ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL

Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción

"Aprovechamiento integral de la ORYZA SATIVA para el Proceso de Obtención de Alcohol Etílico Mediante Aplicación Enzimática"

TESIS DE GRADO

Previo a la obtención del Título de:

INGENIERO DE ALIMENTOS

Presentada por

Rigoberto Roddy Peñafiel León

GUAYAQUIL- ECUADOR

Año: 2007

AGRADECIMENTO

Agradezco a Dios por llegar a esta instancia, a mi familia y un agradecimiento especial a la Ing. Jessica Velásquez, MBA. Mariela Reyes y a todas aquellas personas que de alguna manera aportaron con su valiosa ayuda para la elaboración del proyecto.

DEDICATORIA

Dios

Mis Padres

Mi Abuela

Mis Hermanos

Mis Amigos

Jorge León (+)

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

_____	_____
Ing. Luis Miranda S. **DELEGADO DEL DECANO DE LA FIMCP** **PRESIDENTE**	MBA. Mariela Reyes L. **DIRECTORA DE TESIS**
_____	_____
Dr. David Choez C. **VOCAL**	Ing. Mirella Bermeo G. **VOCAL**

DECLARACIÓN EXPRESA

"La responsabilidad del contenido de esta Tesis de Grado, me corresponden exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL"

(Reglamento de Graduación de la ESPOL)

_____

Roddy Rigoberto Peñafiel León

RESUMEN

La producción de ORYZA SATIVA o comúnmente denominado arroz en el Ecuador es considerable según el Ministerio de Agricultura y Ganadería del Ecuador en el año 2005 se produjeron 12´695870,94 quintales de arroz , la provincia del Guayas es la mayor productora de arroz que se comercializa en el País con un 50,75% , esta gramínea luego de cosechada pasa a las piladoras las cuales ponen a secar los granos y luego comienza con el proceso de descascarado y pilado mediante el cual se obtiene el arroz blanco que finalmente es vendido para su consumo.

Pero lo que ocurre en el transcurso del pilado de arroz es que aproximadamente del 7 a 12% del total de arroz que se pila se transforma en una pérdida económica(es decir aproximadamente 1´142.629 quintales anuales a nivel nacional) debido a que pierde tamaño en este proceso, es decir se produce una merma, siendo un grave problema para los productores de esta gramínea ya que tienen que comercializar estos granos de arroz muy pequeños generalmente para alimentación animal y en algunos casos los llegan a mezclarlo con granos de arroz mucho más grandes lo cual reduce la calidad y

otras veces se pierde porque no se llega a vender un arroz muy pequeño en el mercado, de tal forma que este tipo de arroz pequeño no tiene valor agregado en el mercado.

El objetivo principal de esta tesis consiste en realizar un estudio de factibilidad técnica y económica durante la obtención de alcohol etílico a partir del arrocillo y así poder darle un valor agregado a esa cantidad de arroz pequeño para transformarlo en la principal materia prima para la obtención de alcohol que sirve de base para la elaboración de bebidas alcohólicas destiladas e inclusive en la obtención de alcohol etílico para diversos usos, con su respectivo desarrollo de producto y su análisis de factibilidad técnica realizado en los laboratorios de Química de Alimentos y Microbiología de Alimentos y el análisis económico durante el proceso de producción. Un breve resumen de elaboración se describe a continuación: se procede a la cocción del arroz en agua y luego se le agrega una enzima conocida como alfa amilasa la cual ayudará en la transformación de esta mezcla en azúcares simples los que son el principal nutriente de las levaduras que son microorganismos intermediarios en la producción de alcohol en condiciones anaeróbicas. Además este trabajo presenta un análisis microbiológico, físico y químico del producto alcohólico y también los costos de producción que se generan en el proceso de obtención. Es decir, se realiza un

aprovechamiento integral del arroz pequeño que se considera como una merma debido al pilado del arroz antes de su comercialización.

De esta manera se genera una alternativa económica de producción para cualquier individuo que desee invertir en la producción de alcohol a partir de arroz, lo cual a su vez fomenta el empleo y así contribuir con el desarrollo económico de la sociedad.

ÍNDICE GENERAL

Pág.

RESUMEN..... I

ÍNDICE GENERAL.....II

ABREVIATURAS.....III

SIMBOLOGÍA.....IV

INTRODUCCIÓN..... 1

CAPÍTULO 1

1. CARACTERÍSTICAS Y GENERALIDADES DE LAS MATERIAS PRIMAS

1.1 Características y Generalidades del Arroz…….…….....3

1.1.1 Definición y Propiedades Nutricionales……...4

1.1.2 Producción de Arroz en el Ecuador…….…….6

1.1.3 Proceso de obtención de arroz pilado…….....…….6

1.1.4 El Almidón……..……..8

1.2 Características de las enzimas……9

1.2.1 Concepto y propiedades……...10

1.2.2 Función y Propiedades de la Alfa amilasa…….....10

1.3 Aspecto Microbiológico…….....13

1.3.1 Levaduras Concepto y Generalidades…….....13

1.3.2 Ciclo Vital de las Levaduras…….....15

1.3.3 Fermentación: Fundamentos del Proceso…….....16

1.3.3.1 Metabolismo de la levadura……16

CAPÍTULO 2

2. INGENIERIA DEL PROCESO DE ELABORACIÓN………...21

2.1 Materiales y reactivos en Proceso de Sacarificación……21

2.1.1 El Biorreactor……..……22

2.1.2.Las Materias Primas ……..……23

2.2 Proceso de elaboración ……..…….25

2.2.1 Diagrama de Flujo ……..……...25

2.2.2 Explicación del Proceso ……27

2.2.3 Diagrama y Explicación Breve de Equipos……..31

2.3 Condiciones de Proceso y Factores que Inciden durante el Procesamiento……..……..33

2.3.1 Oxígeno…….……33

2.3.2 pH…….……...34

2.3.3 Temperatura……..34

2.3.4 Nutrientes…….....35

CAPITULO 3

3. CÁLCULOS DE INGENIERIA Y ESTUDIO DE FACTIBILIDAD TÉCNICA

……37

3.1 Cálculos de Ingeniería……..……37

3.1.1 Cálculo de Rendimiento por Etapas……...37

3.2 Estudio Técnico en Etapa de Sacarificación…….……..38

3.2.1 Producción de Azúcares fermentables…….……...39

3.2.2 Reducción de Viscosidad y Densidad…….…….40

3.2.3 Porcentaje de Calcio y Fósforo…….……40

3.2.4 Corrección y Estabilización de pH…….41

3.3 Estudio Técnico en Etapa de Fermentación…….……42

3.3.1 Diseño Experimental del Proceso de Fermentación……..…42

3.3.1.1 Materiales y Reactivos……...49

3.3.1.2 Procedimiento……..…50

3.3.1.3 Análisis de Resultados……51

3.3.2 Producción de Alcohol Versus Tiempo y Temperatura…..…..52

3.3.3 Producción de Anhídrido Carbónico y su Relación con el tiempo

..…….57

3.3.4 Conteo Microbiológico de Levaduras Durante la Etapa de Fermentación……..…….…59

CAPÍTULO 4

4. ESTUDIO DE FACTIBILIDAD ECONÓMICA……….....63

4.1 Ingresos…….……..63

4.1.1 Ingresos por Ventas……..…...63

4.2 Costos de Producción……..……...65

4.2.1 Costo de Materia Prima Directa……..….66

4.2.2 Costo de Mano de Obra Directa…….....67

4.2.3 Costos Indirectos de Fabricación…….....67

4.3 Inversiones……..68

4.3.1 Costo del Terreno……..…..……68

4.3.2 Costo de Equipos y Maquinarias……..68

CAPÍTULO 5

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS ……70

CAPÍTULO 6

6. RECOMENDACIONES Y CONCLUSIONES………..……75

APÉNDICES.

BIBLIOGRAFÍA

ABREVIATURAS

ATP	Adenosín trifosfato
Ca	Calcio
cm	Centímetros
Cl	Cloro
CO_2	Dióxido de carbono
g	Gramos
H_2CO_3	Ácido carbónico
Kcal	Kilocalorías
KJ	Kilo joules
l	Litros
mg	Miligramos
MG	Microgranulado
ml	Mililitros
M.O.	Microorganismos
Nm	Nanómetros
N_2	Nitrógeno
O_2	Oxígeno
ppm	Partes por millón
μm	Micrómetros

SIMBOLOGÍA

^0C Grados Centígrados
^0GL Grados Gay Lussac
α Alfa
β Beta
ρ Densidad

INTRODUCCIÓN

El objetivo de este trabajo es realizar el aprovechamiento de este arroz que es considerado como pérdida, para la obtención de alcohol etílico que puede ser luego comercializado como materia prima en la elaboración de bebidas alcohólicas destiladas, alcohol industrial o biocombustible.

En su primera parte se revisan los fundamentos teóricos respecto a la producción de arroz en el Ecuador, la enzima, los microorganismos usados, las características y propiedades que se necesitan en la obtención de alcohol etílico.

A continuación se presenta la ingeniería del proceso, es decir como se realiza el proceso de obtención de alcohol etílico a través de sus diferentes etapas, descripción de los equipos que se usan y las condiciones de proceso que influyen directamente en la elaboración.

Luego se muestra el estudio técnico del proceso, es decir los métodos y las técnicas utilizadas para realizar los análisis físicos, químicos y microbiológicos que se emplean durante la obtención de alcohol etílico.

Finalmente se realiza el estudio de factibilidad económica, mediante el cual se conoce si es económicamente posible y rentable la obtención de alcohol etílico a

partir de arroz. Y después las conclusiones y recomendaciones respectivas con respecto al trabajo elaborado.

CAPÍTULO 1

1. CARACTERÍSTICAS Y GENERALIDADES DE LAS MATERIAS PRIMAS

En el presente capítulo se detallará las principales cualidades y características de las materias primas que son usadas en la elaboración de la solución alcohólica a base de arroz, dentro de las cuales encontramos arroz, agua, enzima (alfa amilasa) y levaduras.

1.1 Características y Generalidades del Arroz

El arroz es una gramínea la cual constituye un alimento básico para casi 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.

El arroz es una fuente de energía muy valiosa. Rico en hidratos de carbono, proporciona unas 350 calorías por cada 100 gr. Estos hidratos se transforman

en energía necesaria para suplir el desgaste que el organismo tiene por su propio metabolismo y por los esfuerzos que realiza. Además este tipo de energía se genera con bastante rapidez y se mantiene durante bastante tiempo, de manera que el organismo puede encontrarse saciado durante unas cuantas horas después de ingerirlo.

La fuente principal de energía es el almidón o fécula, la parte blanca del arroz o lo que queda del grano después del descascarillado (arroz blanco). Comparado con el resto de cereales contiene un nivel inferior de proteínas y de grasas. El arroz, a diferencia de otros cereales, no contiene gluten

1.1.1 Definición y Clasificación

El arroz (*Oryza sativa)* es una monocotiledónea perteneciente a la familia *Poaceae.*

- **Raíces:** las raíces son delgadas, fibrosas y fasciculadas. Posee dos tipos de raíces: seminales, que se originan de la radícula y son de naturaleza temporal y las raíces adventicias secundarias, que tienen una libre ramificación y se forman a partir de los nudos inferiores del tallo joven. Estas últimas sustituyen a las raíces seminales.

- **Tallo:** el tallo se forma de nudos y entrenudos alternados, siendo cilíndrico, nudoso, glabro y de 60-120 cm. de longitud.

- **Hojas:** las hojas son alternas, envainadoras, con el limbo lineal, agudo, largo y plano. En el punto de reunión de la vaina y el limbo se encuentra una lígula membranosa, bífida y erguida que presenta en el borde inferior una serie de cirros largos y sedosos.

- **Flores:** son de color verde blanquecino dispuestas en espiguillas cuyo conjunto constituye una panoja grande, terminal, estrecha y colgante después de la floración.

- **Inflorescencia:** es una panícula determinada que se localiza sobre el vástago terminal, siendo una espiguilla la unidad de la panícula, y consiste en dos lemas estériles, la raquilla y el flósculo.

- **Grano:** el grano de arroz es el ovario maduro. El grano descascarado de arroz (cariópside) con el pericarpio parduzco se conoce como arroz café; el grano de arroz sin cáscara con un pericarpio rojo, es el arroz rojo. Las propiedades nutricionales del arroz pueden ser apreciadas en el apéndice A.

1.1.2 Producción de Arroz en el Ecuador

La producción de arroz en el Ecuador se puede verificar en el apéndice B y C de acuerdo a su producción por provincias y por cantones.

1.1.3 Proceso de obtención de arroz pilado

El momento óptimo de recolección es cuando la panícula alcanza su madurez fisiológica (cuando el 95% de los granos tengan el color paja y el resto estén amarillentos) y la humedad del grano sea del 20 al 27%. Se recomienda la recolección mecanizada empleando una cosechadora provista de orugas.

En el precio del arroz tiene especial interés el porcentaje de granos enteros sobre el total de los cosechados, pues este valor depende sobre todo de la variedad, pero también varía en función del momento de la recolección, ya que si el arroz se siega muy verde, el periodo de manipulación se incrementa en el secadero, con el resultado de una disminución de dicho porcentaje. Después del trillado el arroz puede presentar una humedad del 25 al 30%, por lo que debe secarse hasta alcanzar un grado de humedad inferior al 14%.

Una vez finalizadas las operaciones de recolección y secado, de cada partida destinada a semilla, se llevan a cabo las determinaciones de calidad reglamentarias (impurezas, humedad, granos rojos, germinación, etc.), eliminándose las que no reúnen las debidas condiciones.

La selección mecánica tiene por objeto separar aquellas materias o tipos de granos que no interesa conservar junto a la semilla seleccionada, mejorando la calidad de la misma. Esta operación se realiza mediante máquinas limpiadoras y seleccionadoras, que eliminan las materias indeseables (cascarilla, pajas, granos partidos, semillas de malas hierbas, etc.).

1.1.4 El Almidón

El almidón es el más importante de los carbohidratos. En los casos en los , que para fines industriales, resulta preciso degradarlo enzimáticamente, es necesario gelatinizarlo previamente por la acción del calor o someterlo a un intenso trabajo mecánico, las enzimas que degradan al almidón son las amilasas.

Existen dos formas de almidón en los granos, la amilosa y la amilopeptina, la primera es un polímero de la glucosa que contiene de 1000 a 4000 unidades de glucosa; tiene por tanto un peso molecular de 200000 – 800000. Cada unidad de glucosa está unida a la próxima por lo que se denomina un enlace α 1-4.

Este enlace determina el grupo reductor de la glucosa, situado en posición 1, pierda funcionalidad. Una molécula de amilosa no tiene más poder reductor que el correspondiente a una sola molécula de glucosa, porque sólo tiene un grupo reductor funcional, situado en un extremo.

A temperatura ambiente, la cadena de moléculas de glucosa adapta una conformación espiral cuyas hélices permiten albergar en su interior una molécula de yodo.

Cuando se trata la amilosa con yodo, disuelto en una disolución de yoduro potásico, el yodo se aloja en las hélices formando un complejo de amilosa – yodo que tiene un azul negruzco.

La amilopeptina es también un polímero de glucosa pero de mayor tamaño; tiene un peso molecular que sobrepasa los 500000. La mayor parte de las unidades de glucosa están unidas por los enlaces α 1-4, pero

ocasionalmente se establecen enlaces α 1-6. La consecuencia de estos enlaces es la formación de una molécula ramificada que, al igual que la amilosa, tiene un solo grupo funcional, el yodo la tiñe pero de color rojizo. En el apéndice D se puede observar la estructura de la cadena de almidón.

1.2 Características de las Enzimas

Aquí se define todo sobre la enzima a utilizar llamada alfa amilasa.

1.2.1 Concepto y Propiedades

Las enzimas son proteínas específicas que ayudan y facilitan el curso de una reacción bioquímica, es decir aumentan la velocidad catalítica de dicha reacción sin alterar los productos que se generen al final de dicho proceso.

Las enzimas tienen diversos pesos moleculares, los cuales van a depender de la función que vayan a realizar existe una enzima única para cada tipo de reacción lo cual nos indica el alto grado de especificidad de estas macromoléculas.

Su función puede ser alterada bajo diferentes medios y condiciones que se mencionan en este capítulo.

1.2.2 Función y Propiedades de la Alfa amilasa

La alfa amilasa es una enzima hidrolítica, es decir que rompe los enlaces de hidrógeno, hidrolizando cualquier enlace α 1-4 que se forman en los polisacáridos entre estos se encuentra el almidón que es una sustancia que posee muchos enlaces glucosídicos entre la amilosa y la amilopectina que se encuentran abundantemente en la cadena de este polipéptido.

Al romper los enlaces glucosídicos α 1-4 del almidón, este mediante un proceso de liquefacción enzimática específica comienza a transformar las grandes cadenas del almidón en azúcares simples como dextrinas.

Transformando así una sustancia inicialmente viscosa (almidón) en una sustancia dulce y menos viscosa debido a los productos formados como glucosa y fructosa (azúcares simples). La alfa amilasa es conocida como enzima dextrinizante

La alfa amilasa es una enzima termoestable, es decir funciona mejor y resiste altas temperaturas, el promedio de temperatura operativo es de

entre 70 y 90 ^{0}C, además trabaja con un pH menor de 6 y con una concentración de calcio de entre 50 ppm y 100 ppm para su mejor rendimiento.

La alfa amilasa es una enzima que se utiliza en la industria del almidón, el alcohol y el papel. Esta enzima puede clasificarse según su origen: α amilasa bacterial o fúngica.

La α amilasa bacterial es extraída de la bacteria Bacillus Subtilis bajo condiciones asépticas esta enzima posee mayor estabilidad que la misma enzima producida por hongos, se la usa principalmente para la sacarificación del almidón luego de producirle una liquefacción.

