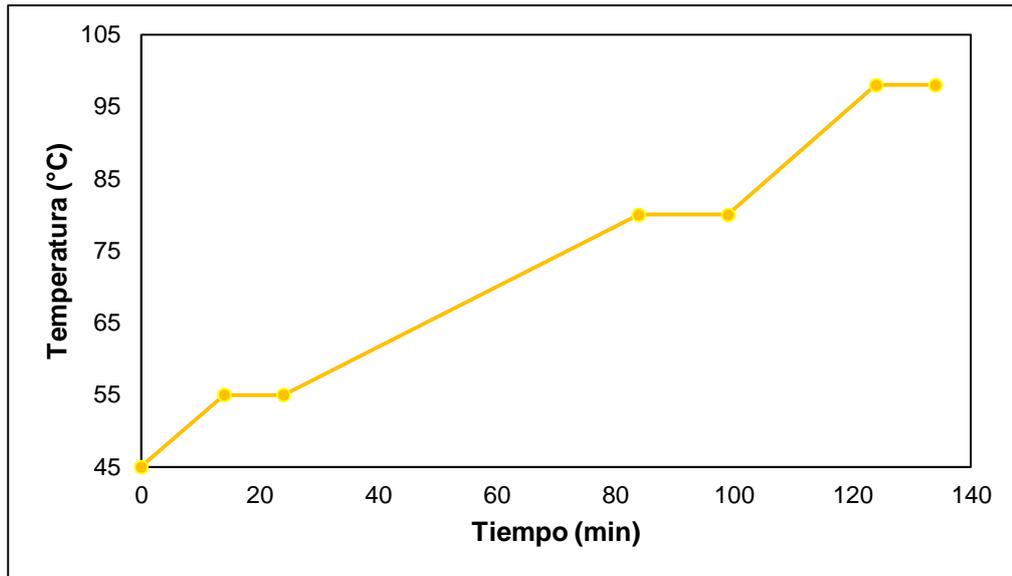


Figura 3.9 Curva de maceración con la enzima Termamyl SC DS

Fuente: Elaboración propia

Este proceso tiene una duración aproximada de 140 min, en el que se evidencian las tres etapas de reposo, que se describieron en el ápice 2.4.1.

Luego del proceso de hidrólisis enzimática se obtuvieron los mostos (Figura 3.10), mismos que fueron filtrados (Figura 3.11) para obtener el extracto puro de cada sustrato y determinar su contenido de azúcares totales.



Figura 3.10 Mosto con enzima Termamyl SC DS

Fuente: Elaboración propia



Figura 3.11 Filtración de mostos

Fuente: Elaboración propia

La Figura 3.12 detalla las concentraciones de azúcar obtenidas en cada etapa del proceso, medidas en °Plato.

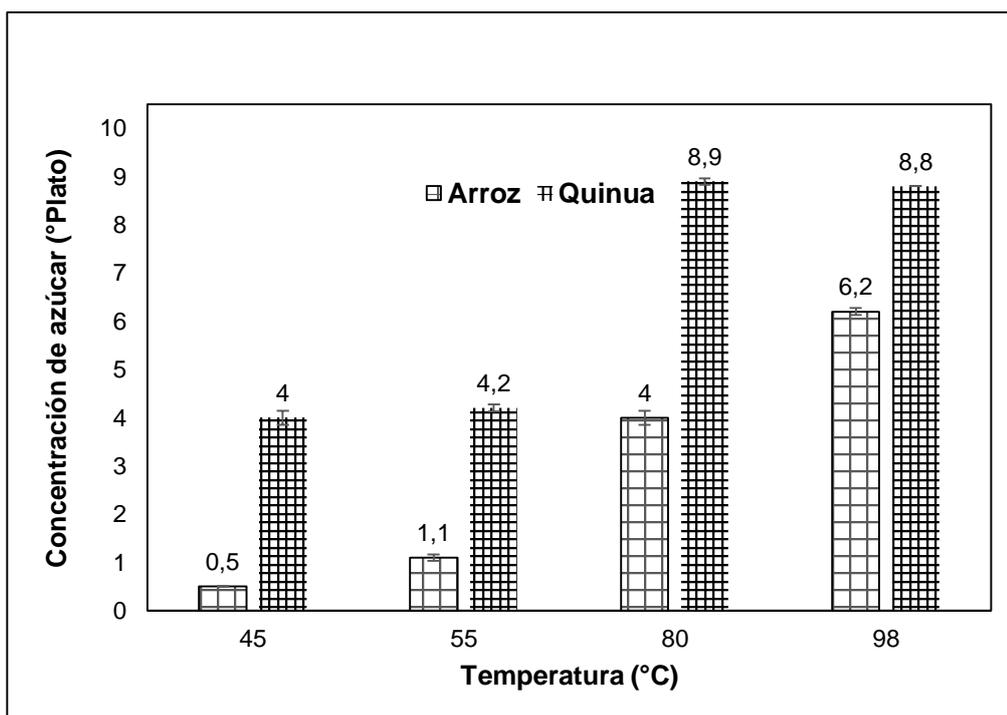


Figura 3.12 Concentración de azúcares con Termamyl SC DS

Fuente: Elaboración propia

En la gráfica se puede observar que el arroz alcanza su pico más alto de 6.2 °Plato a los 98 °C, de modo que es necesario alcanzar dicha temperatura para conseguir la mayor cantidad de azúcares en el extracto.

Comparando los resultados arroz vs. quinua, se puede observar que la quinua presenta un mejor comportamiento. Evidenciándose que a los 80 °C la muestra filtrada alcanzó la concentración de azúcares totales más alta (8.9 °Plato), mientras que el aumento de temperatura (98 °C) no aporta significativamente al contenido de azúcares.

3.3.2. Hidrólisis enzimática de sustratos con complejo enzimático

En la Figura 3.13 se muestra la curva de maceración con el complejo enzimático, en función del tiempo.

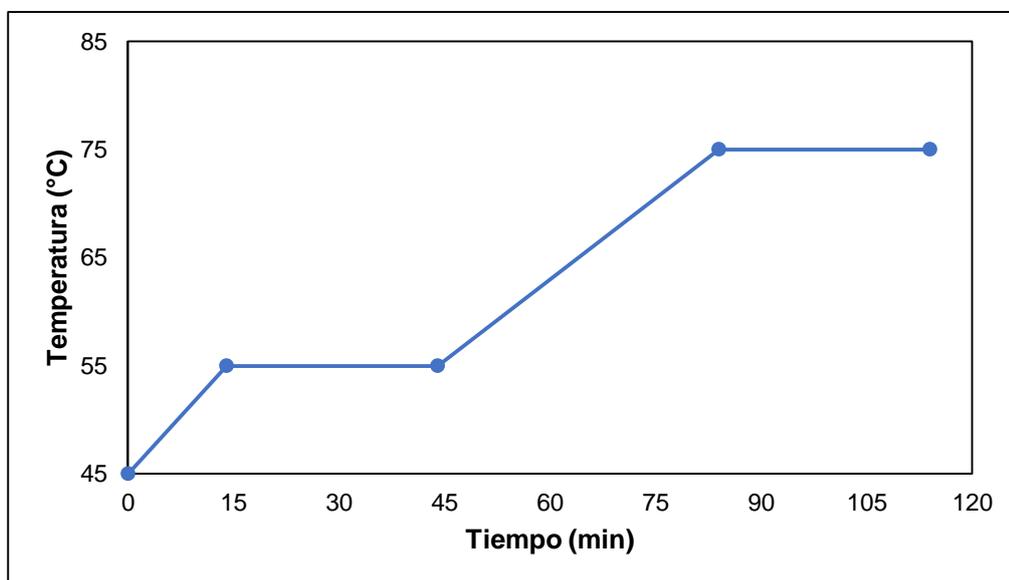


Figura 3.13 Curva de maceración con el complejo enzimático

Fuente: Elaboración propia

Este proceso dura aproximadamente 120 minutos, en el que se evidencian las dos etapas de reposo que se describieron en el capítulo 2.4.2. Luego del proceso de hidrólisis enzimática se obtuvieron los mostos (Figura 3.14), que fueron filtrados para obtener el extracto puro de cada sustrato y determinar su contenido de azúcares totales.



Figura 3.14 Mosto con enzimas del complejo enzimático

Fuente: Elaboración propia

La Figura 3.15 muestra el contenido de azúcar luego de cada etapa de reposo del proceso medidas en °Plato.

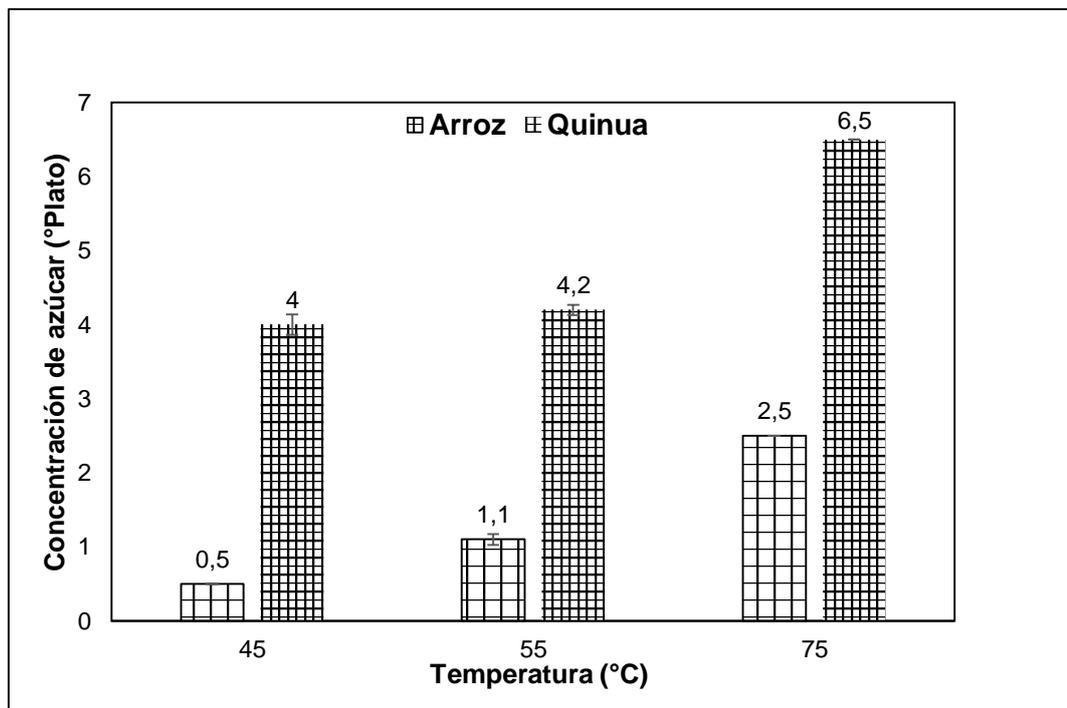


Figura 3.15 Concentración de azúcares con el complejo enzimático

Fuente: Elaboración propia

En la Figura 3.15 se observa que, la quinua triplica el contenido de azúcares a los 75 °C a diferencia de la hidrólisis con arroz, luego del reposo con la segunda enzima. Esto demuestra nuevamente que la quinua tiene un mejor rendimiento en comparación con el arroz, sin embargo, como se demostró con el ANOVA, con la Termamyl SC DS se obtiene el mejor resultado, es decir, mayor porcentaje de alcohol.

De acuerdo con los resultados obtenidos, la cantidad de azúcares presentes en los tratamientos con quinua son semejantes a los valores obtenidos por Kordialik et al., 2018, donde se empleó un tamaño de partícula de 0,1 mm.

Presumiblemente, las diferencias en el contenido de azúcares de los hidrolizados pueden deberse a factores intrínsecos de los sustratos. Según Zhang et al., 2012, la digestión de los almidones puede verse afectada por la estructura del gránulo y las interacciones de este con otros componentes, tales como el tamaño del gránulo, su estructura cristalina, fibra, inhibidores propios de amilosa, entre otros. Otros autores indican también que la longitud de cadena de amilopectina influye significativamente en la digestión del almidón; mientras más larga sea la cadena de amilopectina, más lenta será la degradación (Bi et al., 2017).