La α amilasa fúngica es extraída del Aspergillus Orizae, puede ser producida en un tanque de fermentación en un medio semisólido, la principal diferencia entre ambas es que la amilasa fúngica se inactiva a temperaturas menores, y la segunda diferencia es que la amilasa fúngica también actúa como una amiloglucosidasa y rompe los enlaces α1-4 y α 1-6 simultáneamente. Las características y condiciones de operación de la enzima se encuentran en los apéndices E, F, G, H, I.

1.3 Aspectos Microbiológicos

Se revisa aquí la fisiología y generalidades de la SACHAROMICES CEREVICIAE que es la levadura para la fermentación.

1.3.1 Levaduras concepto y Generalidades

Las levaduras son hongos unicelulares. La reproducción asexual es normalmente por gemación. Son muy parecidas a bacterias macroscópicamente pero son más cremosas y los olores que presentan son blancos, beiges o un poco más oscuros. Algunas son rosadas o rojas porque tienen carotenoides. Crecen a 32 ^{0}C, fermentan los carbohidratos, suelen ser esféricos y alargados

Estructura de la Célula de levadura

Una célula de levadura fermentadora típica tiene, cuando se halla plenamente desarrollada, entre 8 y 14 μm y una masa de materia seca de 40 gramos. Por tanto 10^{12} células desecadas pesan unos 40 gr. En vivo, prensadas ese número de células pesan unos 200 gr. Ver apéndice J.

En el interior de la célula grande se ven estructuras. Dentro se pueden ver vacuolas. El núcleo siempre está muy cercano a la zona donde está la gema. A más vieja es la célula, mayor es la vacuola.

La levadura promedio tiene de ancho 2,5 – 10 mm y de largo 4,5-21 mm.

Cada célula está rodeada por una pared que representa el 30% del peso seco total y tiene un grosor de 100 – 200 Nm. Está constituida por aproximadamente un 40% de β glucanos, otro 40% de α mananos; 8% de proteína, 7% lípidos, 3% de sustancias inorgánicas y 2% de hexosamina y quitina.

Las levaduras se multiplican por gemación, una zona debilitada de la pared permite que se forme una protuberancia del citoplasma a la que, de inmediato, se provee de pared. A medida que crece, van emigrando a la gema los orgánulos de la célula madre, incluido un núcleo (tras su división). Finalmente, la gema alcanza su tamaño y se separa de la célula madre.

El núcleo de las levaduras ofrece un diámetro de 1.5 μm y está rodeado por una doble membrana. En su interior posee una estructura llamada nucleolo. Los cromosomas no son distinguibles. Ver apéndice K.

Las mitocondrias albergan a los citocromos y las enzimas respiratorias que es el sistema responsable de la biosíntesis de adenosín trifosfato (ATP). Son por lo tanto los responsables del metabolismo oxidativo de los azúcares, que se degradan a dióxido de carbono y agua.

En condiciones anaeróbicas, o cuando las concentraciones de glucosa son altas, las mitocondrias parecen atrofiarse y perder su funcionalidad.

1.3.2 Ciclo Vital de las Levaduras

La mayor parte de las cepas de levaduras se encuentran en "diplofase", es decir contienen dos dotaciones cromosómicas. Estas condiciones se mantienen cuando se multiplican por gemación. En circunstancias adversas se tornan ascas y forman ascosporas.

Una ascospora solo tiene una dotación cromosómica. Durante la división meiótica, que tiene lugar en el interior del núcleo, para dar lugar a la "haplofase", se produce una distribución del material genético, y luego las esporas pueden entrar en una diplofase (esporas

se funden para formar diploides) o las esporas se ponen en contacto con otras del mismo tipo formando clones haploides estables.

Las principales especies de levaduras fermentativas son las SACHAROMICES dentro de las cuales encontramos la más común del tipo CEREVICIAE que es la utilizada para nuestro estudio de obtención de alcohol etílico, también existen sacharomices del tipo OVIFORMIS, BAYANUS, ELLIPSOIDEUS,

1.3.3 Fermentación: Fundamentos del proceso

Básicamente se explica aquí el fundamento de la bioquímica que participa en esta reacción.

1.3.3.1 Metabolismo de la Levadura

En el interior de la célula de levadura (sacharomices cereviciae), los carbohidratos son hidrolizados enzimáticamente a glucosa. La expresión más simple de la fermentación es la siguiente:

Glucosa $\rightarrow$ 2 dióxido de carbono + 2 Etanol + Energía

Ecuación de GAY LUSSAC

Esta ecuación no tiene en cuenta que la levadura puede estar multiplicándose y produciendo otros metabolitos, como ácido láctico, glicerol y ácido succínico, si bien en cantidades relativamente pequeñas. Teniendo en cuenta el crecimiento, la fermentación alcohólica podría expresarse más realísticamente así:

Carbohidratos (100 gr) + Aminoácidos (0.5gr) $\rightarrow$ Levaduras (5gr peso seco) + Etanol (48.8gr) + Dióxido De Carbono (46.8gr) + 50 Kcal. (209KJ

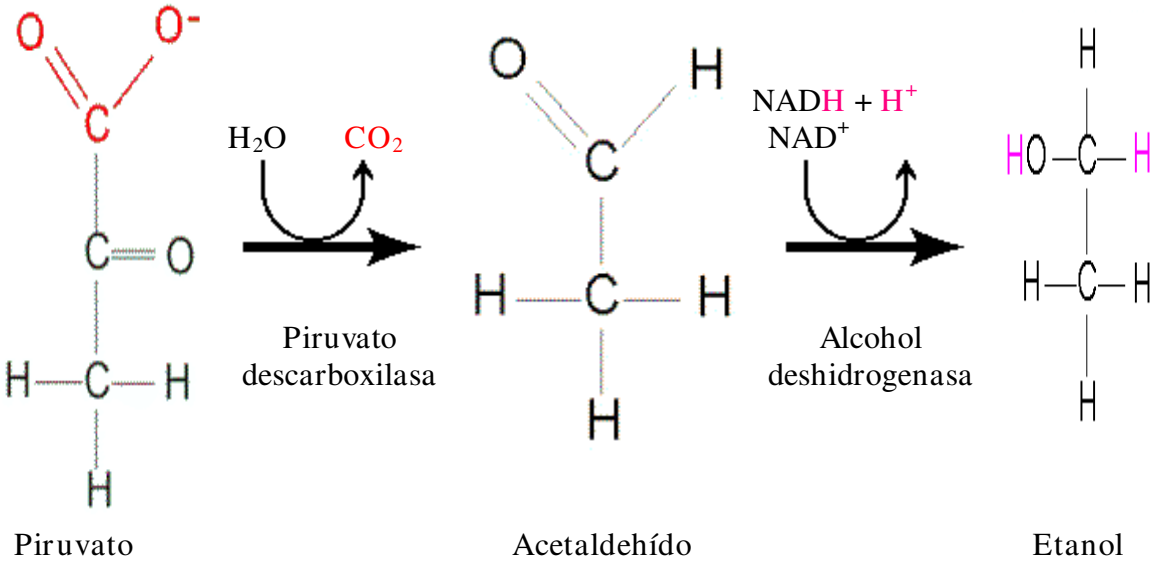


Figura 1.1 FERMENTACION ALCOHÓLICA

Fuente: Biotecnología de la cerveza y la malta

FERMENTACIÓN LÁCTICA

$C_6H_{12}0_6 + 2ADP + 2P_i$

$2C_3H_60_3 + 2ATP + 2H_2O$

$DG^{0'} = -47$ kcal/mol

Rendimiento energético (cond. estándar):
(14.6/47.0)x100 = 31%

FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

$C_6H_{12}0_6 + 2ADP + 2P_i$

$2C_2H_50H + 2ATP + 2CO_2$

$DG^{0'} = -56.3$ kcal/mol

Rendimiento energético (cond. estándar):
(14.6/56)x100 = 26%

Figura 1.2 RENDIMIENTO ENERGÉTICO DE LAS FERMENTACIONES

Fuente: Biotecnología de la cerveza y la malta

La fermentación utiliza la ruta glicolítica o de Embden – Meyerhof, en términos simplificados la glucosa se fosforila dos veces, utilizando el compuesto rico en energía ATP, para dar origen a una molécula altamente inestable, que se escinde dando dos moléculas de fosfato de triosa. Los fosfatos de triosa producidos aceptan fosfato inorgánico y almacenan energía suficiente no sólo para liberar ATP, sino también para producir fosfoenolpiruvato, que a su vez libera ATP, con lo que al rendimiento neto por molécula de glucosa usada es de dos moléculas de ATP.

El fosfoenolpiruvato constituye una ramificación metabólica, en condiciones anaeróbicas rinde fundamentalmente alcohol etílico (etanol) y dióxido de carbono, aunque una pequeña parte se transforma en acetilcoenzima A, una sustancia de notable importancia para el metabolismo celular, que participa en la síntesis de lípidos y ésteres y en la de los aminoácidos.

Si las levaduras disponen de exceso de glucosa y falta de oxígeno producen etanol, porque las mitocondrias no alcanzan pleno desarrollo en presencia de glucosa. Sin embargo las

mitocondrias comienzan a desarrollarse cuando la concentración de glucosa se reduce a un nivel bajo. Esta inhibición por el sustrato es frecuente tanto en las reacciones enzimáticas simples, como en las rutas metabólicas completas. Ver apéndice M.

CAPÍTULO 2

2. INGENIERIA DEL PROCESO DE ELABORACIÓN

2.1 Materiales y Reactivos en Proceso de Sacarificación

Los materiales que se usan en la parte experimental dentro de la sacarificación son:

Fiola (1000 ml)

Beaker (1000 ml)

Papel aluminio

Calentador con agitador

Peachímetro

Termómetro

Arroz molido

Fosfato monocálcico

Alfa amilasa (Tipo BAN 800 MG)

Agua

Balanza Electrónica

Ver materiales y equipos en apéndices N, O, P, Q, R, S.

2.1.1 El Biorreactor

Se conoce como biorreactor al espacio volumétrico donde se puede efectuar una reacción de carácter bioquímica, es decir reacciones en las cuales se utilizan organismos vivos para la ejecución y transformación de los sustratos en nuevo productos.

Para la fermentación el biorreactor es un tanque o recipiente herméticamente cerrado donde se puede inocular la levadura y la reacción durante la cual los azúcares se transforman finalmente en alcohol etílico.

Un biorreactor debe constar de las siguientes partes fundamentales:

- Válvula de salida de gases.- Las levaduras producen alcohol y CO_2 (anhídrido carbónico) por lo cual se debe evitar la acumulación de este gas debido a que aumenta la presión interna del recipiente lo que podría conllevar a la explosión por sobrepresión.

- Válvula de salida de muestra.- Para llevar el control durante el proceso de fermentación se necesita extraer muestra por lo cual debe existir cerca de la base del reactor.

- Válvula de entrada de inóculo.- Se necesita de una llave o válvula donde se pueda ingresar el inóculo con levadura antes de iniciar la fermentación y luego que se pueda cerrar herméticamente para evitar la contaminación de otro tipo de microorganismos.

- Manómetro.- Instrumento que nos ayuda a visualizar y controlar la presión interna del reactor. Ver bioreactores y sus partes en apéndices X, Y, C1.

2.1.2 Las Materias Primas

A continuación se presentan las principales materias primas a utilizar para la elaboración del mosto que se va a fermentar.

Arroz.- Es la principal materia prima para la elaboración de nuestro producto, por su contenido de almidón que luego será transformado en azúcares para el proceso de fermentación, la principal característica de el

arroz que se usa en este proyecto es el arroz cortado o arrocillo que proviene de las piladoras ubicadas en las provincias de Guayas y Los Ríos principalmente.

Agua.- Debe ser potable y que cumpla las normas INEN con respecto a su composición:

Enzima.- La enzima que se usa es la alfa amilasa BAN – 800 MG (microgranulado), la principal función es transformar el almidón en azúcar, resiste los efectos de la luz, funciona bajo parámetros de óptimos de temperatura y pH.

La enzima pierde gradualmente su actividad dependiendo de la temperatura de almacenamiento: Cuando se almacena a 5^0C, BAN 800 MG mantiene su actividad durante un periodo de 12 meses. Cuando se almacena a 25^0C, BAN 800 MG mantiene su actividad durante un periodo de 3 meses.

Fosfato monocálcico.- El fosfato monocálcico es una sal que actúa como un solución buffer es decir que puede corregir el pH de una solución, además contribuye con la adición de calcio que necesita la enzima para formar azúcares, la concentración mínima de calcio que necesita la enzima es de 50 ppm , mientras la concentración máxima es de 100 ppm.

Levadura.- Como se mencionó anteriormente se utiliza la especie SACHAROMICES CEREVICIAE, la cual debe trabajar bajo condiciones adecuadas de temperatura, pH, grado de hidratación para su desempeño eficiente en la fermentación.

2.2 Proceso de Elaboración

En esta sección se presenta los parámetros y el proceso para obtener alcohol etílico a partir de arroz, su diagrama de flujo y los parámetros de proceso.

2.2.1 Diagrama de flujo

El diagrama de flujo es una forma de representar el proceso mediante el uso de símbolos para comprender mejor el proceso de obtención de alcohol etílico a partir de arroz.

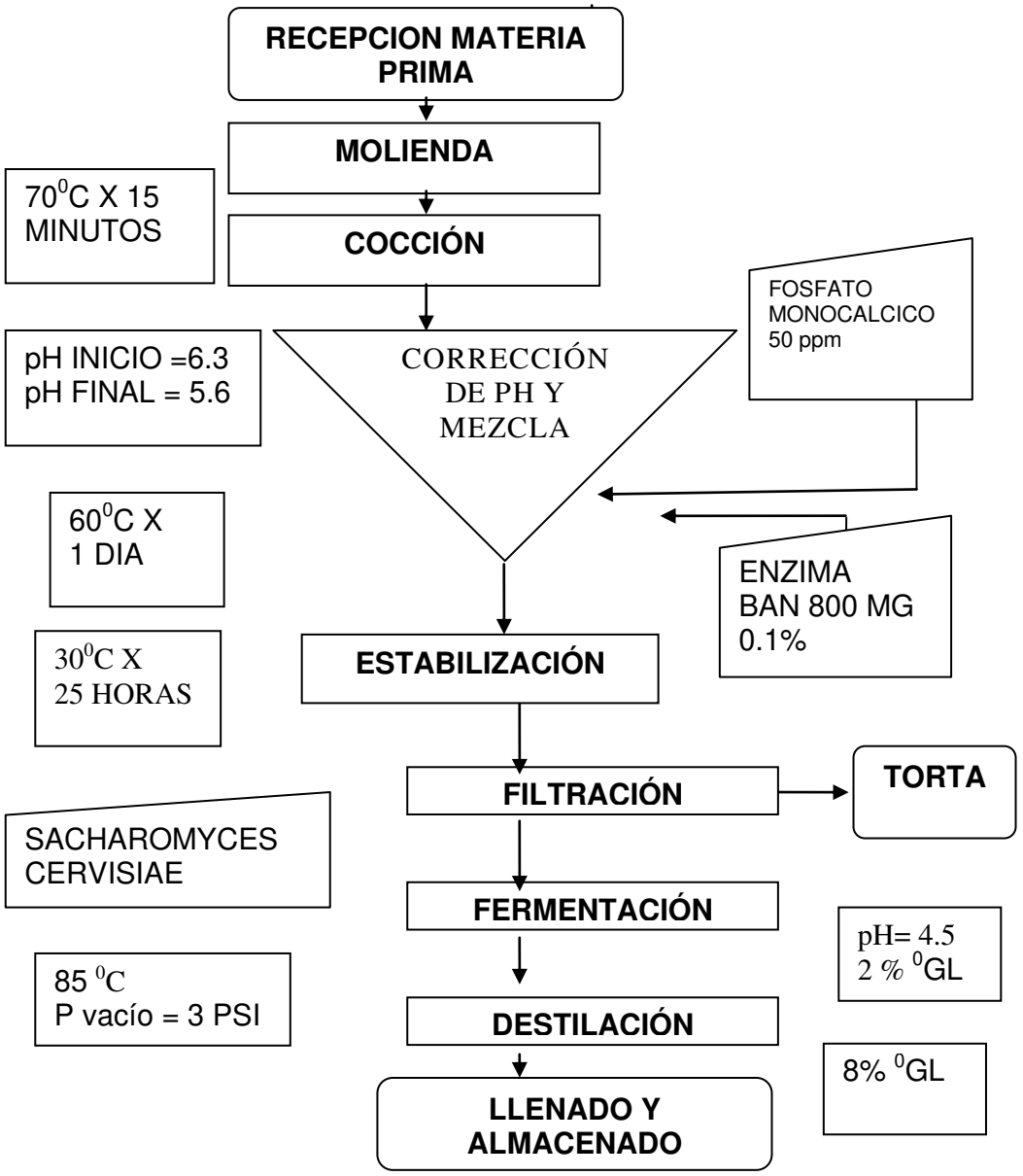


Figura 2.1 DIAGRAMA DE FLUJO

Fuente: Roddy Peñafiel León

2.2.2 Explicación del Proceso

Recepción de Materia Prima.- El arroz que llega de las piladoras debe ser de grano corto (comúnmente se le denomina arrocillo) en sacos de 50 (cincuenta) kilogramos, se verifican los pesos y luego son almacenados y listos para el inicio del proceso.

La enzima es una alfa amilasa BAN 800 MG (microgranulada) se debe almacenar en un ambiente de baja temperatura, es decir en refrigeración para su mayor durabilidad y estabilidad.

El fosfato monocálcico se debe almacenar en un lugar fresco y seco. Las cantidades van a depender del volumen de producción que se desee realizar y los proveedores deben estar certificados especialmente en el área de los aditivos como se mencionaron anteriormente.

La levadura SACHAROMICES CEREVICIAE se debe mantener en un lugar fresco y seco para evitar el deterioro y bajo rendimiento que se puede producir por el mal almacenamiento.

Molienda.- El arroz es molido hasta que se forme una harina, debido a que en la degradación del almidón se necesita que éste posea un alto grado de hidratación para una mejor conversión en azúcares fermentables.