Entre los almidones, la quinua demuestra tener mayor susceptibilidad al ataque enzimático, debido a la gran área superficial que posee su gránulo, así como a las cadenas cortas de amilopectina dentro del mismo, que impiden la formación de doble hélice y, de esta manera, afectan la estructura de cristalina (Li & Zhu, 2018). De modo que podemos inferir que el arroz tiene valores de azúcares más bajos que la quinua, porque es menos susceptible al ataque enzimático, y esto puede deberse mayoritariamente a los factores intrínsecos antes mencionados.

3.4. Determinación del contenido de alcohol

Se realizó la fermentación para determinar el contenido de alcohol de las muestras con el equipo alcoalyzer (Figura 3.16), transcurridas las 20 horas del proceso. En las Figuras 3.17 y 3.18 se muestran los porcentajes de alcohol de los mostos fermentados con Termamyl SC DS y el complejo enzimático, respectivamente.



Figura 3.16 Muestras fermentadas en Alcolyzer

Fuente: Elaboración propia

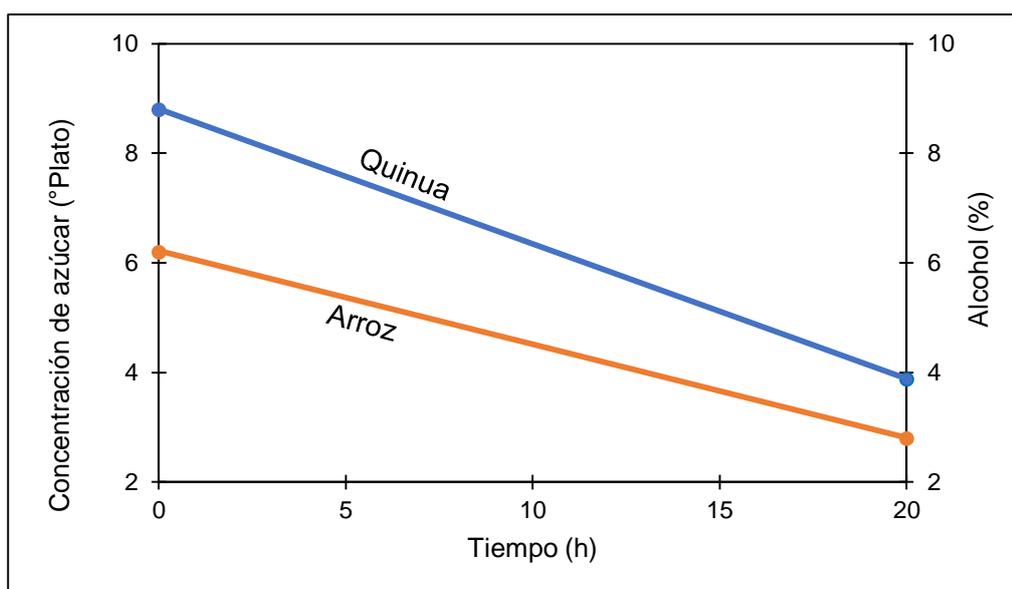


Figura 3.17 Contenido de alcohol con la enzima Termamyl SC DS

Fuente: Elaboración propia

Como se muestra en la Figura 3.17, el arroz contiene 2,8% de alcohol, mientras que la quinua contiene 3,88%.

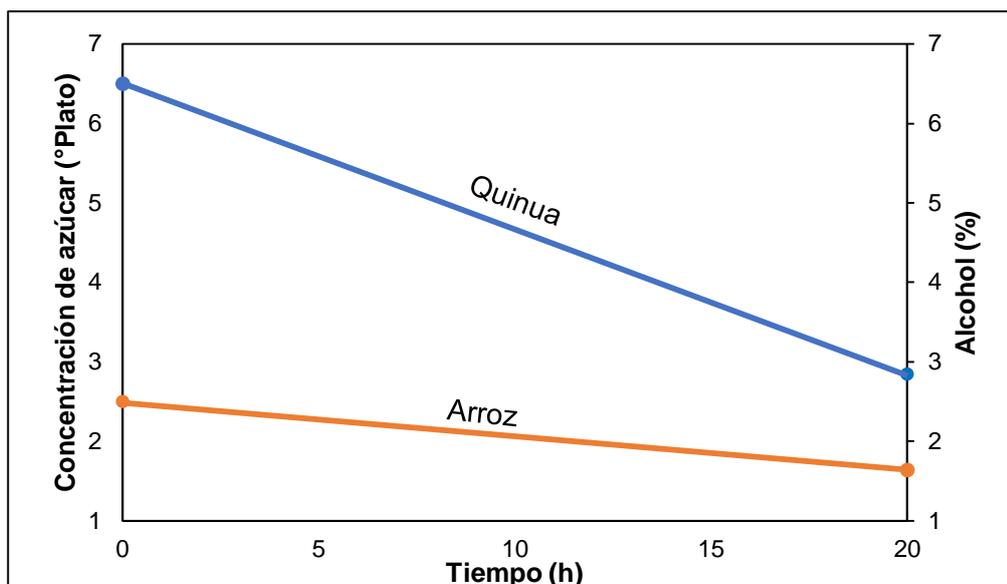


Figura 3.18 Contenido de alcohol con enzimas del complejo enzimático

Fuente: Elaboración propia

Por otro lado, como se observa en la Figura 3.18, con el complejo enzimático el mosto de arroz contiene 1,64% de alcohol, mientras que el de quinua alcanza 2,85% de alcohol.

Como se mencionó en el ápice 1.4.2 del capítulo 1, aproximadamente el 50% de los azúcares presentes en el hidrolizado, son fermentables, es por esto que el contenido de alcohol en los tratamientos con quinua fue mayor que con arroz.

Comparando con el contenido de alcohol de las cervezas de la empresa patrocinadora, un 2,8 – 2,85% de alcohol se refiere a una light, mientras que un 3.88% puede compararse con una original.

3.5. Diseño de Experimentos

Se determinó el comportamiento de los datos frente a la variable respuesta “contenido de alcohol (%)”, así como se realizó un análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de confianza del 95%.

La Figura 3.19 detalla las gráficas de residuos obtenidas del análisis del diseño experimental.

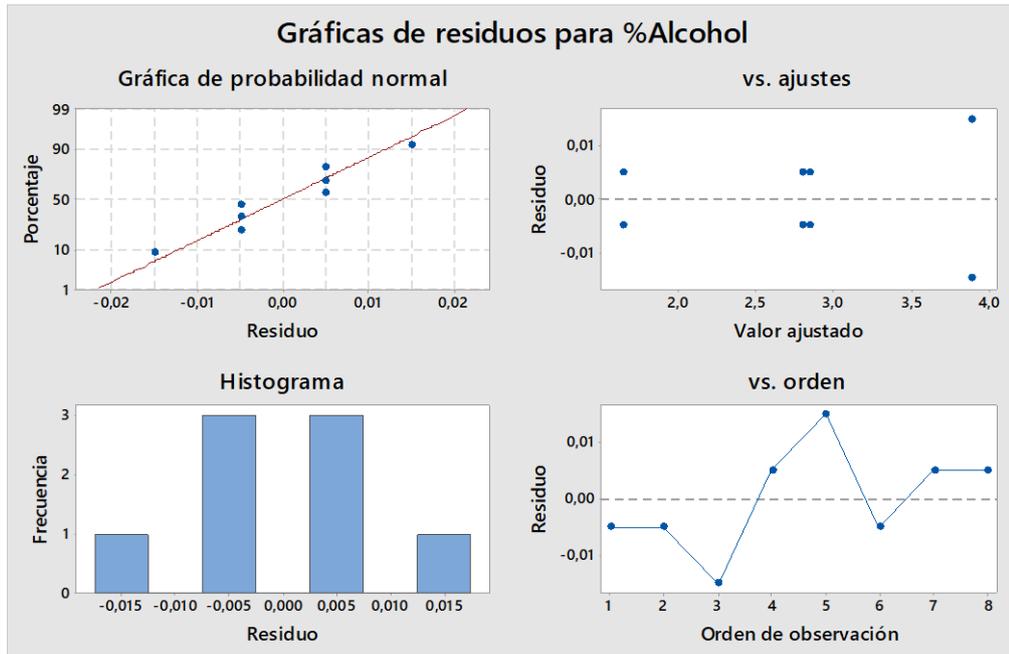


Figura 3.19 Gráficas de residuos para el porcentaje de alcohol de las muestras

Los datos para el contenido de alcohol en las muestras siguen una distribución normal, no hay patrones en las gráficas de ajustes y orden, por ende, se puede corroborar que hay aleatoriedad en los resultados.

Las Figuras 3.20 y 3.21 detallan la gráfica normal y el diagrama de Pareto de efectos estandarizados, respectivamente.