Cocción.- La harina de arroz se mezcla con el agua, se debe mantener una temperatura de 70^0C durante 15 minutos para realizar la liquefacción del almidón, la cual se realiza para romper las cadenas de almidón y favorecer a la enzima en su acción sacarificante. La relación agua arroz es de 5/1 respectivamente.

Corrección de pH y Mezcla.- Luego de efectuar la liquefacción del almidón en la cocción, se toma una muestra de la mezcla y según la variación de pH se debe corregir añadiendo el fosfato monocálcico (entre 50 y 70ppm) hasta obtener un pH final de 5,6 el cual es el óptimo para el funcionamiento de la enzima, además el fosfato aumenta la cantidad de calcio en la mezcla que también favorece en la reacción de la enzima la cual actúa en concentración de 0.1% del peso del sólido en nuestro caso es el arroz.

Estabilización.- Durante esta etapa del proceso empieza la sacarificación del almidón, se van formando azúcares que aumentan con respecto al tiempo, esta estabilización se mantiene con una temperatura de 60^0C durante 1 día que es el tiempo de acción de la enzima.

Filtración.- La mezcla finalmente es filtrada, lo cual produce un subproducto que es una masa de arroz que puede luego de ser secada, utilizada en la alimentación de animales, lo restante es un líquido

amarillento el cual contiene 14% de sólidos solubles y es llevado al proceso de fermentación.

Fermentación.- Esta es la principal etapa en la conversión de los azúcares en alcohol etílico, para lo cual a la muestra que ha sido sacarificada se le agrega la levadura que ha sido tratada previamente (hidratación) para luego ponerlas en el bioreactor que experimentalmente se utilizan botellas cerradas herméticamente pero con salidas para la evacuación de gases y toma de muestras.

El proceso de fermentación consiste básicamente en transformar los azúcares de la mezcla en alcohol etílico de la cual se encargan las levaduras SACHAROMICES CEREVICIAE y por lo cual el principal cambio que ocurre en esta fase es la variación de densidades debido a que durante la transformación etanólica la muestra decrece su densidad.

En el capítulo de ingeniería del proceso de elaboración se detalla más acerca de esta fase de fermentación.

Destilación.- Es el proceso de refinación mediante la separación de componentes el cual se aplica calor a la sustancia ya fermentada y por diferencia de puntos de ebullición se vayan separando las sustancias más

volátiles en su fase de vapor, el alcohol debe estar en su punto de ebullición bajo (78.3 ^{0}C) y por ser menor que el punto de ebullición del agua (100 ^{0}C) pero para poder concentrar la primera solución alcohólica se necesita de una presión de 3 a 4 PSI y 85 ^{0}C finalmente pasa por un proceso de condensación para obtener el alcohol etílico en forma pura. Industrialmente pasa por varias columnas de destilación, en la primera columna se trabaja con una operación de vacío de 3 a 4 psi y luego se calienta a punto de ebullición para que pase a las siguientes 2 columnas destiladoras que trabajan a presión atmosférica y por puntos de ebullición se separan los materiales no deseados productos de la fermentación como alcohol metílico, acetaldehídos y cetonas.

Llenado.- En botellas de 1 litro se llenan y se los tapan para la venta y distribución.

2.2.3 Explicación Breve de los Equipos

A continuación de detalla los equipos que se usan a nivel industrial para el proceso de obtención de alcohol etílico.

Molino.- Para dejar el arroz con una granulometría fina, es decir como harina se puede utilizar un molino de rodillos, con un cedazo de tal forma que los granos que no han sido muy molidos sean reprocesados.

Marmita o Tanque de Cocción.- Es el equipo donde se coloca el agua y se calienta, esta debe ser suministrada de vapor mediante una caldera que por tuberías suministra el agua caliente al tanque de estabilización.

Tanque de Estabilización.- Aquí se realiza la adición del arroz molido, el fosfato monocálcico y la enzima. Este equipo debe constar de un agitador para la eficiente mezcla de los ingredientes y reactivos y un filtro de tal forma que se separe la torta del líquido que será fermentado.

Biorreactor.- Mencionado anteriormente, aquí se realiza la fermentación y es alimentado por una tubería desde el tanque de estabilización, el material recomendado del bioreactor debe ser de acero inoxidable.

Caldera.- que genera la cantidad de vapor requerida para la cocción del agua que se usa en el proceso. Ver equipos en apéndices H1, I1, K1.

Densímetro DMA 48.- Instrumento para medir la densidad de la solución alcohólica a su vez arroja datos del contenido del porcentaje de alcohol

obtenido. Las características del densímetro usado en la experimentación son las siguientes:

- Marca: ANTON PARA
- Modelo: DMA 48
- Serie: 249447
- Origen: Austria
- Rango de precisión: +/- $5x10^{-5}$
- Exactitud: +/- $1x10^{-4}$
- Rango de temperatura: -10 / +70 ^{0}C

2.3 Condiciones de Proceso y Factores que Inciden durante el Procesamiento

Existen factores que regulan la velocidad y producción durante el procesamiento de obtención de alcohol etílico, dentro de estos factores incluimos condiciones que favorecen o complican en todas las etapas de la obtención de alcohol etílico.

2.3.1 Oxígeno

Como se mencionó anteriormente las levaduras son organismos anaeróbicos, sin embargo hace mucho tiempo se creía que eran

estrictamente anaeróbicos es decir que la mínima concentración de oxígeno las eliminaría, eso es un hecho erróneo. Pero al transcurrir el tiempo se ha demostrado que las levaduras son microorganismos que necesitan cierta cantidad de aire.

Esta oxigenación de la SACHAROMICES CEREVICIAE se consigue en los procesos previos a la fermentación como ocurre durante la activación de la levadura, una excesiva aireación es totalmente absurda ya que no se obtendría alcohol sino agua y CO_2 anhídrido carbónico, debido a que las levaduras, cuando viven en condiciones aeróbicas no utilizan los azúcares por la vía fermentativa sino la oxidativa, para obtener con ello mucha más energía.

2.3.2 pH

El pH es un factor importante durante la obtención de alcohol debido a que influye en el rendimiento de algunas variables como lo son la producción de alcohol por medio de las levaduras, la producción de azúcares por medio de la enzima.

El pH óptimo de las levaduras en la cerveza es de 4.5 a 5.3, el pH óptimo de la enzima es de 5.3 a 5.6, sin embargo hay que tomar en cuenta que a estos niveles de pH pueden crecer cierto tipo de

bacterias que puedan afectar el rendimiento en la obtención de alcohol a partir de arroz.

2.3.3 Nutrientes y Activadores

Las levaduras fermentativas necesitan de azúcares para su catabolismo es decir para obtener la energía necesaria para sus procesos vitales, pero además necesitan otros substratos para su anabolismo como son nitrógeno, fósforo, carbono, azufre, potasio, magnesio, calcio y vitaminas especialmente de tiamina (vitamina B1). Por ello es de vital importancia que el medio disponga de una base nutricional adecuada para poder llevar a cabo la fermentación alcohólica.

El nitrógeno es de todos el más importante, el nitrógeno se presenta de forma amoniacal y en forma de aminoácidos. Una deficiencia de este nutriente hará que las levaduras consuma proteínas de alto peso molecular liberándose H_2S (ácido sulfúrico) de tal manera que tenga un olor de huevo podrido.

La presencia de esteroles y ácidos grasos insaturados es también necesaria obteniéndolos inicialmente del mosto y posteriormente de las células madres. Esteroles y ácidos grasos insaturados de cadena

larga son necesarios fundamentalmente para que sus membranas celulares puedan ser funcionales.

Es importante evitar la presencia de inhibidores en la mezcla de arroz que ha sido sacarificado como restos de productos fitosanitarios y ácidos grasos saturados de cadena corta.

2.3.4 Nutrientes

Los principales nutrientes de las levaduras serán las dextrinas, es decir los azúcares fermentables como la glucosa y fructosa entre las que se encuentran principalmente.

No debemos tener una concentración de grados brix alta es decir no mayor a los 29 debido a que las levaduras simplemente estallarían al salir bruscamente el agua de su interior para equilibrar las concentraciones de solutos en el exterior y en el interior de la célula lo que se conoce como plasmólisis.

Además se puede usar ácido sulfúrico para bajar la acidez del cultivo de enriquecimiento y urea como fuente de nitrógeno para mejorar el metabolismo de la levadura Saccharomyces Cereviciae.

Existen ciertas variedades de levaduras como Saccharomyces Ludwigii y Schizosaccharomyces pombe, entre otras, son capaces de resistir altas concentraciones de soluto.

CAPÍTULO 3

3. CÁLCULOS DE INGENIERÍA Y ESTUDIO DE FACTIBILIDAD TÉCNICA

3.1 Cálculos de Ingeniería

En el presente capítulo se realiza el estudio de factibilidad técnica del proyecto mediante el cual se verifica la posibilidad tecnológica de poder efectuarlo.

3.1.1 Cálculos de Rendimiento por Etapas

Dos etapas principales se toman como referencia para encontrar los cálculos de rendimiento: etapa de sacarificación y etapa de fermentación. En la etapa de de sacarificación se filtra la masa de agua con arroz luego de haber agregado la enzima por lo cual los datos experimentales que se obtuvieron:

- Para 100 gramos de arroz:

Peso beaker (500 ml) vacío = 172 gr

Peso fiola (1000 ml) vacío= 314,3 gr

Peso muestra= 100 gr

Relación arroz/agua= 1/5

Volumen agua= 500 ml

Peso agua 500 ml = 490 gr

Peso total de muestra (arroz+ agua)= 590 gr

Peso neto almidón = 590 gr de almidón

Filtración:

Peso liencillo = 34,56 gr

Peso arroz= 100 gr

Peso muestra (arroz mezclado +agua)= 590 gr

Peso de la torta = 98,64 gr

Peso de muestra filtrada (agua con sólidos solubles)= 491,36 gr

Peso de la enzima = 0.1% (del peso sólido) = 0.1 gr

3.2 Estudio técnico en Etapa de Sacarificación

En esta sección se revisa los análisis técnicos que se realizan durante la primera etapa en la obtención de alcohol etílico, la cual es la sacarificación.

3.2.1 Producción de Azúcares Fermentables

Como se mencionó anteriormente el almidón (presente en el arroz) que es una cadena de carbohidratos al ser hidrolizada por la enzima alfa amilasa rompe la cadena produciendo monosacáridos como la glucosa, fructosa en menor grado además de producir disacáridos, los cuales serán nutrientes de las levaduras para la formación final de alcohol etílico. A continuación se muestra el gráfico que relaciona la formación de grados brix con relación al tiempo.

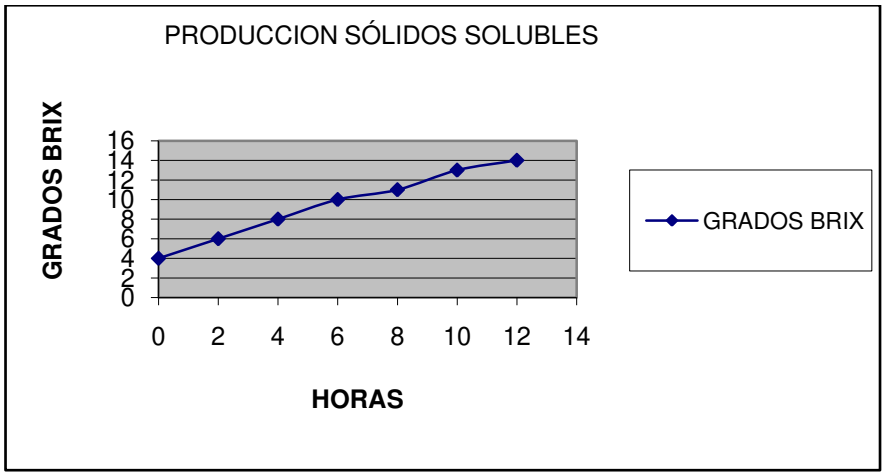


Figura 3.1 RELACIÓN GRADOS BRIX Y TIEMPO
Fuente: Roddy Peñafiel León

3.2.2 Reducción de Viscosidad y Densidad

Al agregar la enzima y romperse la cadena de almidón las características reológicas del sistema varían y la viscosidad y densidad cambia de un estado sólido y denso a un estado líquido y fluido, a continuación se presenta los datos de la variación:

ρ_1= m/v ρ_1=14.99g/10ml = 1.499 g/ml

ρ2= m/v ρ2=14.99g/ 11.10ml =1.350 g/ml

3.2.3 Porcentaje de Calcio y Fósforo

El calcio y fósforo se necesitan para dar una estabilidad enzimática y el rango está entre 50 y 100 ppm y están presente en el fosfato monocálcico que facilita la acción de la enzima al favorecer el medio donde se efectúa la reacción. A continuación se detalla los cálculos realizados para agregar fosfato monocálcico:

50 ppm = 0,05 gr /1000 gr

Peso de muestra= 557,9 gr

Cantidad de Fosfato Monocálcico agregado = 50 ppm

(557,9*0,05)/1000 = 0,028 gr de fosfato

0,028 gr de fosfato * 100= 2,8% de Fosfato Monocálcico

El análisis realizado en el espectrofotómetro a la muestra nos da una idea de cuanto aporta el fosfato monocálcico con calcio y fósforo para la estabilización de la enzima:

Concentración de calcio = 10.5 mg/l

Concentración de fósforo = 60 mg/l

3.2.4 Corrección y Estabilización de pH

Las levaduras que se necesitan para la fermentación trabajar con un pH que va desde el 4.5 a 5.3 mientras que la enzima trabaja con un pH óptimo de 5.5 a 6 por lo tanto hay que adecuar al medio para crear las mejores condiciones para la sacarificación y fermentación.

Cabe recalcar que esta corrección y estabilización se la realiza agregando asimismo el fosfato monocálcico que actúa como solución buffer. A continuación se muestra los valores encontrados luego de corregir y estabilizar el pH.

pH inicial = 6.3

Luego de agregar 2,8% de fosfato monocálcico:

pH final= 5.6

3.3 Estudio Técnico en Etapa de Fermentación

Una vez encontrados los datos de la etapa de sacarificación luego de los experimentos, se procede a la siguiente etapa del experimento: la fermentación.

3.3.1 Diseño Experimental del Proceso de Fermentación

El proceso de fermentación en la obtención de alcohol etílico es una etapa en la cual tiene duración de varios días y va a depender de ciertos parámetros que pueden ser controlados durante todo el tiempo que dure esta etapa por lo cual se pueden variar estos factores para manejar los tiempos de fermentación lo cual produciría una variación en los costos de producción.

El objetivo del diseño de experimentos es trabajar con una combinación de ciertos factores para lograr el menor tiempo de fermentación de tal forma que se convierta en una medida en la reducción de costos de producción, es decir que luego del diseño experimental se podrán conocer los parámetros que me van a mejorar el tiempo en la parte del proceso deseado.

Para realizar el diseño de experimentos se debe considerar las limitaciones que puedan existir ya sea limitaciones de carácter tecnológico, económico además hay que considerar los factores que puedan ser incontrolables dentro del proceso.

Descripción Del Experimento

El experimento consistió en utilizar una cierta combinación de factores que determinen el menor tiempo de fermentación para la obtención de alcohol etílico. Para lo cual primero se procedió a la cocción del arroz con agua en una proporción de 1 a 5 respectivamente de tal forma que con alta temperatura se va degradando el almidón el cual es un carbohidrato de cadena larga, lo que se logra con esta temperatura es romper dicha cadena y formar la mayor cantidad de monocarbohidratos que son azúcares que sirven como nutrientes para las levaduras que durante su proceso metabólico producen alcohol etílico.

Luego se le añade la alfa amilasa la cual continúa rompiendo los enlaces del almidón por lo cual se reduce la viscosidad y densidad formándose un fluido que es filtrado y llevado a un par de botellas, luego se le agrega levadura del tipo SACHAROMICES CEREVICIAE previamente oxigenada e hidratada y se agrega y se las mantiene en

un par de botellas, una de las cuales es grande y se deposita el líquido posee un tapón con un par de agujeros que poseen unas mangueras en uno sale el CO_2 que se produce y por la otra manguera se puede obtener el producto para su respectivo muestreo mientras que la otra botella posee agua estéril y tiene 2 orificios con mangueras en una entra el CO_2 el cual se combina con el agua para formar ácido carbónico mientras que por el otro ducto se puede obtener esta combinación para su respectivo muestreo de acidez. Luego se agrega la levadura y se sella para esperar el tiempo de fermentación. Ver apéndice K1.

Factores escogidos que afectan el tiempo de fermentación

3 factores que afectan en el tiempo de fermentación fueron escogidos para el diseño de experimentos y son mencionados y detallados a continuación:

1. Temperatura.- Las levaduras se desarrollan bajo ciertas condiciones de temperatura que a veces resulta ser favorable o adversas por lo que asimismo su metabolismo aumenta o disminuye de acuerdo a este factor, las temperaturas utilizadas en el proceso fueron:

20^0C; se toma como referencia esta temperatura debido a que los conceptos sobre grados alcohólicos volumétricos se definen bajo esta temperatura. Tenemos 2 definiciones sobre grados alcohólicos

a) **Grado alcohólico volumétrico adquirido.-** es el número de volúmenes de alcohol puro a la temperatura de 20 ^{0}C contenidos en 100 volúmenes del producto considerado a dicha temperatura.

b) **Grado alcohólico volumétrico en potencia.-** es el número de volúmenes de alcohol puro a la temperatura de 20 ^{0}C que pueden obtenerse por fermentación total de los azúcares contenidos en 100 volúmenes del producto considerados a dicha temperatura.

30^0C; definida la temperatura anterior se desea aumentar la temperatura mencionada ya que las reacciones bioquímicas aumentan o disminuyen proporcionalmente cada vez que se aumente o disminuya 10 ^{0}C

2. pH. - El pH es otro factor que influye en la membrana de las levaduras ya que desnaturaliza o inhibe la actividad de enzimas y moléculas de ADN, también afecta el estado iónico del microorganismo.