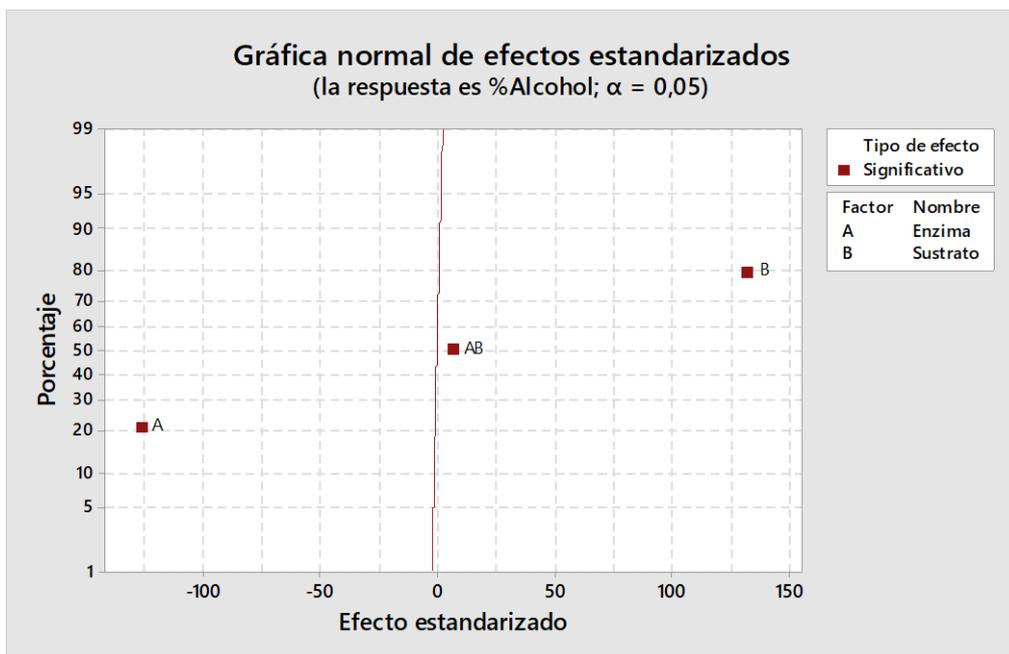


Figura 3.20 Gráfica normal de efectos estandarizados

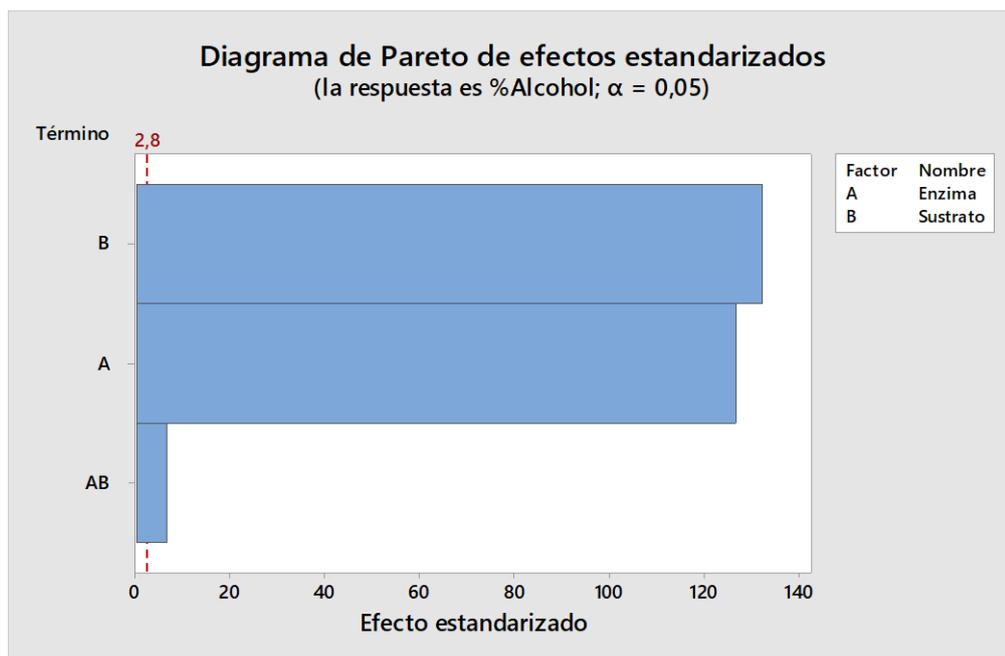


Figura 3.21 Diagrama de Pareto de efectos estandarizados

De acuerdo con las Figuras 3.20 y 3.21, tanto los factores como su interacción son significativos; sin embargo, cabe recalcar que por separado tienen mayor significancia que la interacción, de modo que los factores, individualmente, ejercen mayor influencia sobre la variable respuesta, contenido de alcohol.

Finalmente, se realizó la regresión factorial del porcentaje de alcohol vs. enzima y sustrato, para obtener el ANOVA y la respectiva ecuación de regresión.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	3	5,02615	1,67538	11169,22	0,000
Lineal	2	5,02010	2,51005	16733,67	0,000
Enzima	1	2,39805	2,39805	15987,00	0,000
Sustrato	1	2,62205	2,62205	17480,33	0,000
Interacciones de 2 términos	1	0,00605	0,00605	40,33	0,003
Enzima*Sustrato	1	0,00605	0,00605	40,33	0,003
Error	4	0,00060	0,00015		
Total	7	5,02675			

Figura 3.22 Análisis de varianza del diseño factorial

En la Figura 3.22, el valor p del modelo es menor a 0,05, por lo que es posible afirmar que se ajusta a los datos obtenidos. Tanto los factores, como su

interacción, tienen valores p menores a 0,05, pero el valor F en cada uno es mucho mayor que el de la interacción, de modo que se descarta su influencia en el resultado y, con 95% de confianza, se puede afirmar que el tipo de enzima comercial que se utilice, así como el tipo de sustrato, influyen de manera significativa en el contenido de alcohol de la muestra.

De acuerdo con la Figura 3.23, el 99,98% de la variabilidad en el contenido de alcohol de la muestra se explica por el tipo de sustrato y enzima utilizada en el procedimiento.

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
0,0122474	99,99%	99,98%	99,95%

Figura 3.23 Resumen del modelo

En la Figura 3.24 se detallan los niveles no codificados de ambos factores y sus coeficientes codificados.

Factor	Nombre	Bajo	Alto
A	Enzima	Termamyl	Complejo
B	Sustrato	Arroz	Quinoa

Término	Efecto	Coef	EE del coef.	Valor T	Valor p	FIV
Constante		2,79250	0,00433	644,90	0,000	
Enzima	-1,09500	-0,54750	0,00433	-126,44	0,000	1,00
Sustrato	1,14500	0,57250	0,00433	132,21	0,000	1,00
Enzima*Sustrato	0,05500	0,02750	0,00433	6,35	0,003	1,00

Figura 3.24 Niveles no codificados y Coeficientes codificados

De acuerdo con el valor efecto y los niveles de cada factor de la Figura 3.24, el contenido de alcohol disminuye 1,095% cuando se utiliza el complejo enzimático y aumenta 1,145% cuando se utiliza quinua. Por lo tanto, podemos decir que con la enzima comercial Termamyl SC DS y quinua como sustrato, se obtiene un incremento en el contenido de alcohol de la muestra final, de modo que dicha combinación es la más favorable para el proceso.

La ecuación de regresión en unidades no codificadas, obtenida del análisis estadístico, es la siguiente:

$$\%Alcohol = 2,79250 - 0,54750(Enzima) + 0,57250(Sustrato) \quad (3.1)$$

Acorde a la ecuación 3.1 obtenida, el factor sinergista es el sustrato y el antagonista es la enzima sobre el porcentaje de alcohol que se obtiene.

Finalmente, con los resultados analizados corroboramos que el proceso de hidrólisis enzimática de quinua con Termamyl SC DS sería el más indicado para obtener el mayor porcentaje de alcohol a nivel del proceso. La Figura 3.25 describe el flujo básico del proceso de hidrólisis enzimática que podría ser implementado en las instalaciones que posee la empresa actualmente.

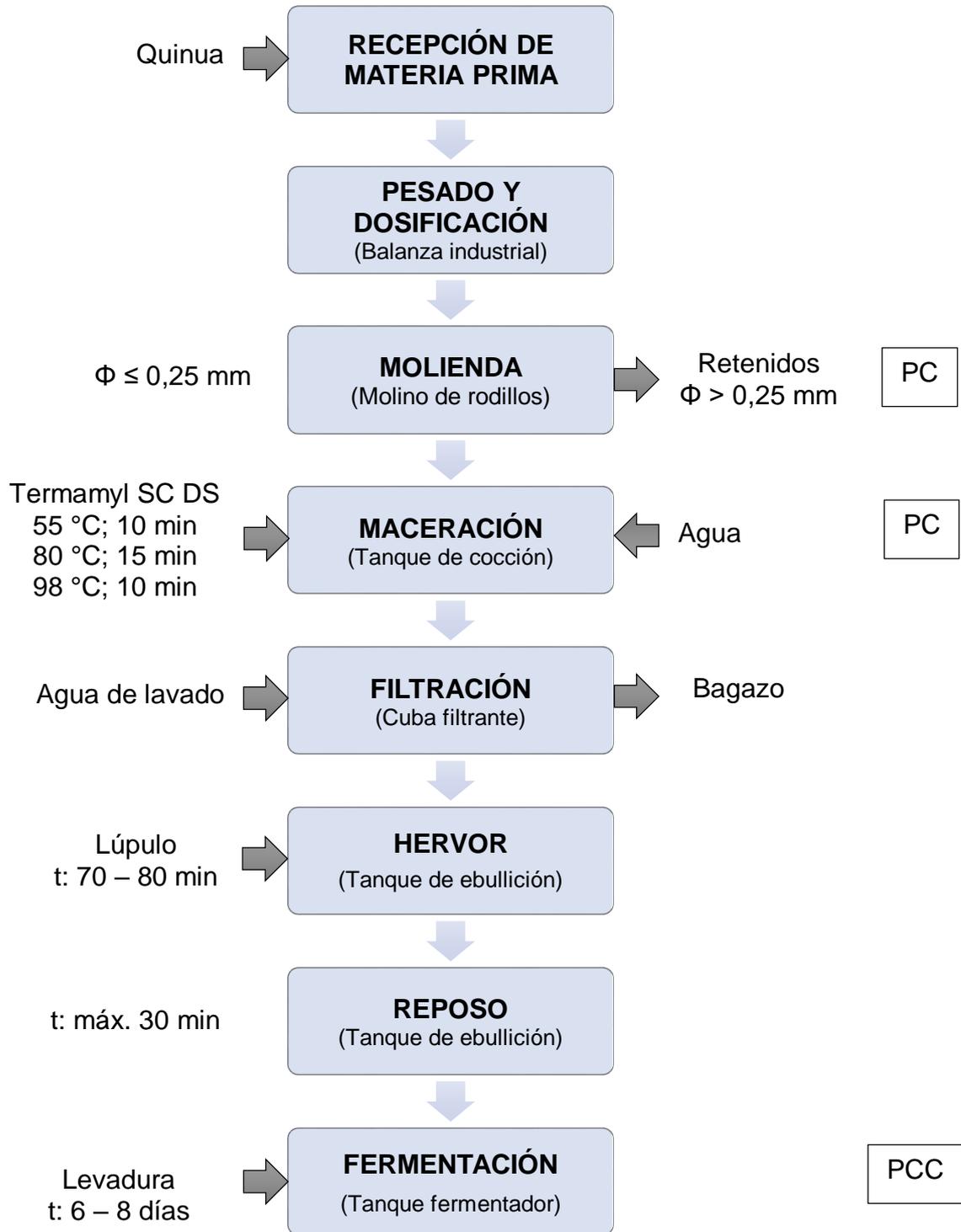


Figura 3.25 Diagrama de flujo del proceso básico

Fuente: Elaboración propia

3.6. Estimación de costos

La Tabla 3.4 detalla los porcentajes de merma que se obtuvieron en cada etapa del proceso, a nivel de laboratorio, y se consideraron para determinar la cantidad de materia prima necesaria para cada escenario.

Tabla 3.4 Balance de materia

Proceso	Merma %	Justificación de la merma
Recepción	0,00%	- -
Molienda	2,06%	La merma corresponde al material residual propio de la operación del equipo.
Tamizado	16,38%	Se descartan las partículas con una granulometría mayor a 0.25 μm
Maceración – Centrifugación	34,25%	Merma se asienta en el fondo del frasco
Filtración	0,51%	Mosto centrifugado contiene pocas partículas de bagazo

Fuente: Elaboración propia

En función de la merma generada en cada etapa y la capacidad de los tanques, se estimaron los costos de materia prima para cada escenario planteado en el ápice 2.6 (Tabla 3.5). Cabe destacar que el agua de lavado se utiliza al finalizar la etapa de filtración.

Tabla 3.5 Costos de materia prima

Materia Prima Ingredientes	Costo MP (\$/kg)	Costo Batch 250 hl	Costo Batch 416 hl	Costo Batch 666 hl
Quinua	\$0,43	\$2.462,27	\$5.350,19	\$7.812,00
Agua	\$0,45	\$6,94	\$15,07	\$22,01
Agua de lavado	\$0,45	\$13,50	\$13,50	\$13,50
Termamyl	\$22,18	\$45,72	\$99,35	\$145,07

Fuente: Elaboración propia

La Tabla 3.6 detalla la estimación de costos de mano de obra, para lo cual se consideraron los siguientes aspectos relevantes:

El número de días laborables por semana son cinco y se realizan dos batch diarios.

Se requiere un total de tres operarios para las etapas mencionadas en la Tabla 3.6.

El sueldo básico para cada operario es de \$401,64, sin embargo, una vez al año se realizan aportaciones, que representan el 12.15% del sueldo del trabajador.

Tabla 3.6 Costos de mano de obra directa

Mano de Obra	Costo 13ero (\$)	Costo 14to (\$)	Costo Aportaciones (\$)	Costo Anual (\$)	Costo Total Anual (\$)	Costo Total Mes (\$)
Recepción - Pesado y dosificación	\$401,64	\$401,64	\$585,59	\$4.819,68	\$6.208,55	\$517,38
Molienda - Maceración	\$401,64	\$401,64	\$585,59	\$4.819,68	\$6.208,55	\$517,38
Filtración	\$401,64	\$401,64	\$585,59	\$4.819,68	\$6.208,55	\$517,38
Total	\$1.204,92	\$1.204,92	\$1.756,77	\$14.459,04	\$18.625,65	\$1.552,14

Fuente: Elaboración propia

Las Tablas 3.7, 3.8 y 3.9 detallan los costos de producción para cada escenario, donde se consideran los costos de materia prima, mano de obra directa y los costos indirectos (Apéndice D-I, II, III). Se determinó que el costo por hectolitro es de \$14,118, \$13,841 y \$13,772, para los escenarios de 250 hl, 416 hl y 666 hl, respectivamente.