6.3 ; es el pH que posee la sustancia luego del cocimiento del arroz, es decir ligeramente ácida y no se corrige el valor para determinar el tiempo y grado alcohólico que se obtiene.

5.6; el pH que se obtiene luego de agregarle fosfato monocálcico en concentración de 0.1% para estabilizar la acción de la enzima dentro de este parámetro también se conocerán los valores que ayudarán a definir los estándares para la fermentación.

3. Hidratación de levadura.- un factor importante a considerar debido que la homeostasis de la levadura SACHAROMICES CEREVICIAE empieza con la hidratación ya que la levadura se la consigue generalmente en peso seco, por lo tanto tenemos dos condiciones:

Con hidratación; el proceso de fermentación comienza con levaduras adaptadas que toman volumen por la presencia de agua y están listas para el consumo de nutrientes en el proceso fermentativo.

Sin hidratación; las levaduras tendrán que someterse al equilibrio cuando se encuentren directamente frente a la presencia de los nutrientes y empezar con su adaptación al medio para luego continuar con su metabolismo.

Orden de las muestras:

MUESTRA # 1

- pH 6.3
- Hidratación levadura si
- Temperatura 30 ^{0}C

MUESTRA #2

- pH 6.3
- Hidratación de levadura no
- Temperatura 30 ^{0}C

MUESTRA # 3

- pH 6.3
- Hidratación levadura si
- temperatura 20 ^{0}C

MUESTRA #4

- pH 6.3
- Hidratación de levadura no
- Temperatura 20 ^{0}C

MUESTRA #5

- pH 5.6
- Hidratación de levadura si
- Temperatura 30 ^{0}C

MUESTRA #6

- pH 5.6
- Hidratación de levadura no
- Temperatura 30 ^{0}C

MUESTRA #7

- pH 5.6
- Hidratación de levadura no
- Temperatura 20 ^{0}C

MUESTRA #8

- pH 5.6
- Hidratación de levadura si
- Temperatura 20 ^{0}C

3.3.1.1 Materiales y Reactivos para el proceso de fermentación

Los materiales y reactivos que se utilizan para el proceso de fermentación son los siguientes:

- Muestra (arroz sacarificado y filtrado)
- Levadura SACHAROMICES CEREVICIAE
- Botellas de vidrio
- Tapones
- Balanza
- Algodón
- Agua destilada
- Fiola (250ml)
- Beaker (500ml)

3.3.1.2 Procedimiento de la Fermentación

El primer paso antes de la fermentación en sí es la hidratación de la levadura SACHAROMICES CEREVICIAE para optimizar la producción de etanol. Para lo cual se deben tomar 11 gramos de levadura en 150 cm^3 de agua destilada a temperatura de 30-35 ^0C.

Con el cuidado de no revolver ni agitar, una vez transformada en crema, eso lleva de 15 a 30 minutos. Ir agitando cuidadosamente durante unos 30 minutos para su oxigenación.

El proceso de fermentación se empieza agregando la muestra en el botellón (500ml), luego agregar la levadura prehidratada (1g/l) y sellar con los tapones los cuales poseen 2 aberturas por los cuales pasan los ductos, un ducto es para la evacuación del gas que se produce en el proceso y la otra para retirar la muestra para el análisis durante toda la etapa. Otra botella más pequeña recibe el ducto donde evacua el gas y debe tener agua (200ml) para que el gas (CO_2) pueda mezclarse y sea medido. Ir tomando las mediciones de densidad, acidez y microbiológicos hasta que el proceso finalice en el cual la más fácil muestra de haber culminado el proceso es cuando no existe variación de densidad.

3.3.1.3 Análisis de Resultados

Este diseño de experimentos de acuerdo a los factores escogidos en base a la experimentación y añadir los resultados al programa computarizado de minitab arroja los siguientes resultados:

Least Squares Means for dias

Temperatura	**Mean**
20	21,00
30	18,00
pH	
5,600	17,75
6,300	21,25
Hidratación	
Sin hidratación	20,50
Con hidratación	18,50

Estos resultados arrojados por el programa da la media de uno de los factores que han sido escogidos y nos puede servir para determinar el mejor valor factor, esto lo arroja el análisis de varianza del experimento.

3.3.2 Producción de Alcohol versus tiempo y temperatura

Luego de realizar con las diferentes muestras y al haber elegido la muestra óptima se obtiene la producción de etanol final durante la fermentación.

Tiempo = 25 horas

^{0}GL = 2%

Temperatura =30 ^{0}C

Determinación de los grados GAY LUSSAC

Equipos y materiales:

- Microdestilador
- Densímetro digital DMA 48
- Matraz volumétrico capacidad 50 ml
- Tubo de ensayo de 25 ml con tapa
- Pipeta 25 ml

Procedimiento:

- Colocar 25 ml de muestra de mosto fermentado en un tubo de ensayo cerrado.
- Agitar por algunos segundos abriendo la tapa para liberar el $C0_2$ (repetir esta operación 4 o 5 veces)

- La muestra agitada colocar en la copa de entrada de equipo, limpiar con agua destilada, cerrar la entrada.

- Acoplar un matraz volumétrico al final del condensador de modo que la punta de éste entre 2 o 3 centímetros en el balón.
- No dejar subir la espuma en el primer condensador de reflujo.
- Un poco antes de completar el llenado del matraz volumétrico (50 ml) retirar del condensador.
- Completar el volumen del matraz usando agua destilada.
- Para eliminar las pequeñas burbujas de la muestra destilada agitar el balón tapando con el dedo pulgar.
- Leer el porcentaje de alcohol en el densímetro digital DMA 48. Ver equipos en apéndices R1, S1.

Rendimiento de la Producción alcohólica:

Luego de la fermentación y de haber obtenido un contenido alcohólico como resultado de este proceso interviene el proceso de destilación debido a que se separan las fases de vapor con alcohol etílico y la fase de productos no deseados, por consiguiente hay una merma en el peso de entrada con respecto al peso de salida la formula para calcular el rendimiento alcohólico está dada de la siguiente manera:

Rendimiento etanólico =

(Volumen inicial del mosto x ^{0}GL inicial) / (^{0}GL final x eficiencia destilación x 0.9 de fracción etanólica)

Un ejemplo claro a nivel industrial es el que nos muestra una empresa productora de alcohol ecuatoriana a la cual ingresan 22000 litros de mosto fermentado con un grado alcohólico de 6% y se desea obtener un rendimiento etanólico final de 96% con eficiencia de las columnas destiladoras del 95%.

(22000 x 0.06) / (0.96x 0.95x 0.9) = 1320/0.820 = 1609. 7 litros de alcohol etílico al 96 %.

Esta fórmula es aplicada a todos los procesos de obtención alcohólica en los cuales se usa la destilación.

El proceso de micro destilación dura alrededor de 5 minutos luego de obtener en la fermentación un grado 2% de alcohol se obtiene el resultado final de 8% de alcohol etílico a partir de arroz.

En el caso de querer obtener un alcohol de grados Gay Lussac más puro se puede volver a redestilar la solución hasta llegar al grado alcohólico deseado.

Dilución Etanólica

Una de las maneras para encontrar la dilución a partir de alcoholes con alto grado alcohólico es la siguiente:

Dilución = Volumen (Lts) x fuerza de alcohol requerido x 1/ %GL inicial

A continuación se muestran algunas bebidas y sus concentraciones:

- Advokaat Licor amarillo de huevo 15%
- Brandy de alambique
- Ligeramente café 29%
- Benedictino café dorado licor hierbal 40%
- Licor de frambuesas Rojo 27%
- Crema de cacao café 25%
- Crema de cacao blanco 25%
- Brandy de cereza roja 25%
- Menta de coco Café 27%
- Cointreu banco 40%
- Cordial Mc.doc licor de frutas rojo 38%
- Crema de Plátano Amarillo claro 29%
- Crema de cassis Rojo fuerte 24%
- Curacao Café 40%

- Curacao Verde 34%
- Curacao Naranja 32%
- Chef naranja ligeramente café 40%
- Ensueño licor de whisky 40%
- Grand Marnierd Jaune ligeramente dorado 38%
- Grand Marnierd Rouge Café rojiso 38%
- Chartreasure verde licor herbal 55%
- Chartreasure Amarillo licor herbal 40%
- Licor de café Café 26%
- Kalua café oscuro 26%
- Kaptenlojtant licor suizo 40%
- Kloster licor licor suizo 43%
- Lakka frambuesas terminadas liq. 28%
- Licor 43 Licor dorado herbal 43%
- Mandarina Naranja 25%
- Marachino licor ligeramente Rosado 32%
- Amor pérfido Violeta 29%
- Pernod Liqorice 31%
- Slivovitz Brndi gris 30%
- Menta de pimienta blanca o verde 30%

- Peter Heering brande de cereza 24%
- Poire William Brande de pera 30%
- Polar Rojo 29%
- Royal triple sec Curacao blanco 39%
- Seve Fournier ligeramente café 39%
- Strega Amarillo 40%
- Tia Maria Café 31%
- Underberg 49%
- Angostura amarga 45%
- Fernet Branca 40%
- Campari 21%
- Ouzo Licorizado 40%
- Rikard Licorizado 31%

3.3.3 Producción de anhídrido carbónico y su Relación con el tiempo

Durante el proceso de fermentación, como se mencionó anteriormente existe producción de CO_2 el cual será evaluado a continuación, este gas incoloro e inodoro al mezclarse con el agua produce la siguiente reacción:

$$CO_2 + H_2O \longrightarrow H_2CO_3$$

Este ácido carbónico reduce el pH del agua. A medida que transcurren los dias de la fermentación el pH del agua que se experimentalmente se encuentra en la botella adjunta a la botella del recipiente fermentador irá reduciéndose hasta que finalmente finalice la producción de dióxido de carbono que forma durante la fermentación.

A continuación el peso del CO_2, ya que este va a generar un peso en el envase cerrado y por diferencia de pesos se obtiene el peso total del dióxido de carbono emanado durante la fermentación.

Peso 1= envase + agua

Peso 1= 314.3gr + 249.5gr = 563.8 gr

Peso 2= 564.55 gr

Peso de CO_2= peso 2 – peso 1= 564.55 – 563.8= 0.67 gr de CO_2 /250 ml

Y así sucesivamente hasta el último día de fermentación y obtener los resultados como se ve en el gráfico.

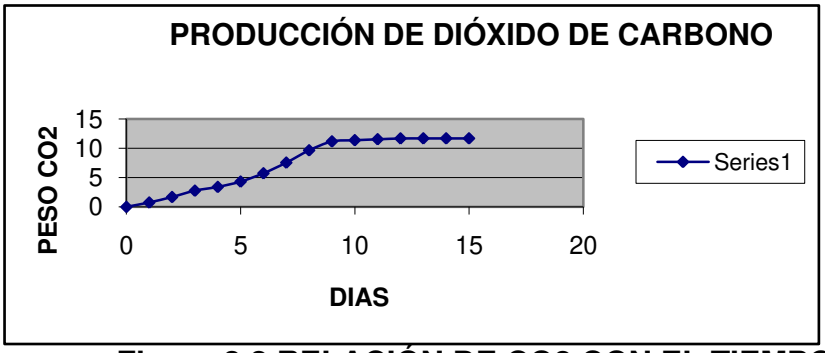


Figura 3.2 RELACIÓN DE CO2 CON EL TIEMPO

Fuente: Roddy Peñafiel León

3.3.4 Conteo Microbiológico de Levaduras Durante la Etapa de Fermentación

Existen cuatro etapas importantes durante el tiempo de permanencia de un microorganismo en un alimento estas son llamadas: a) fase de adaptación o fase LAG b) fase de crecimiento exponencial o fase LOG c) latencia d) muerte, tal como lo refleja el siguiente gráfico:

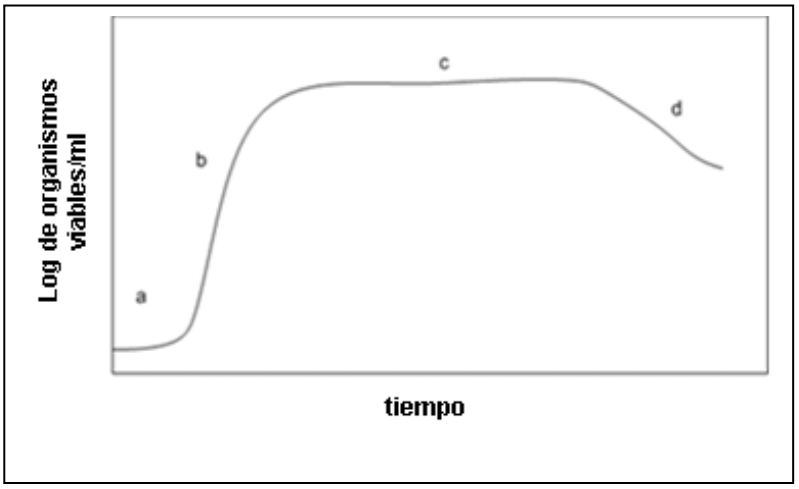


Figura 3.3 CURVA DE CRECIMIENTO MICROBIANO
Fuente:http://images.google.com.ec/imgres?imgurl=http://www.geocities.com/

Para el conteo de levaduras que existen en la muestra que se está fermentando se han desarrollado varias técnicas que hacen posible encontrar la cantidad aproximada de microorganismos presentes en la muestra. Dentro de los cuales encontramos:

- Contaje en Placa Standard (Standard Plate Count).
- Determinación del número más probable.
- Métodos basados en la reducción de colorantes por viables.
- Contaje microscópico directo.

Materiales y reactivos

- Área de trabajo bien ventilada con una densidad microbiana menor 1.5 gérmenes/placa
- Placas petri de vidrio
- Pipetas y absorbedores de pipetas
- Matraces para las diluciones
- Contenedores de pipetas y caja petri
- Baño termoregulado para mantener los agares a 45 ^{0}C +/- 1°C
- Muestra
- Asa de siembra
- Microscopio

Equipos

- Autoclave para esterilización
- Stomacher
- Incubadora
- Agua de peptona 0.1%

Procedimiento:

Tomar una muestra de 1 ml y colocar 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 ultima 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 ^{0}C aproximadamente de 24 a 48 horas. Finalmente ver las placas, contar y observar los resultados. Equipos y gráficos de muestras ver apéndices L1, M1, N1, O1, P1.

CAPÍTULO 4

4. ESTUDIO DE FACTIBILIDAD ECONÓMICA

4.1 Ingresos

En esta sección se revisan los ingresos que puede generar el alcohol etílico de acuerdo a la producción diaria.

4.1.1 Ingresos por ventas

La producción nacional de alcohol etílico se detalla a continuación:

	1999	2000	2001	2002	2003
Total consumo en litros	11,102,989	20,945,300	10,165,399	9,281,546	9,260,471
Exportaciones en litros		13,908,849	11,140,076	12,941,217	14,730,281
Consumo más exportaciones			21,305,475	22,222,763	23,990,752
Crecimiento de exportaciones 2001 a 2003					9.76%
Crecimiento de exportaciones en el último año					12.11%
Crecimiento de la producción 2001 a 2003					4.04%

Fuente: Instituto Nacional de Estadísticas y Censos, y Banco Central del Ecuador.
Elaboración: ALDIR CÍA. LTDA.

También se debe tomar en cuenta la capacidad instalada para la producción nacional de alcohol etílico, La capacidad instalada del sector bordearía los 160.000 litros diarios, lo que determina una capacidad normal de 47'107.000 litros al año (en función de una tasa de eficiencia razonable y de los días efectivos trabajados en el año).

La producción y ventas de la industria alcoholera de los años 2004 y 2005 estaría bordeando (y rebasando) esa cifra, según informaciones de otras entidades del Estado, como aparece en el cuadro que se presenta a continuación.

PRODUCCIÓN Y VENTAS DE LA INDUSTRIA ALCOHOLERA

Año	Ventas en dólares	Ventas en litros	Producción promedio diaria en litros
2004	21,439,600	45,616,170	134,165
2005	23,577,400	49,636,632	145,990

Elaboración: ALDIR CÍA. LTDA.

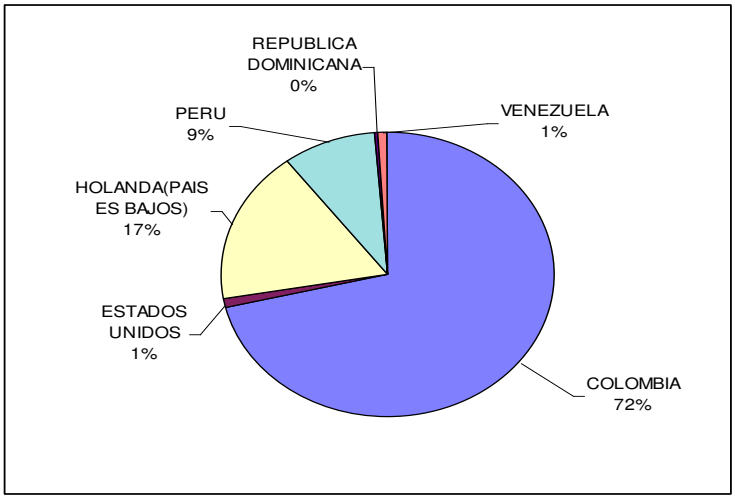


Figura 4.1 PRINCIPALES PAISES DE DESTINO DE LAS EXPORTACIONES ECUATORIANAS DE ALCOHOLEN2005

Fuente: Banco Central del Ecuador
Elaboración: ALDIR CÍA. LTDA.

Se desea captar un mercado del 8% de la producción alcoholera para lo cual se requieren aproximadamente 12000 litros mensuales, lo cual nos da una producción diaria de 400 litros.