Tabla 3.7 Costo de producción para una capacidad de 250 hl

Rubros	Cantidad	UMB	Costo UMB	Costo Batch 250 hl
<u>Materia prima</u>				
Quinoa	5.726,21	kg	\$0,43	\$2.462,27
Agua	15,42	m ³	\$0,45	\$6,94
Agua - lavado	30	m ³	\$0,45	\$13,50
Termamyl	2,061	l	\$22,18	\$45,72
Total 1				\$2.528,43
<u>Personal</u>				
MOD	3	Operarios	\$517,38	\$38,80
Total 2				\$38,80
<u>Costo indirecto</u>				
Agua CIP	12	m ³	\$0,45	\$5,40
EE	434,83	kW/h	\$0,09	\$39,13
Total 3				\$44,53
Costo total (1+2+3)				\$2.611,77
Costo total hl				\$14,12

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.8 Costo de producción para una capacidad de 416 hl

Rubros	Cantidad	UMB	Costo UMB	Costo Batch 416 hl
<u>Materia prima</u>				
Quinoa	12.442,31	kg	\$0,43	\$5.350,19
Agua	33,50	m ³	\$0,45	\$15,07
Agua - lavado	30	m ³	\$0,45	\$13,50
Termamyl	4,479	l	\$22,18	\$99,35
Total 1				\$5.478,12
<u>Personal</u>				
MOD	3	Operarios	\$517,38	\$38,80
Total 2				\$38,80
<u>Costo indirecto</u>				
Agua CIP	12	m ³	\$0,45	\$5,40
EE	462,21	kW/h	\$0,09	\$41,60
Total 3				\$47,00
Costo total (1+2+3)				\$5.563,92
Costo total hl				\$13,84

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3.9 Costo de producción para una capacidad de 666 hl

Rubros	Cantidad	UMB	Costo UMB	Costo Batch 666 hl
<u>Materia prima</u>				
Quinoa	18.168,52	kg	\$0,43	\$7.812,46
Agua	48,92	m ³	\$0,45	\$22,01
Agua - lavado	30	m ³	\$0,45	\$13,50
Termamyl	6,541	l	\$22,18	\$145,07
Total 1				\$7.993,05
<u>Personal</u>				
MOD	3	Operarios	\$517,38	\$38,80
Total 2				\$38,80
<u>Costo indirecto</u>				
Agua CIP	15	m ³	\$0,45	\$6,75
EE	503,45	kW/h	\$0,09	\$45,31
Total 3				\$52,06
Costo total (1+2+3)				\$8.083,91
Costo total hl				\$13,77

Fuente: Elaboración propia

CAPÍTULO 4

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- Tanto la quinua como el arroz pueden ser utilizados en el proceso de maceración estudiado, debido a que ambos pueden producir azúcares fermentables que posteriormente se convertirán en alcohol, sin embargo, cabe recalcar que la quinua fue el sustrato amiláceo con el que se obtuvo el mayor contenido de alcohol (3.88%) empleando Termamyl SC DS.
- Los parámetros necesarios para el uso de la quinua en el proceso de maceración son temperaturas comprendidas entre 55 y 98 °C, con un tiempo de proceso aproximado de 140 minutos, una relación 1:5 de sustrato:agua y la concentración de enzima más alta del rango de dosificación, establecido en la ficha técnica.
- El costo estimado de producción por hectolitro, considerando los rendimientos obtenidos a nivel de laboratorio y el tanque de adjuntos que utiliza actualmente la empresa patrocinadora (250 hl), es de \$14,12.

4.2. Recomendaciones

- Evaluar otro tipo de alternativas amiláceas como yuca, papa, plátano, entre otras, para determinar su posibilidad de uso en las industrias destinadas a la elaboración de bebidas alcohólicas.
- Evaluar el uso de otro tipo de enzimas en el proceso de maceración con quinua, para incrementar el rendimiento del contenido de alcohol.
- Realizar las etapas posteriores al proceso de maceración a escala piloto, para obtener bebidas tipo cerveza que puedan ser comercializadas a nivel nacional y en el extranjero.
- Utilizar una menor graduación en el anillo del molino de discos para estudiar el efecto que tiene la molienda sobre el contenido de alcohol.

BIBLIOGRAFÍA

Aditiya, H., Mahlia, T., Chong, W., Nur, H., & Sebayang, A. (2016). Second generation bioethanol production: A critical review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 66, 631-653. doi:10.1016/j.rser.2016.07.015

Anton Paar. (2018). *Alcolyzer Beer Analyzing System*. Retrieved from <https://www.anton-paar.com/us-en/products/details/alcolyzer-beer-analyzing-system/>

Badui Dergal, S. (2016). *Química de los alimentos*. México: Pearson Educación.

Bi, Y., Zhang, Y., Jian, H., Hong, Y., Zhengbiao, G., Cheng, L., . . . Li, C. (2017). Molecular structure and digestibility of banana flour and starch. *Food Hydrocolloids*, 72, 219-227. doi:10.1016/j.foodhyd.2017.06.003

Castañó P., H., & Mejía G., C. (2008). Producción de etanol a partir de almidón de yuca utilizando la estrategia de proceso sacarificación-fermentación simultáneas (SSF). *Vtae*, 15(2), 251-258.

Chaplin, M. (2014, Agosto 6). *The use of enzymes in starch hydrolysis*. Retrieved from Enzyme Technology: <http://www1.lsbu.ac.uk/water/enztech/starch.html>

Cornejo, Y. I., Martínez, O., Toro, C., Wong, F. J., Borboa, J., & Cinco, F. J. (2018). The structural characteristics of starches and their functional properties. *CyTA - Journal of Food*, 16(1), 1003-1017. doi:10.1080/19476337.2018.1518343

El Universo. (2014, Mayo 13). *Ecuatorianos consumen en promedio 7,2 litros anuales de alcohol, dice OMS*. Retrieved from El Universo. Salud: <https://www.eluniverso.com/vida-estilo/2014/05/13/nota/2958801/ecuatorianos-consumen-promedio-72-litros-anuales-alcohol-dice>

FAO. (2004). El arroz y la nutrición humana. *Año internacional del arroz*, 1-3.