4.2 Costos de producción

Para definir el costo total de producción se tiene que calcular los costos directos de fabricación estos incluyen la materia prima directa y la mano de obra directa, más los costos indirectos de fabricación, tal como lo describe el siguiente cuadro:

Costo de Producción	Costo/dia	Costo/mes	Costo/año
Materia Prima Directa	$ 1,67	$ 50,12	$ 601,44
Mano de Obra Directa	$ 21,29	$ 638,83	$ 6.853,01
Costos Indirectos	$ 199,10	$ 5.169,09	$ 62.080,08
TOTAL	**$ 222,07**	**$ 5.858,04**	**$ 69.534,53**

Costo Unitario	Costo Total / Unidades Producidas
Costo Total	$ 69.534,53
Unidades Producidas	129032
Costo litro Alcohol Etílico	$ 0,54

4.2.1 Costo de Materia Prima Directa

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

MATERIA PRIMA							
COMPONENTES	Batch (Kg)	400					
	(Kg)	(%)	Costo / kg ($)	Costo/Batch	COSTO/DIA	COSTO/MES	COSTO/AÑO
AGUA	329,6	82,400%	0,001	0,001	0,01	0,20	2,37
ARROZ	65,96	16,490%	0,15	0,025	0,19788	5,9364	71,2368
BAN 800 MG	0,4	0,100%	123,2	0,123	0,9856	29,568	354,816
FOSFATO MONOCALCICO	0,02	0,005%	1,5	0,0001	0,0006	0,018	0,216
LEVADURA	4	1,000%	6	0,060	0,48	14,4	172,8
TOTAL	**400**	**100,00%**	**130,851**	**0,209**	**1,67**	**50,12016**	**601,4**

COSTOS	
# ENVASES / BATCH	358

Fuente: Roddy Peñafiel León

4.2.2 Costo de Mano de Obra Directa

En el siguiente cuadro se muestra el costo por operario con su respectiva remuneración y los beneficios de ley:

Obreros	Obrero		Total	
3	Mensual	Anual	Mensual	Anual
Salario	$ 150,00	$ 1.800,00	$ 450,00	$ 5.400,00
Compensaciones	$ 1,33	$ 16,00	$ 4,00	$ 48,00
Bono Navideño (13ro)	$ 13,33	$ 13,33	$ 40,00	$ 40,00
Bono Escolar (14to)	$ 11,30	$ 11,30	$ 33,91	$ 33,91
Vacaciones	$ 6,25	$ 75,00	$ 18,75	$ 225,00
Fondo de reserva	$ 12,50	$ 150,00	$ 37,50	$ 450,00
Aportes patronales	$ 18,23	$ 218,70	$ 54,68	$ 656,10
Total	$ 212,94	$ 2.284,34	$ 638,83	$ 6.853,01
TOTAL				$ 6.853,01

Fuente: Roddy Peñafiel León

4.2.3 Costos Indirectos de Fabricación

Dentro de estos costos incluimos los materiales que no se agregan directamente para la elaboración el alcohol etílico pero que son usados indirectamente y se muestran en el siguiente cuadro:

Materiales	Cantidad/ Batch	Precio	Costo/ Batch	Costo/ Dia	Costo/mes	Costo/año
ENVASES	358	$ 0,06	21,51	172,04	5161,29	61935,48
GUANTES cajas	3	2	6	----	6	72
MANDILES fundas	3	8	24	----	----	24
BOTAS (Fundas)	3	9	27	27	----	27
COFIAS (Fundas)	3	0,02	0,06	0,06	1,8	21,6
TOTAL				**199,10**	**5169,09**	**62080,08**

Fuente: Roddy Peñafiel León

4.3 Inversiones

Referente a las inversiones del proyecto se debe tomar en cuenta del terreno donde se ubica la planta procesadora de etanol y los equipos que se utilicen para su obtención.

4.3.1 Costo del terreno

Un terreno de 1970 metros cuadrados construido en la vía a Daule tiene un costo de $60413,60 dólares americanos.

4.3.2 Costo de Equipos y Maquinaria

A continuación se detallan los precios de los equipos que se usan para la obtención de alcohol etílico además de su principal característica.

DESCRIPCION	COSTO	CANTIDAD	COSTO TOTAL
MARMITA CAP.40 GALONES	$ 1.500	1	$ 1.500
TANQUE FERMENTADOR ACERO INOXIDABLE CAP.440 LT	$ 450	1	$ 450
MESAS DE TRABAJO	$ 780	2	$ 1.560
MOLINO DE RODILLOS	$ 3.780	1	$ 3.780
CALDERA	$ 4.000	1	$ 4.000
BOMBA DE ACERO INOXIDABLE CENTRIFUGA 1/2 hp	$ 1.060	1	1060
FILTRO DE PLACA POR BOMBA 250 Lts./ HORA 6 PLACAS	$ 1.165	1	$ 1.165
ENFRIADOR CONTRACORRIENTE DOBLE BATCH DE HASTA 430Lts	$ 465	1	$ 465
COLUMNA DESTILADORA 250 Lts	$ 12.200	2	$ 24.400
TANQUE ACERO INOXIDABLE AISI 304 270 LITROS	$ 1.050	2	$ 2.100,00
TOTAL EQUIPOS			$ 40.480

CAPÍTULO 5

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Proceso de Sacarificación

En el proceso de sacarificación mediante aplicación enzimática se obtiene que en 12 horas luego de haber aplicado la enzima a la solución finalmente obtiene 14 grados Brix, del cual obtenemos el cuadro de producción de sólidos solubles.

Producción de sólidos solubles

HORAS	GRADOS BRIX
0	4
2	6
4	8
6	10
8	11
10	13
12	14

Fuente: Roddy Peñafiel León

Proceso de Fermentación

De acuerdo a la variación de densidad, se puede demostrar en cuales los procesos metabólicos de las levaduras van de acuerdo a los parámetros establecidos de pH, temperatura y la hidratación. Tal como se muestra en el siguiente cuadro:

Variación de Densidades

DIAS			MUESTRAS				
	1	2	3	4	5	6	7
1	1,351	1,351	1,351	1,351	1,351	1,351	1,351
2	1,332	1,351	1,348	1,351	1,347	1,351	1,351
3	1,332	1,351	1,336	1,351	1,323	1,342	1,351
4	1,317	1,342	1,315	1,345	1,308	1,329	1,34
5	1,298	1,328	1,309	1,34	1,282	1,307	1,325
6	1,274	1,31	1,309	1,327	1,257	1,274	1,308
7	1,265	1,298	1,291	1,316	1,224	1,246	1,287
8	1,253	1,285	1,272	1,301	1,156	1,203	1,273
9	1,228	1,269	1,259	1,293	1,129	1,175	1,256
10	1,217	1,243	1,225	1,274	1,097	1,144	1,231
11	1,17	1,221	1,197	1,265	1,068	1,116	1,217
12	1,149	1,192	1,174	1,246	1,031	1,083	1,198
13	1,123	1,18	1,159	1,221	1,015	1,072	1,176
14	1,084	1,167	1,138	1,199	0,995	1,041	1,164
15	1,054	1,146	1,114	1,178	0,986	1,02	1,141
16	1,048	1,112	1,086	1,162	0,986	0,998	1,123
17	1,032	1,085	1,051	1,143	0,986	0,987	1,092
18	1	1,064	1,046	1,125	0,986	0,987	1,078
19	0,989	1,032	1,027	1,11	0,986	0,987	1,056
20	0,989	1,023	1,01	1,082	0,986	0,987	1,037
21	0,989	0,988	0,99	1,056	0,986	0,987	0,986
22	0,989	0,988	0,989	1,023	0,986	0,987	0,986
23	0,989	0,988	0,989	0,989	0,986	0,987	0,986
24	0,989	0,988	0,989	0,989	0,986	0,987	0,986

Fuente: Roddy Peñafiel León

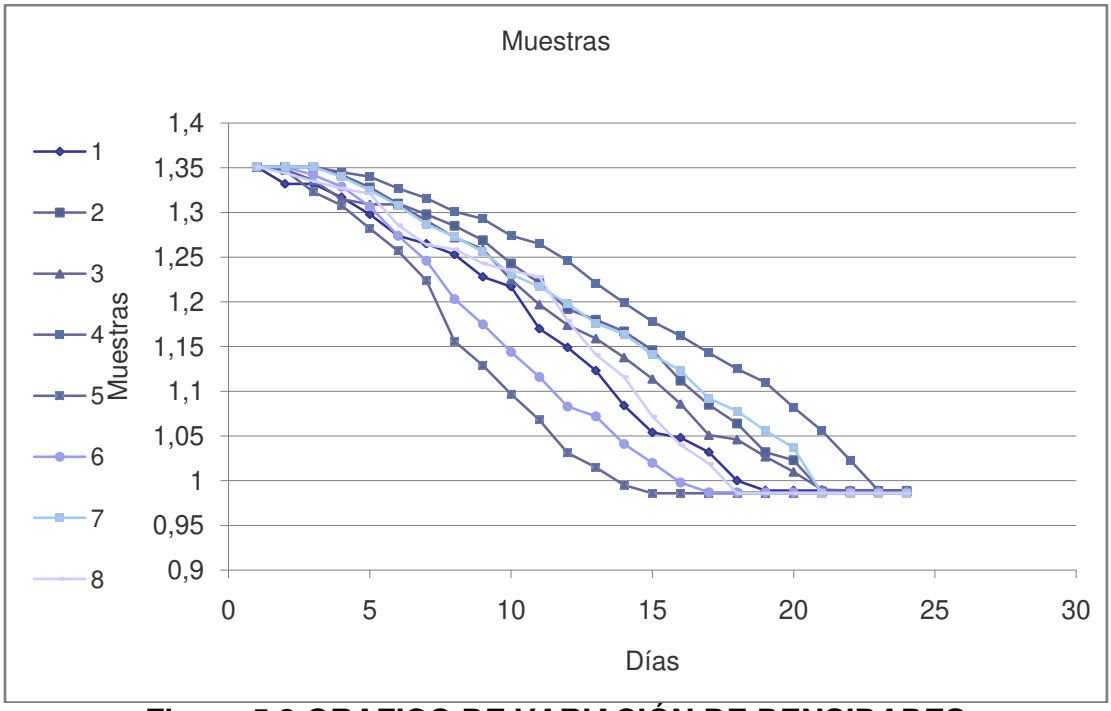


Figura 5.3 GRAFICO DE VARIACIÓN DE DENSIDADES
Fuente: Roddy Peñafiel León

Resultados finales con respecto a la variación del tiempo

En este cuadro podemos observar la variación de la densidad, el consumo de azúcares. El resultado final es una muestra con densidad 0,896 que se obtiene durante el proceso fermentativo y de destilación.

Variación de Densidad y Grados Brix con el Tiempo

DIAS	DENSIDAD	GRADOS BRIX
1	1,351	14
2	1,347	14
3	1,323	13
4	1,308	13
5	1,282	13
6	1,257	12
7	1,224	12
8	1,156	11
9	1,129	10
10	1,097	9
11	1,068	8
12	1,031	7
13	1,015	6
14	0,995	5
15	0,986	5

Fuente: Roddy Peñafiel León

Producción de CO_2 y su relación con el tiempo

El dióxido producido por las levaduras al consumir los azúcares fermentables fue medido dando un resultado final de 11.7 gramos/250 ml de agua después de los 15 días del proceso fermentativo como muestra el siguiente cuadro.

Variación de Pesos de CO_2 Respecto al Tiempo

DÍA	PESOS (gr)	PESO CO_2 (gr)
0	0	0
1	564,55	0,75
2	565,49	1,69
3	566,57	2,77
4	567,21	3,41
5	568,12	4,32
6	569,54	5,74
7	571,36	7,56
8	573,46	9,66
9	574,98	11,18
10	575,19	11,39
11	575,35	11,55
12	575,49	11,69
13	575,5	11,7
14	575,5	11,7
15	575,5	11,7

Fuente: Roddy Peñafiel León

Análisis microbiológico

Respecto al conteo microbiológico el resultado al 9no día fue el siguiente:

DISOLUCIÓN	10 -1	10-2	10-3
NUMERO M.O.	1220	150	10

Fuente: Roddy Peñafiel León

CAPÍTULO 6

6. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CONCLUSIONES

- La producción de arroz a nivel nacional genera cantidades considerables de arrocillo las cuales pueden ser aprovechadas de manera integral como materia prima para la elaboración de alcohol etílico.

- Con los resultados obtenidos experimentalmente en este proyecto se puede comenzar a manejar producciones a escala dependiendo el mercado que se desea captar.

- En el proceso de sacarificación es importante tomar en cuenta la licuefacción del almidón el cual se realiza a 70^0C y un día de estabilización a 60^0C y de esta forma obtener los azúcares fermentables deseados.

- El estudio de este proyecto implicó diversos estudios investigativos y análisis experimentales y científicos que se aprendieron durante el transcurso de la formación universitaria, lo cual resultó un apoyo fundamental en la realización del trabajo investigativo.

- El costo de producción del alcohol etílico al 8% es de $0.54 el litro.

- Definitivamente una alternativa en la producción de alcohol etílico que puede ser usado a nivel industrial ya sea con aplicaciones de tipo química, farmacéutica o alimenticia es el obtenido de a partir de la oryza sativa que lo encontramos en todos los lugares de nuestro país y conocido comúnmente como arroz.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda que durante el proceso de sacarificación y fermentación se proceda a trabajar con buenas prácticas de manufactura, de esta manera se evita la contaminación microbiológica que produzca merma en producción de etanol.

- Mantener las condiciones anaerobias y las condiciones obtenidas experimentalmente en el proceso de fermentación para evitar la baja producción de alcohol etílico.

- Una de las formas para disminuir los costos de inversión inicial es comprando equipos usados y en buen estado.

- Se recomienda mantener las condiciones de asepsia en el proceso de toma de muestras para evitar una desviación de los resultados que se obtienen.

- Es recomendable agregar agua para disminuir la temperatura durante la fermentación debido a que al aumentar el grado alcohólico en esta etapa aumenta la temperatura y a los 40 ^{0}C mueren estos microorganismos.

Apéndices

APÉNDICE A

Propiedades nutricionales

Composición del arroz blanco y del arroz integral por cada 100 gr.		
	Arroz integral cocido	**Arroz blanco cocido**
Agua	73 g	68,6 g
Energía	351 Kcal	360 Kcal
Grasa	1,9 g	0,2 g
Proteína	7,2 g	7 g
Hidratos de carbono	77 g	76 g
Fibra	0,9 g	0,1 g
Potasio	99 mg	54 mg
Sodio	8 mg	2 mg
Fósforo	120 mg	54 mg
Calcio	10 mg	3 mg
Magnesio	43 mg	13 mg
Hierro	1,6 mg	0,4 mg
Zinc	0,63 mg	0, 42 mg
Selenio	9,8 mg	7,5 mg
Vitamina C	0 mg	0
Vitamina B1	0, 3 mg	0, 09 mg
Vitamina B2	0, 05 mg	0, 03 mg
Vitamina B6	0, 14 mg	0, 05 mg
Vitamina A	0	0
Vitamina E	0, 21 mg	0
Folacina	4 mcg	2 mcg
Niacina	4,7 mg	1,4

Fuente: www.botanical-online.com

APÉNDICE B

Producción de Arroz por Provincias

PROVINCIA	ÁREA SEMBRADA (HAS.)	ÁREA PERDIDA (HAS.)	ÁREA COSECHADA (HAS.)	REND. ESTIM. (T.M)
GUAYAS	94840	6156	88684	3,8
LOS RÍOS	113103	1399	111704	2,26
MANABÍ	16897	5069	11828	2,5
ESMERALDAS	2077	140	1937	3,18
BOLÍVAR	1553	0	1553	2,27
LOJA	600	0	600	7,27
OTRAS	9439	320	9,119	2,79
TOTAL	**238509**	**13084**	**216315,119**	**3,4**

FUENTE: MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA
ELABORADO POR: ING. AGR. ROOSVELT IDROVO

APÉNDICE C

Producción de Arroz en Guayas

CANTÓN	ÁREA SEMBRADA (HAS.)	REND. ESTIM. (T.M)	PRODUCCIÓN ARROZ CÁSCARA SECO/LIMPIO T.M.	PRODUCCIÓN ARROZ PILADO -QQ.
BALZAR	5780	3,89	15083,52	209057,52
COLIMES	7790	3,26	19930,01	276229,96
DAULE	50220	4,66	180733,78	2´504970
EL EMPALME	1960	2,49	3923,74	54382,98
EL TRIUNFO	2970	4,06	9669,32	134016,79
ELOY ALFARO	4180	4,42	14821	205420,87
BUCAY	60	2,4	115,55	1061,46
GUAYAQUIL	1565	3,77	4737,57	65662,72
JUJAN	9145	3,42	25067,38	347433,85
LOMAS DE SARGENTILLO	530	2,8	1190,76	16503,96
MARCELINO MARIDUEÑA	680	2,8	1527,77	21174,89
MILAGRO	910	2,87	20959,07	29037,62
NARANJAL	12120	3,47	33780,24	468194,09
NARANJITO	350	2,8	786,35	10898,84
NOBOL	3860	4,22	13076,31	181237,68
PALESTINA	5995	4,16	16077,91	222839,88
PEDRO CARBO	320	3	770,3	10676,41
SALITRE	13350	3,13	27852,27	386032,42
SAMBORONDÓN	16870	3,24	16442,78	521769,11
SANTA LUCÍA	22850	4,45	79540,31	1102428,66
SIMÓN BOLÍVAR	6320	3,24	16442,78	227896,94
YAGUACHI	18650	3,38	48655,3	674365,65

FUENTE: MINISTERIO DE AGRICULTURA Y GANADERÍA
ELABORADO POR: ING. AGR. ROOSVELT IDROVO

APÉNDICE D

Cadena de Almidón

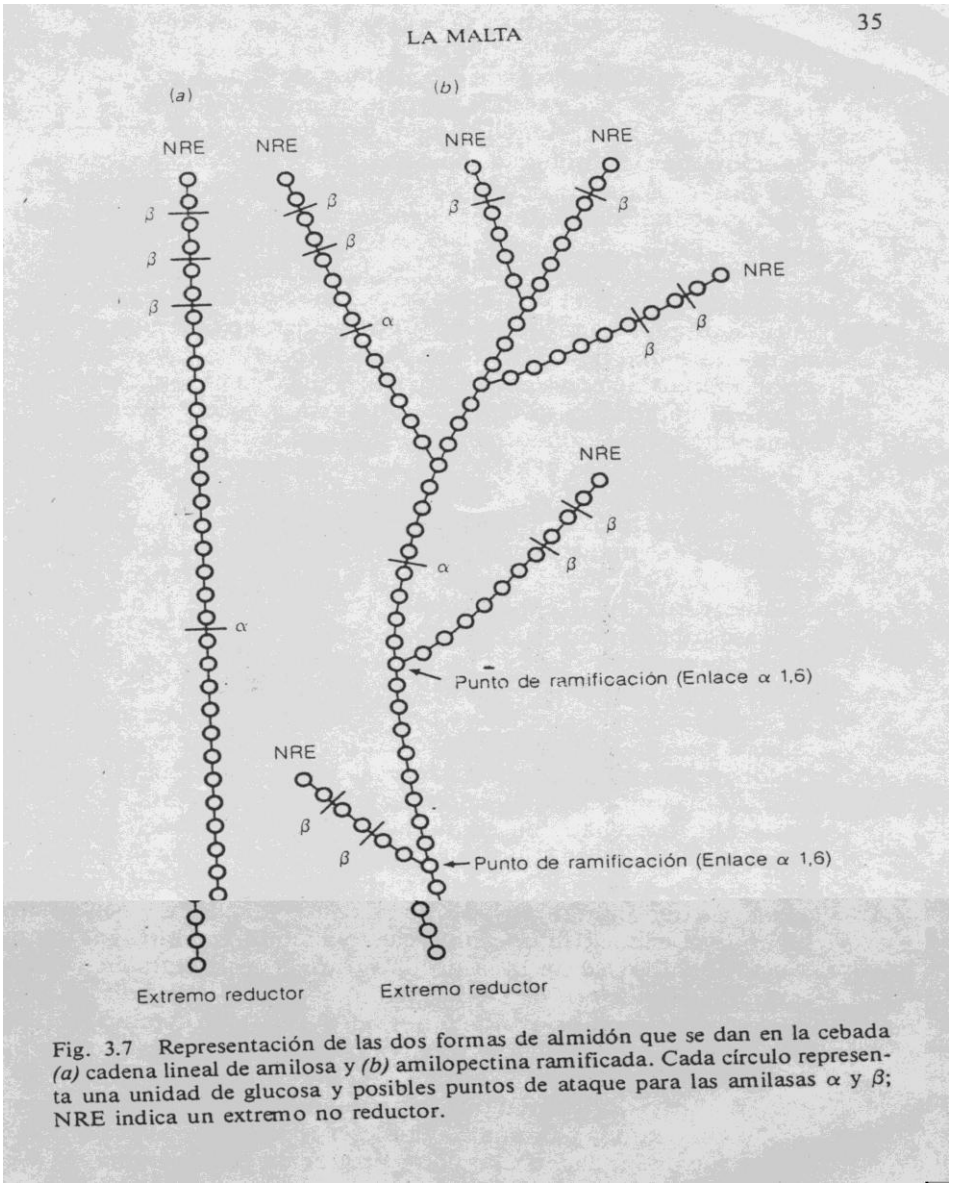
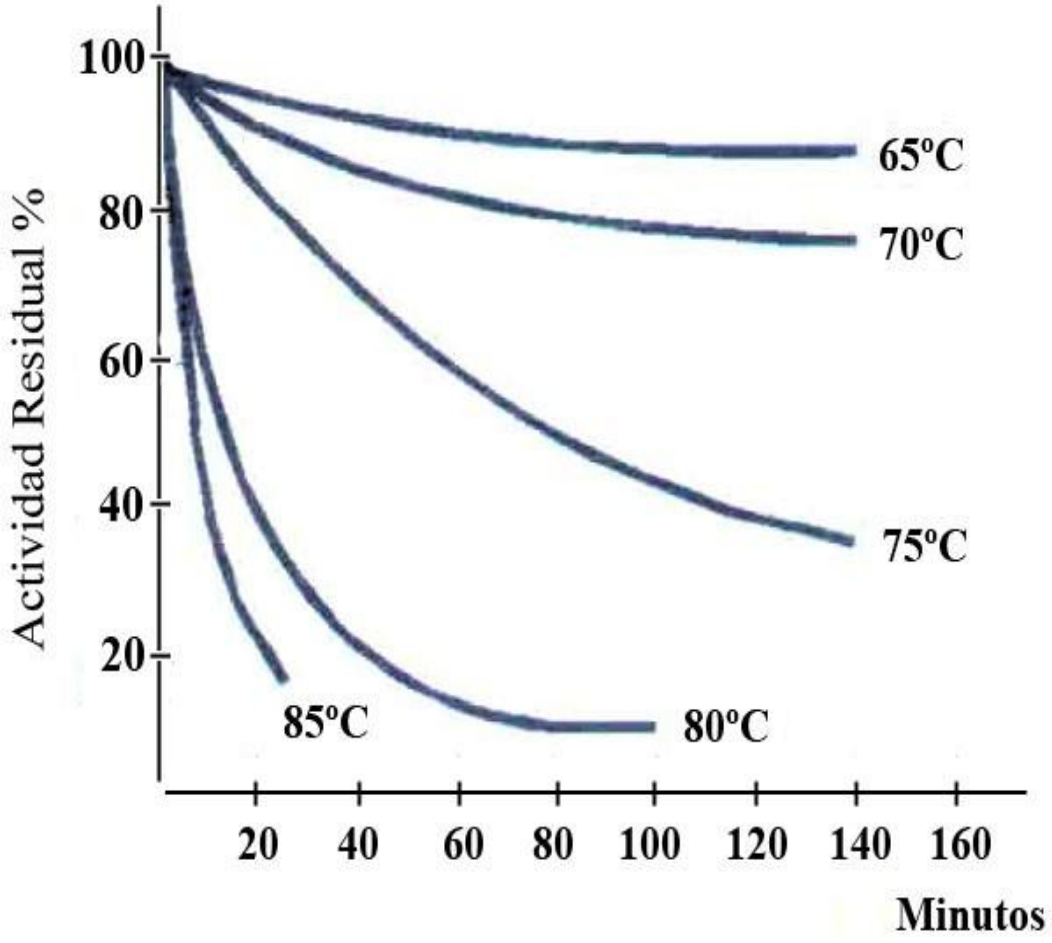


Fig. 3.7 Representación de las dos formas de almidón que se dan en la cebada *(a)* cadena lineal de amilosa y *(b)* amilopectina ramificada. Cada círculo representa una unidad de glucosa y posibles puntos de ataque para las amilasas α y β; NRE indica un extremo no reductor.

Fuente: Biotecnología de la Cerveza y la Malta

APÉNDICE E

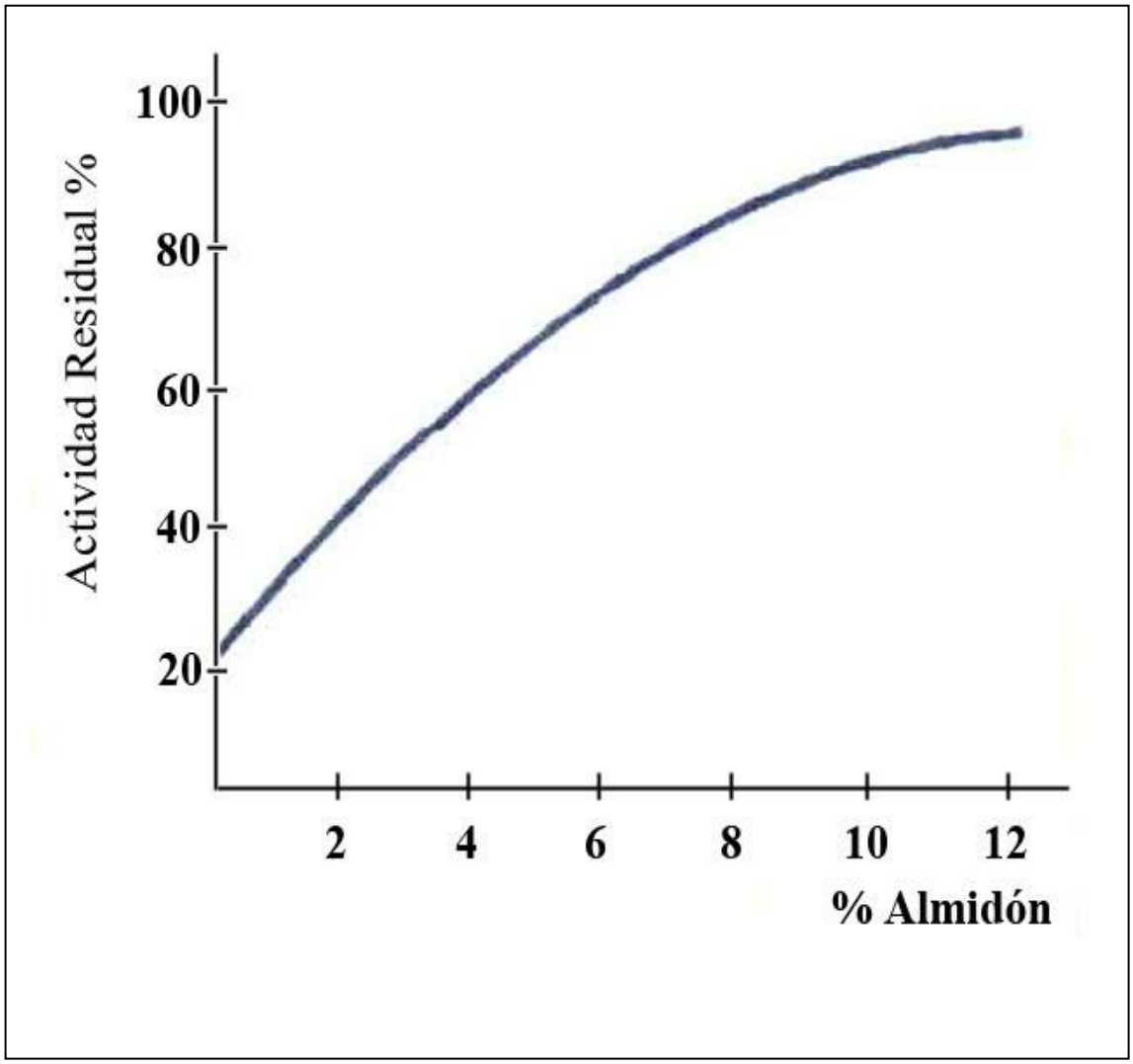
Actividad de la Enzima en Relación con el tiempo y Temperatura



Fuente: GRANOTEC S.A.

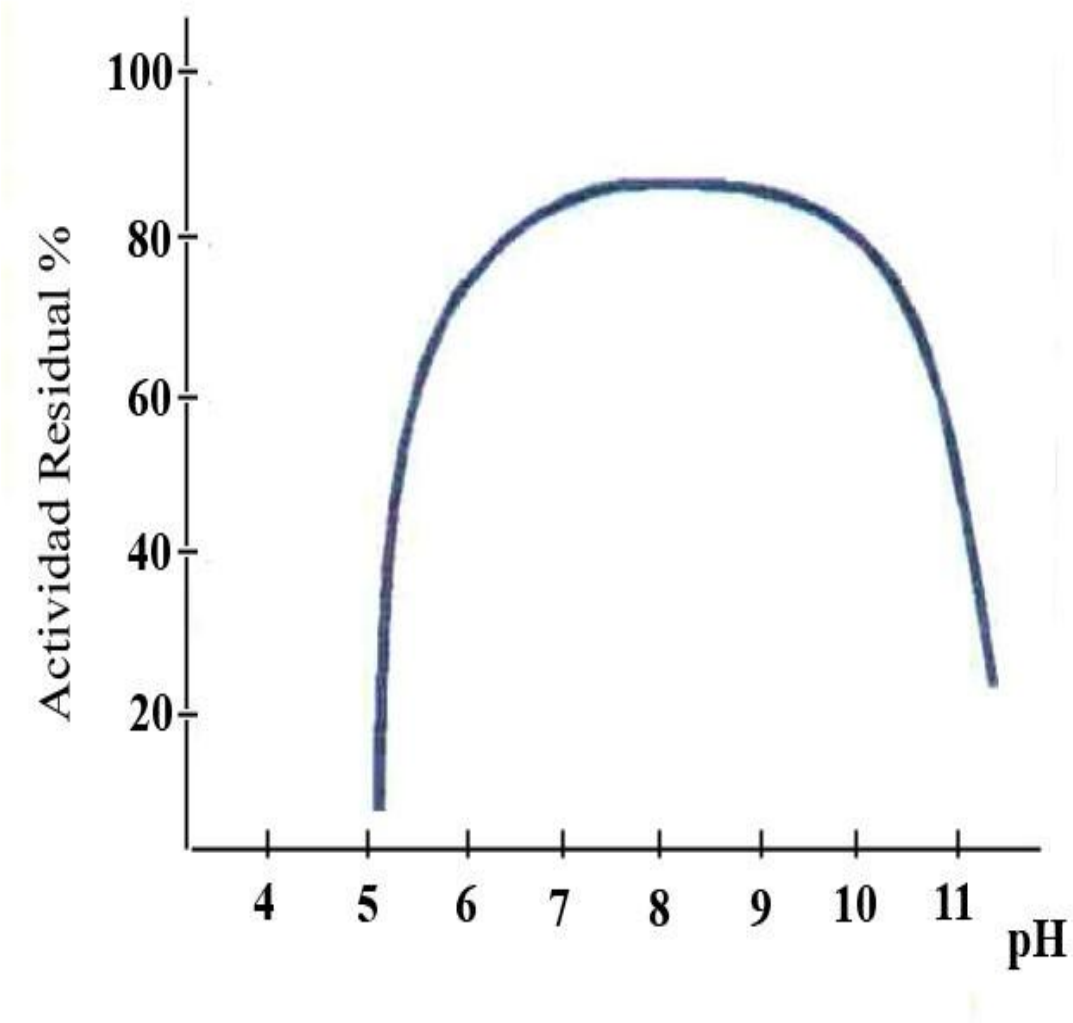
APÉNDICE F

Actividad Enzimática versus Concentración de Almidón



Fuente: GRANOTEC S.A.

APÉNDICE G

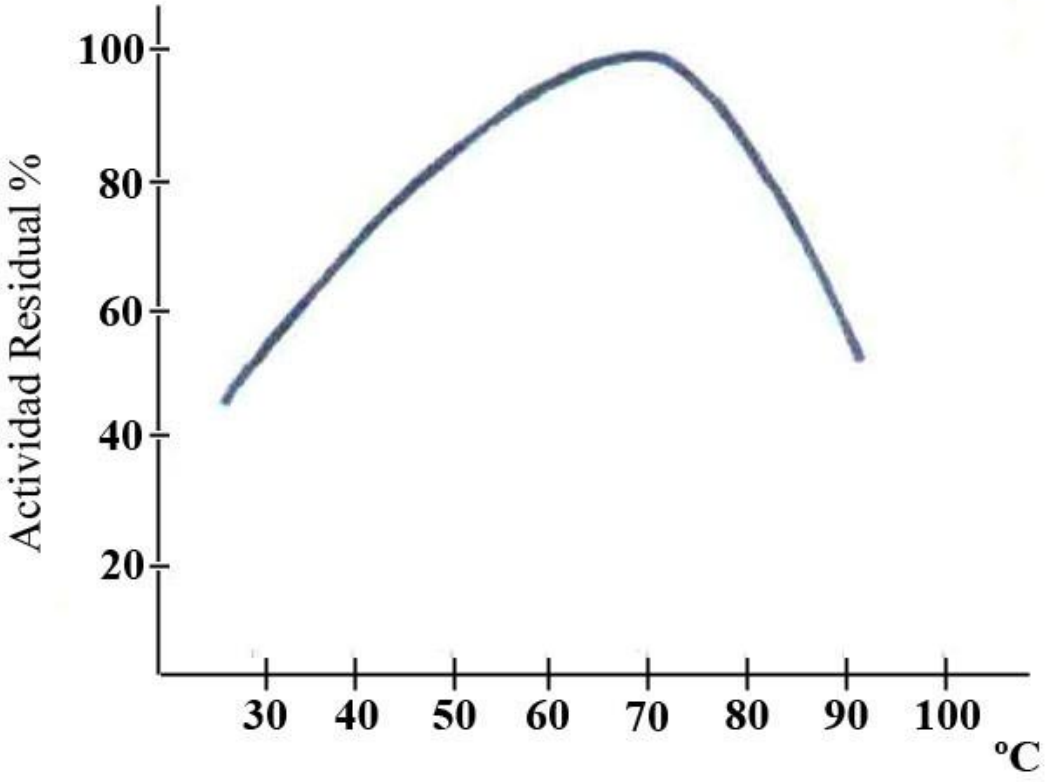


Actividad de la Enzima con Respecto al pH

Fuente: GRANOTEC S.A.