Ferrari, J., Villagra, S., Claps, L., & Tittonel, P. (2017). Reutilización de bagazo de cebada cervecera por secado y pelletización como suplemento forrajero. *Presencia*, 43-46.

Fundación Española para el Desarrollo de la Nutrición Animal. (1989). *FEDNA*. Retrieved from http://www.fundacionfedna.org/subproductos_fibrosos_humedos/bagazo-de-cerveza-h%C3%BAmedo

INEC. (2013, Julio 22). *Más de 900 mil ecuatorianos consumen alcohol*. Retrieved from INEC. Noticias: <http://www.ecuadorencifras.gob.ec/mas-de-900-mil-ecuatorianos-consumen-alcohol/>

INEC, ESPAC, & MAG. (2018). *MAG - SIPA*. Retrieved from Gobierno de la República del Ecuador: <http://sipa.agricultura.gob.ec/index.php/arroz>

Kordialik, E., Bogdan, P., Pielech, K., & Michałowska, D. (2018). Suitability of unmalted quinoa for beer production. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(13), 5027-5036. doi:10.1002/jsfa.9037

Li, G., & Zhu, F. (2018). Quinoa starch: Structure, properties, and applications. *Carbohydrate Polymers*, 181, 851-861. doi:10.1016/j.carbpol.2017.11.067

Linko, M., Haikara, A., Ritala, A., & Penttilä, M. (1998). Recent advances in the malting and brewing industry. *Journal of Biotechnology*, 65(2-3), 85-98. doi:10.1016/S0168-1656(98)00135-7

MAG - SIPA. (2017). Quinoa. *Boletín Situacional*.

Maradini, A., Ribeiro, M., Da Silva, J., Pinheiro, H., Paes, J., & Dos Reis, J. (2017). Quinoa: Nutritional, functional, and antinutritional aspects. *Critical reviews in food science and nutrition*, 57(8), 1618-1630. doi:10.1080/10408398.2014.1001811

Meneses, J., Corrales, C. M., & Valencia, M. (2007). Síntesis y caracterización de un polímero biodegradable a partir del almidón de yuca. *Revista EIA*(8), 57-67.

Navia, N. A., Nina, G. L., Mena, E. M., & Salcedo, L. (2019). Hidrólisis enzimática en harina de quinua y tarwi por efecto de α -amilasa. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 17(1), 64-73. doi:10.18684/bsaa.v17n1.1205

Nelson, D., & Cox, M. (2007). *Lehninger. Principios de Bioquímica* (Quinta ed.). Barcelona: Omega, S.A.

Novozymes. (2013). *Brewing Handbook - A handboof of Novozymes' solutions*. Dinamarca.

APÉNDICES

APÉNDICE A

Hidrólisis enzimática de la cebada

El procedimiento descrito por la EBC (European Brewing Convention), denominado “Congress Mash”, se aplica a la malta para determinar el extracto que contiene el mosto resultante. A continuación, describimos el método de maceración que debe realizarse por duplicado:

Se debe pesar 50 g de malta y colocarla en un beaker de maceración.

Se añaden 200 ml de agua a 46 °C y se disuelve con una varilla para impedir la formación de grumos. El beaker se coloca en baño maría a 45 °C y se agita por 30 minutos. Luego, se aumenta la temperatura en 1 °C/min, durante 25 min, hasta que alcance los 70 °C; momento en el que se adicionan 100 ml de agua a la misma temperatura. En este punto se debe medir la velocidad de sacarificación, para lo cual se transfiere una gota de la mezcla a un plato de porcelana y se añade una gota de lugol, 10 min después de añadir los 100 ml de agua a 70 °C. Esta acción se debe repetir en intervalos de 5 min, hasta obtener una mancha amarilla, que indica que se logró la sacarificación completa. En caso de que ésta no se logre en 1 hora, se debe parar el test. Caso contrario, mantener los 70 °C por 1 hora y enfriar a temperatura ambiente por 15 minutos.

APÉNDICE B

Funcionamiento del DMA 35

Este equipo es previamente limpiado con agua destilada, tres veces antes de tomar la muestra, para evitar errores en las mediciones. Se tomaron aproximadamente 20 ml de mostro filtrado y se realizaron las lecturas para ambos sustratos, luego de cada etapa de reposo durante el proceso.

APÉNDICE C

Funcionamiento del “Alcolyzer Beer Analyzing System”

En el equipo se colocaron por duplicado, 50 ml de cada muestra en los viales y adicionalmente dos viales con 50 ml de agua, que se utilizaron como blanco. Tanto las muestras, como el agua, se encontraban a una temperatura de 20 °C.

APÉNDICE D – I

Costo E.E.: primer escenario

Equipos	kw-h por semana	Costo (\$)/Kw-h	Costo semanal	kw-h por batch	Costo batch
Torre de malta	1291.667	\$0.09	\$116.25	129.167	\$11.63
Torre de cocimiento	3056.620	\$0.09	\$275.10	305.662	\$27.51
Total	4348.286		\$391.35	434.829	\$39.13

APÉNDICE D – II

Costo E.E.: segundo escenario

Equipos	kw-h por semana	Costo (\$)/Kw-h	Costo semanal	kw-h por batch	Costo batch
Torre de malta	1291.667	\$0.09	\$116.25	129.167	\$11.63
Torre de cocimiento	3330.445	\$0.09	\$299.74	333.045	\$29.97
Total	4622.112		\$415.99	462.211	\$41.60

APÉNDICE D – II

Costo E.E.: tercer escenario

Equipos	kw-h por semana	Costo (\$)/Kw-h	Costo semanal	kw-h por batch	Costo batch
Torre de malta	1291.667	\$0.09	\$116.25	129.167	\$11.63
Torre de cocimiento	3742.833	\$0.09	\$336.86	374.283	\$33.69
Total	5034.500		\$453.11	503.450	\$45.31