APÉNDICE H

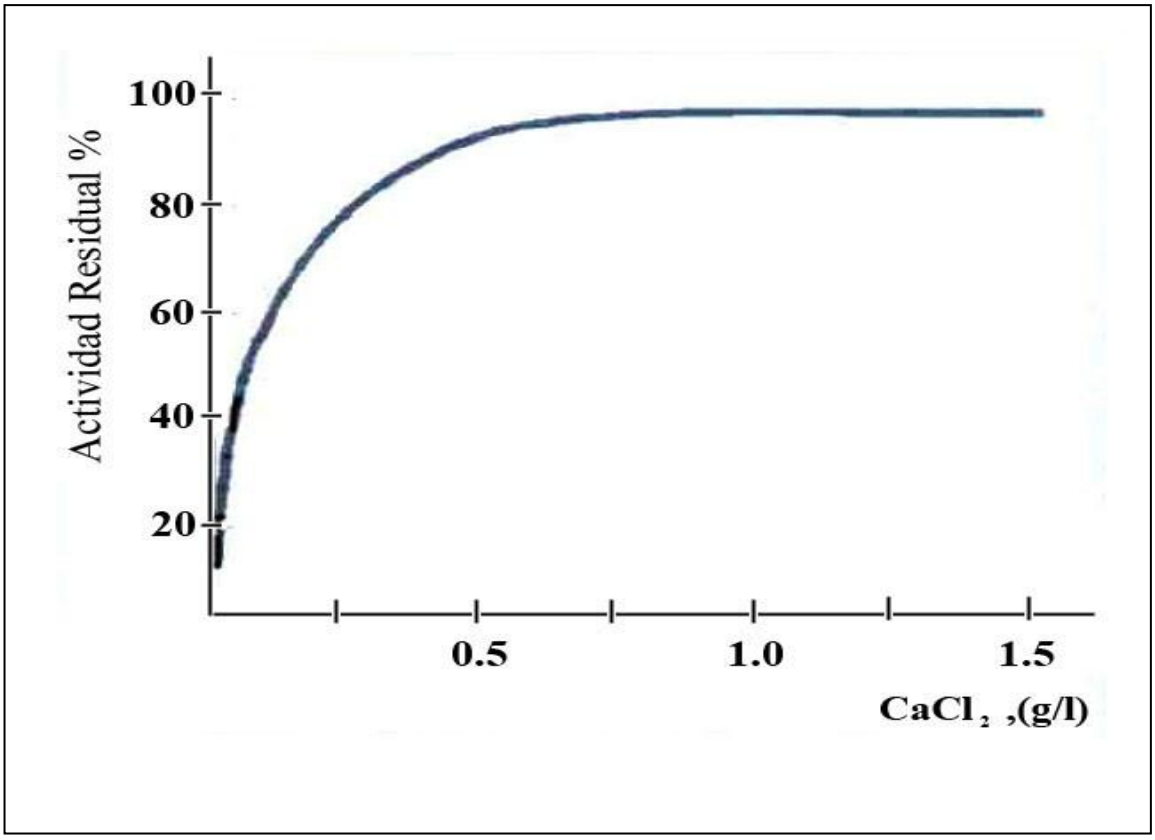
Actividad Enzimática con Respecto a la Temperatura



Fuente: GRANOTEC S.A.

APÉNDICE I

Actividad de la Enzima Respecto la concentración de Calcio



Fuente: GRANOTEC S.A.

APÉNDICE J

Diagrama de una Levadura

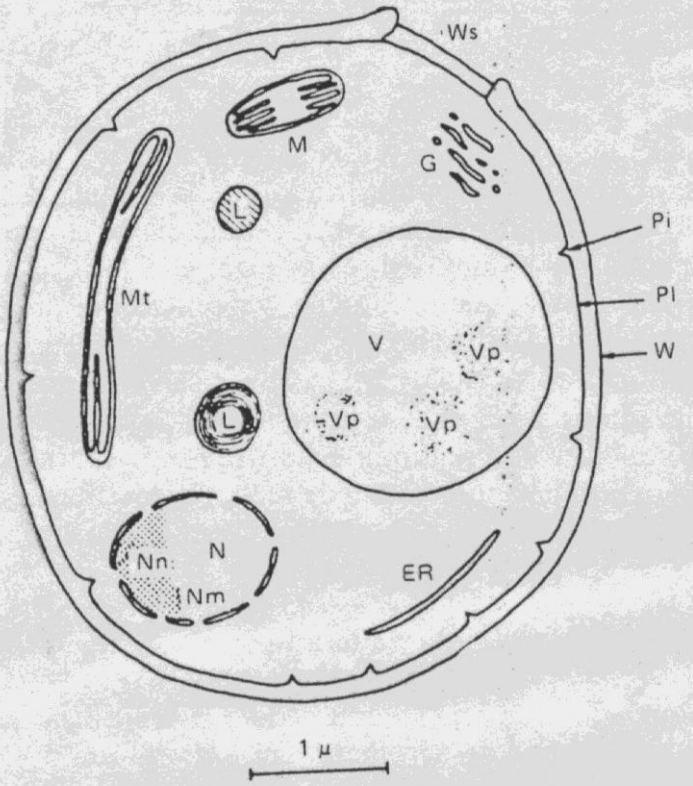


Fig. 7.2 Diagrama de una electronografía de la sección transversal de una célula en reposo de levadura de panaderos *(Saccharomyces cerevisiae)*. ER, retículo endoplásmico; M, mitocondrias; N, núcleo; Nm, membrana nuclear; Nn, nucléolo; Pi, invaginación; Pl, plasmalema; V, vacuola; Vp, gránulo de polimetafosfato; W, pared celular; Ws, cicatriz de gemación; L gránulo lipídico.

Fuente: Biotecnología de la Cerveza y la malta

APÉNDICE K

Ciclo Vital de las Levaduras

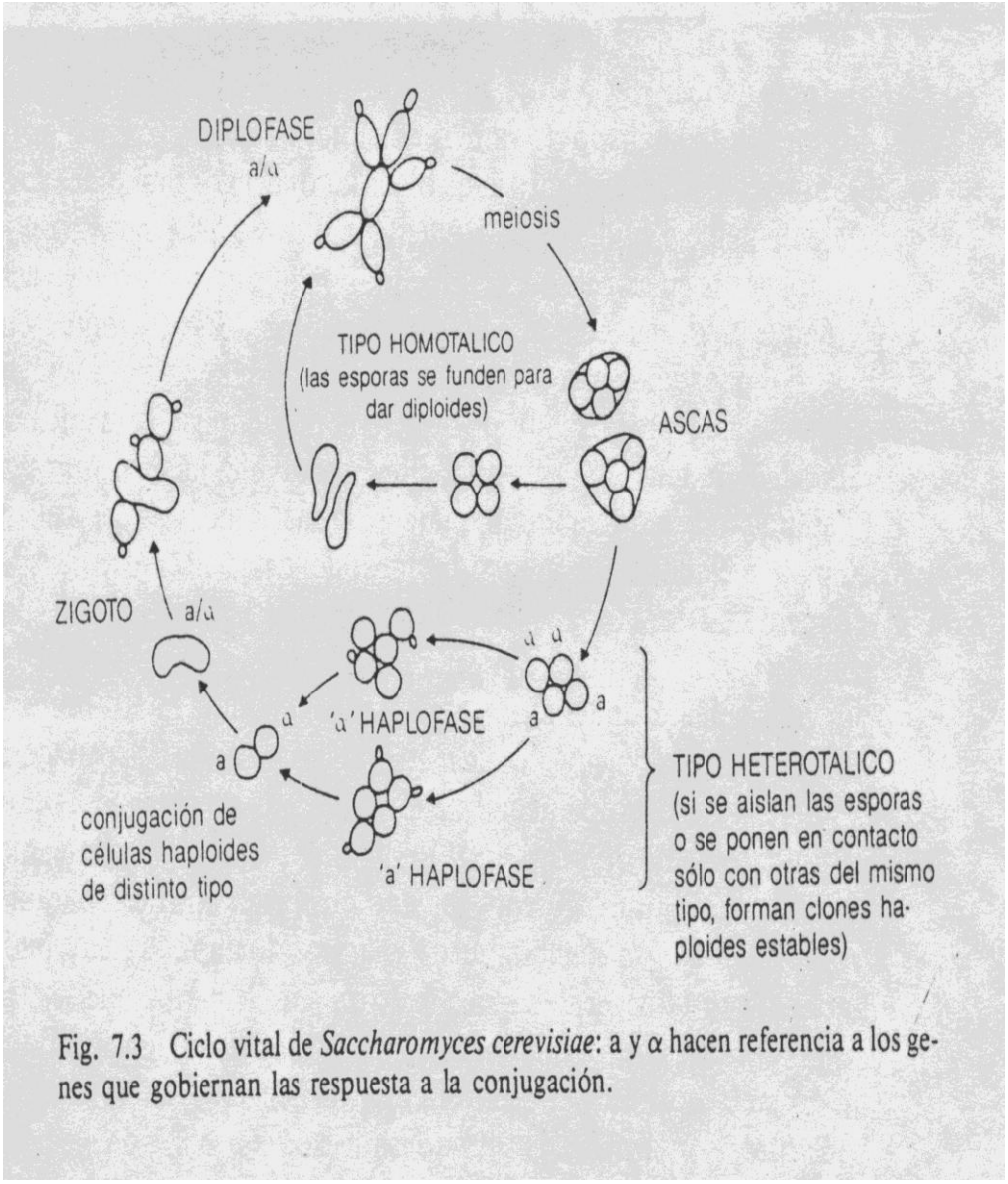


Fig. 7.3 Ciclo vital de *Saccharomyces cerevisiae*: a y α hacen referencia a los genes que gobiernan las respuesta a la conjugación.

Fuente: Biotecnología de la Cerveza y la malta

APÉNDICE L

Ciclo de Krebs usado para el metabolismo de los productos de la ruta glucolítica

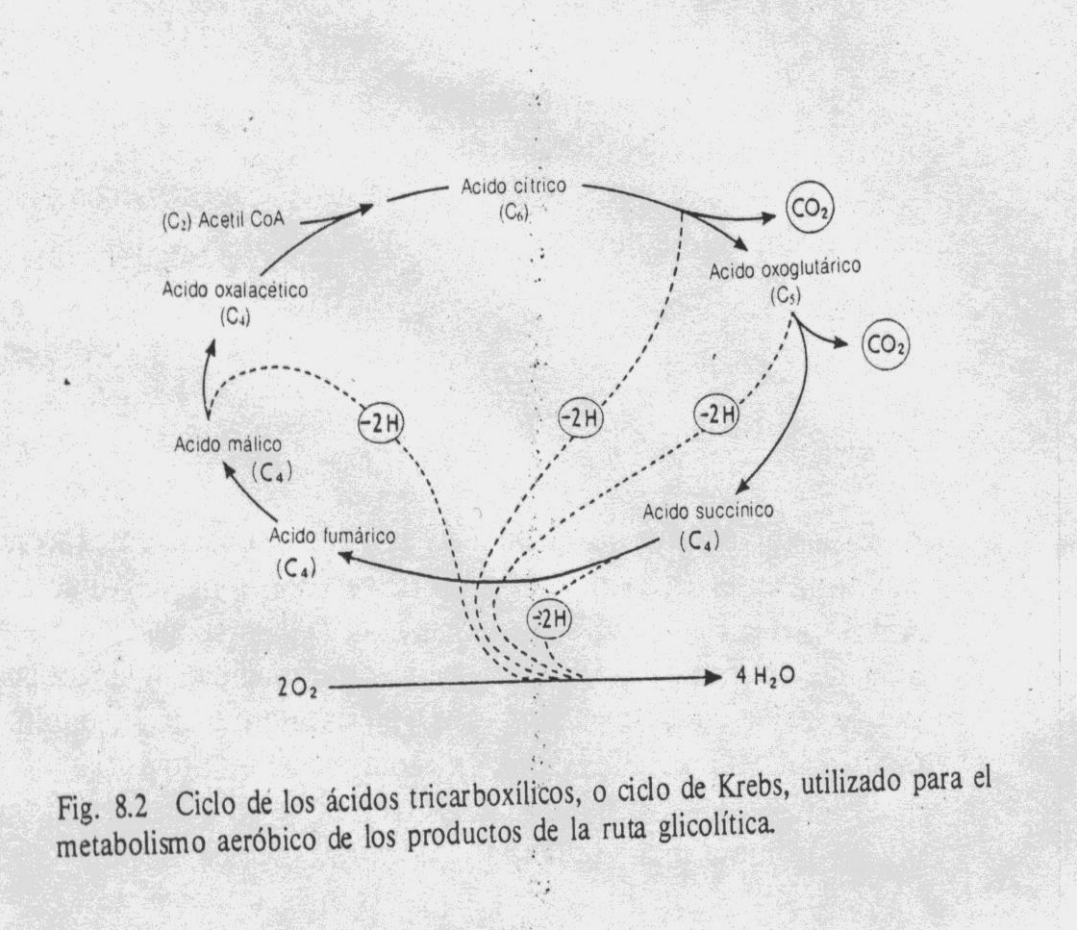


Fig. 8.2 Ciclo de los ácidos tricarboxílicos, o ciclo de Krebs, utilizado para el metabolismo aeróbico de los productos de la ruta glicolítica.

Fuente: Biotecnología de la Cerveza y la Malta

APÉNDICE M

Ruta Glucolítica de Embden – Meyerhof- Parnas para el Metabolismo de la Glucosa

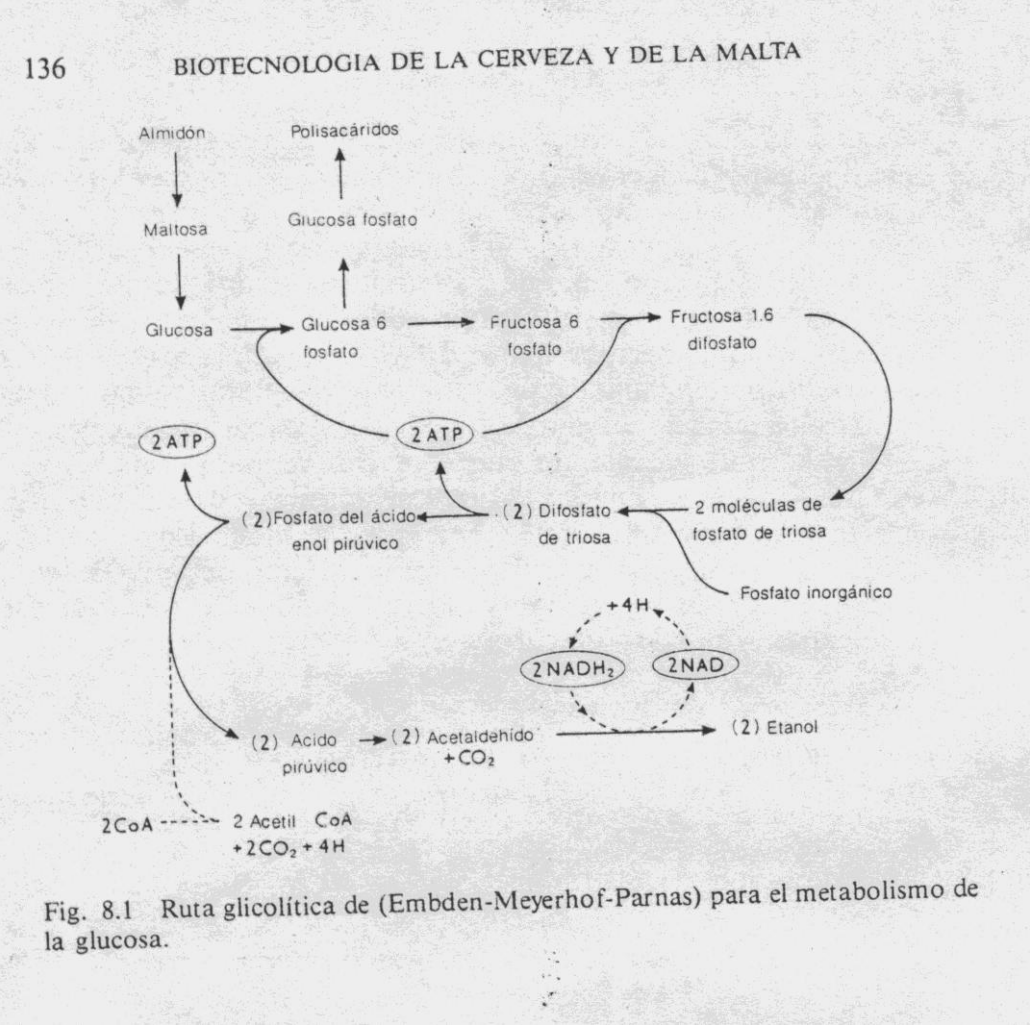


Fig. 8.1 Ruta glicolítica de (Embden-Meyerhof-Parnas) para el metabolismo de la glucosa.

Fuente: Biotecnología de la Cerveza y la Malta

APENDICE N

Muestra en Proceso de Sacarificación

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE O

Muestras en proceso de sacarificación

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE P

Arroz molido y muestra durante la sacarificación

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE Q

Torta de arroz luego de la sacarificación

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE R

Balanza

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE S

Balanza electrónica

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE T

Espectrofotómetro ICQ

Fuente: ICQ

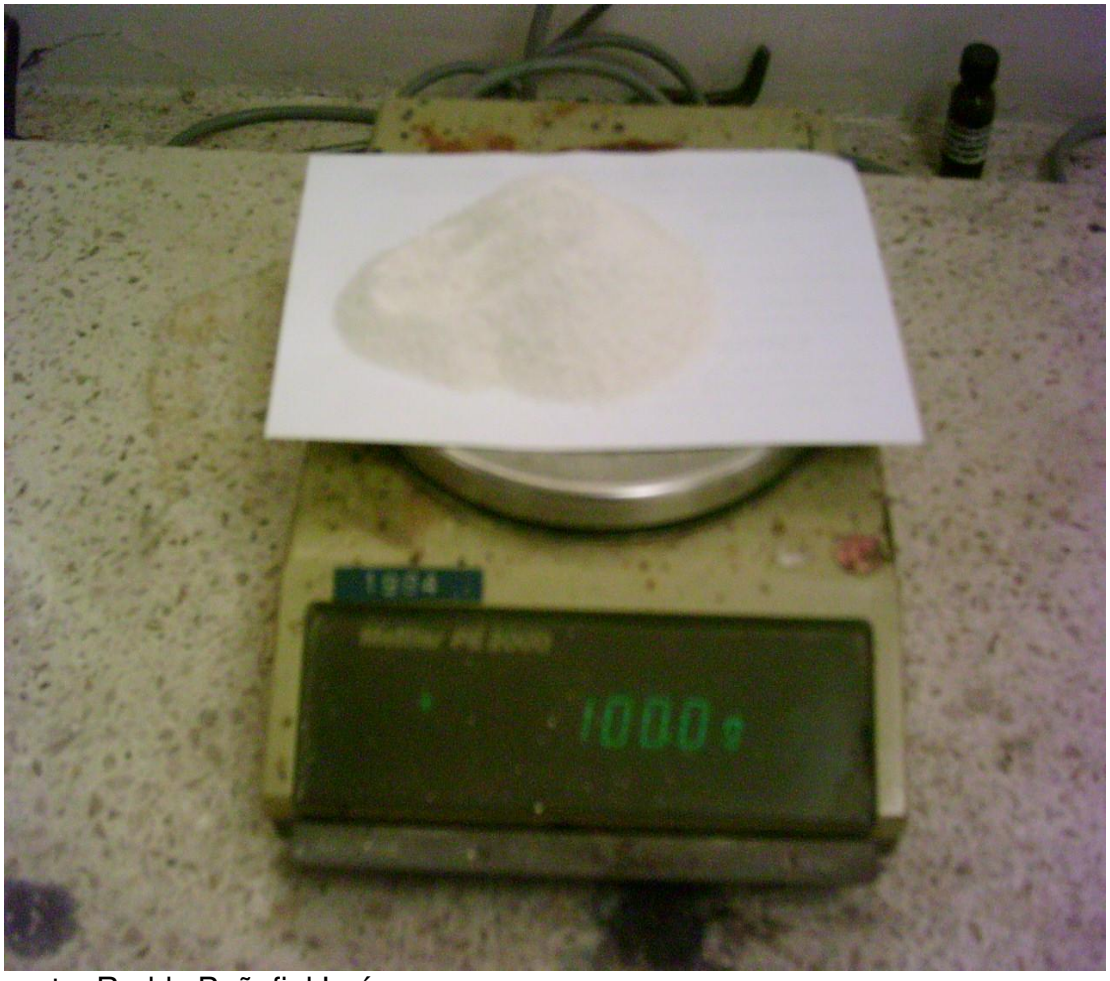
APÉNDICE U

Muestra de arroz cocinado

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE W

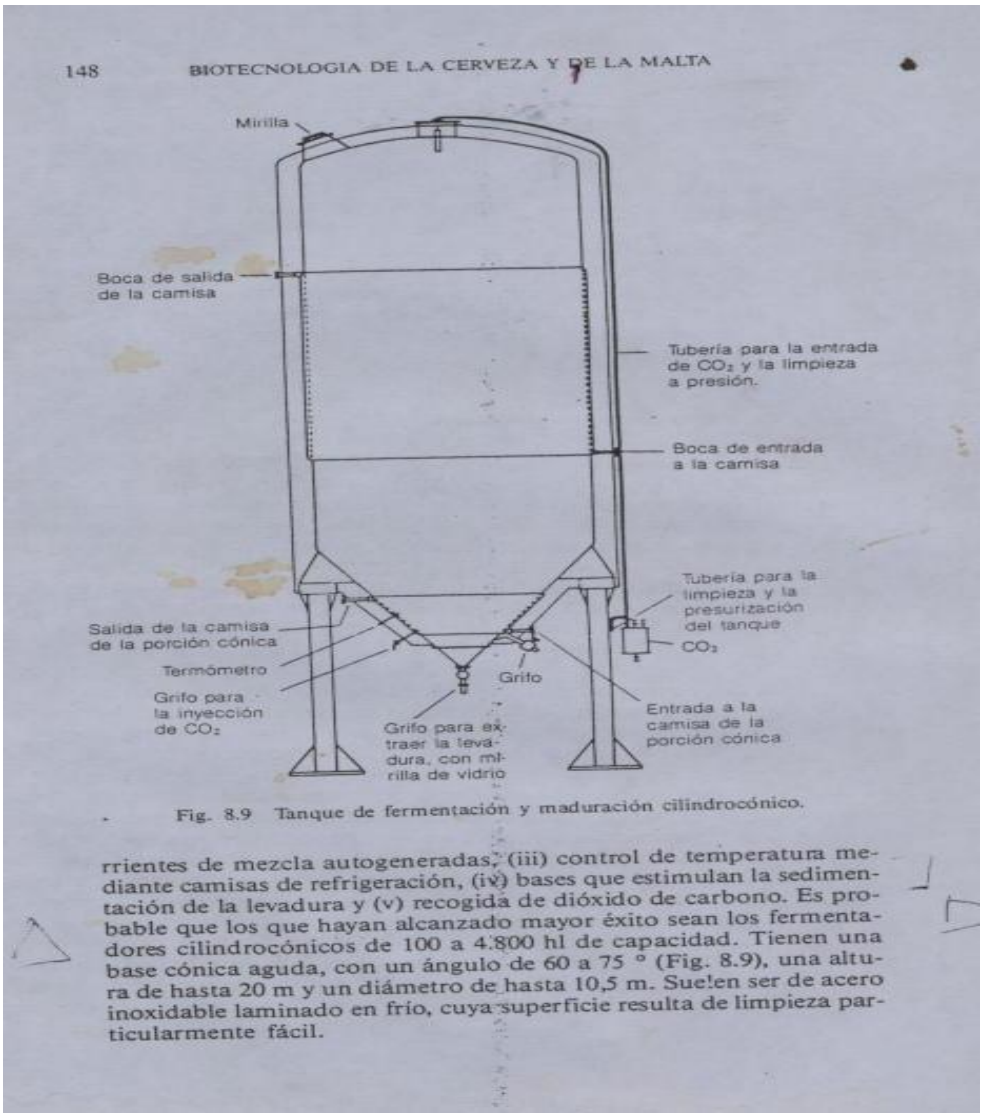
Muestra de arroz molido en balanza



Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE X

Tanque de Fermentación y Maduración cilindro cónico



Fuente: Biotecnología de la cerveza y la Malta

APÉNDICE Y

Diseño de un Tanque Fermentador de Gran Tamaño para ser colocado a la Intemperie

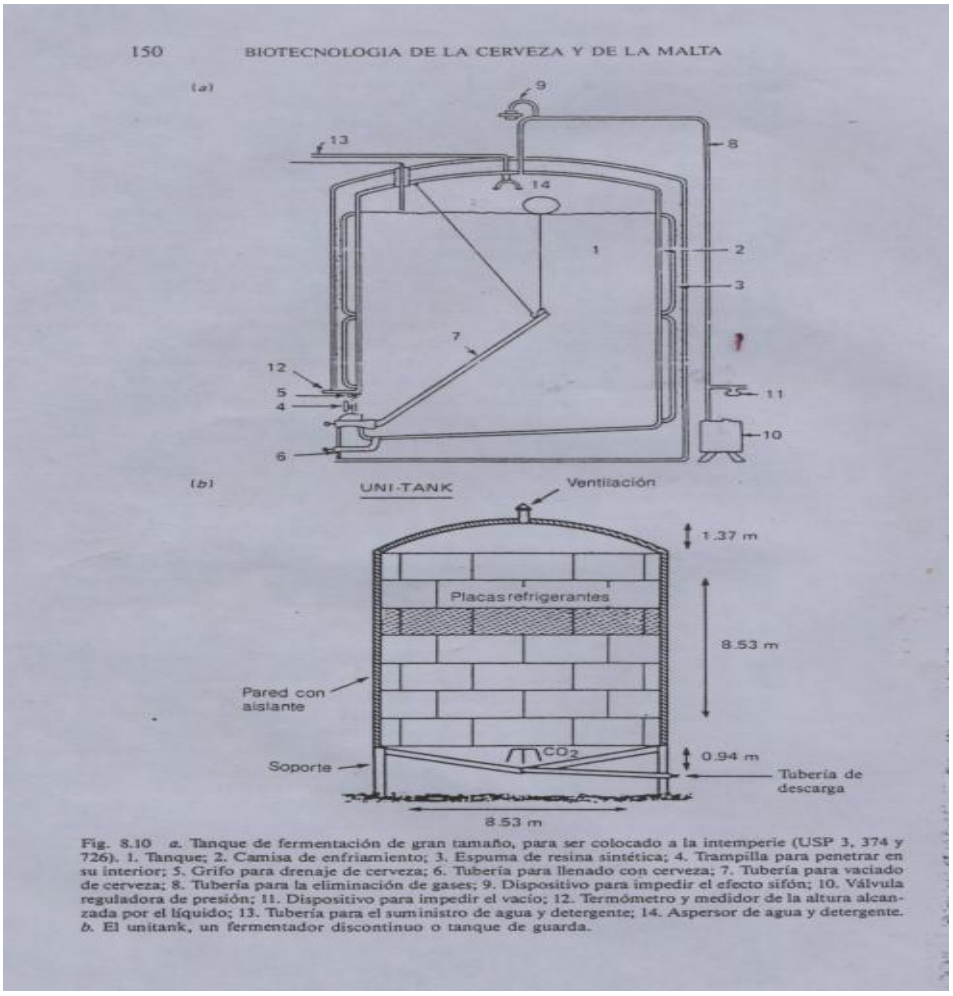
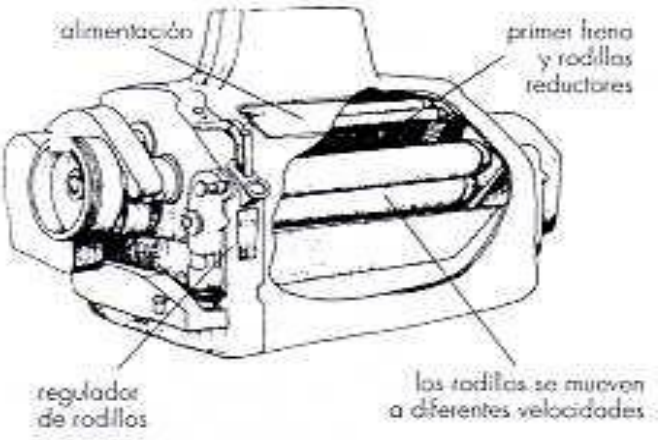


Fig. 8.10 *a.* Tanque de fermentación de gran tamaño, para ser colocado a la intemperie (USP 3, 374 y 726). 1. Tanque; 2. Camisa de enfriamiento; 3. Espuma de resina sintética; 4. Trampilla para penetrar en su interior; 5. Grifo para drenaje de cerveza; 6. Tubería para llenado con cerveza; 7. Tubería para vaciado de cerveza; 8. Tubería para la eliminación de gases; 9. Dispositivo para impedir el efecto sifón; 10. Válvula reguladora de presión; 11. Dispositivo para impedir el vacío; 12. Termómetro y medidor de la altura alcanzada por el líquido; 13. Tubería para el suministro de agua y detergente; 14. Aspersor de agua y detergente. *b.* El unitank, un fermentador discontinuo o tanque de guarda.

Fuente: Biotecnología de la Malta y la Cerveza

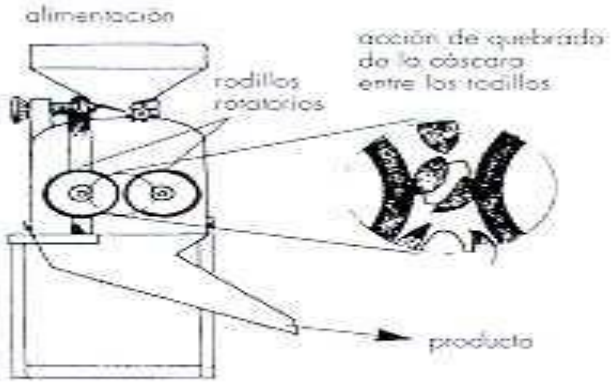
APÉNDICE Z

Molino de Rodillos y Descascadora de arroz



Molino de rodillo

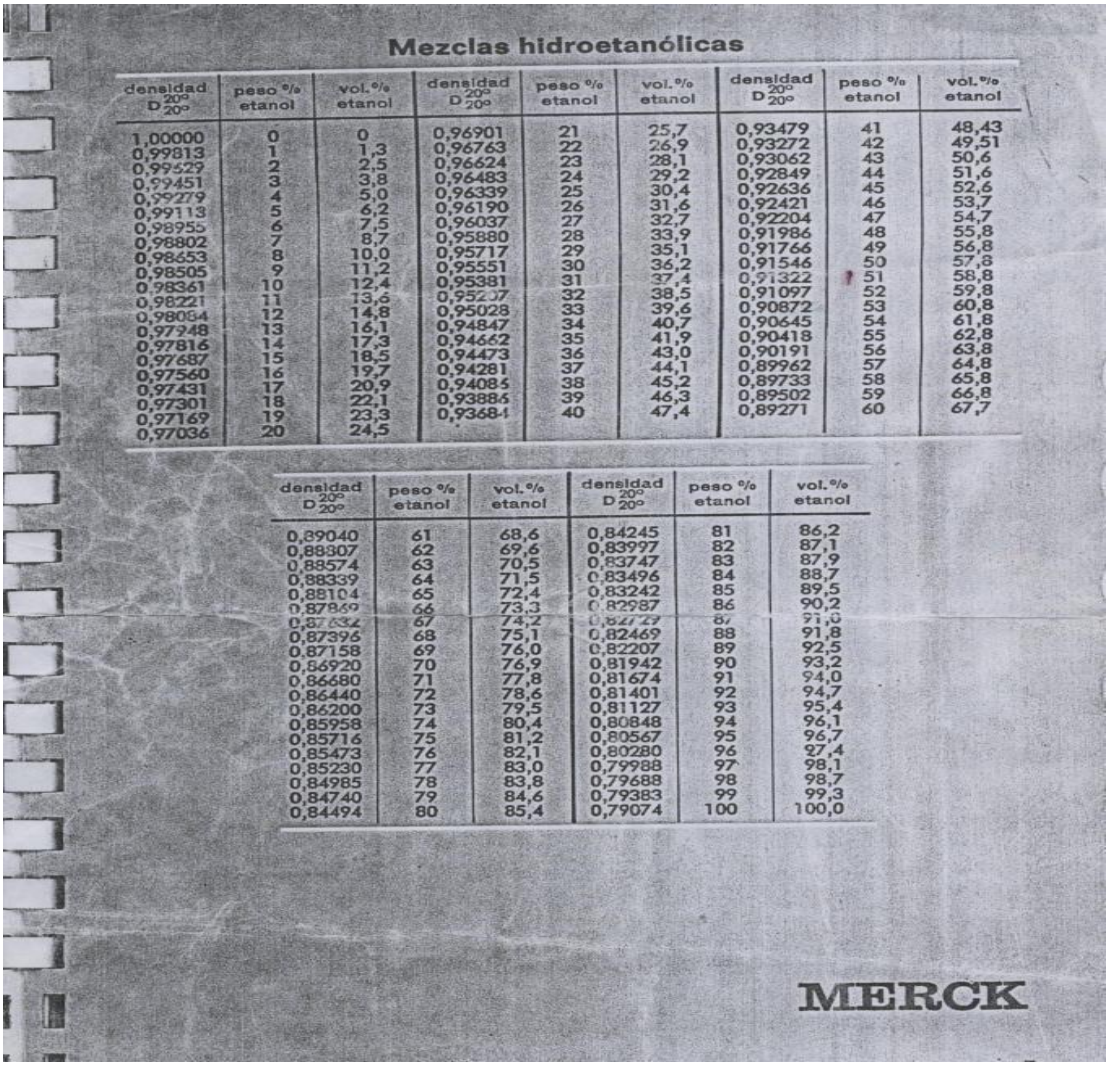
Fuente:http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/new_else/x5693s/x5693s03.htm



Descascaradora de arroz

APÉNDICE **A1**

Tabla de Mezclas Hidroetanólicas



Mezclas hidroetanólicas

densidad $D^{20°}_{20°}$	peso % etanol	vol.% etanol	densidad $D^{20°}_{20°}$	peso % etanol	vol.% etanol	densidad $D^{20°}_{20°}$	peso % etanol	vol.% etanol
1,00000	0	0	0,96901	21	25,7	0,93479	41	48,43
0,99813	1	1,3	0,96763	22	26,9	0,93272	42	49,51
0,99629	2	2,5	0,96624	23	28,1	0,93062	43	50,6
0,99451	3	3,8	0,96483	24	29,2	0,92849	44	51,6
0,99279	4	5,0	0,96339	25	30,4	0,92636	45	52,6
0,99113	5	6,2	0,96190	26	31,6	0,92421	46	53,7
0,98955	6	7,5	0,96037	27	32,7	0,92204	47	54,7
0,98802	7	8,7	0,95880	28	33,9	0,91986	48	55,8
0,98653	8	10,0	0,95717	29	35,1	0,91766	49	56,8
0,98505	9	11,2	0,95551	30	36,2	0,91546	50	57,8
0,98361	10	12,4	0,95381	31	37,4	0,91322	51	58,8
0,98221	11	13,6	0,95207	32	38,5	0,91097	52	59,8
0,98084	12	14,8	0,95028	33	39,6	0,90872	53	60,8
0,97948	13	16,1	0,94847	34	40,7	0,90645	54	61,8
0,97816	14	17,3	0,94662	35	41,9	0,90418	55	62,8
0,97687	15	18,5	0,94473	36	43,0	0,90191	56	63,8
0,97560	16	19,7	0,94281	37	44,1	0,89962	57	64,8
0,97431	17	20,9	0,94085	38	45,2	0,89733	58	65,8
0,97301	18	22,1	0,93886	39	46,3	0,89502	59	66,8
0,97169	19	23,3	0,93684	40	47,4	0,89271	60	67,7
0,97036	20	24,5						

densidad $D^{20°}_{20°}$	peso % etanol	vol.% etanol	densidad $D^{20°}_{20°}$	peso % etanol	vol.% etanol
0,89040	61	68,6	0,84245	81	86,2
0,88807	62	69,6	0,83997	82	87,1
0,88574	63	70,5	0,83747	83	87,9
0,88339	64	71,5	0,83496	84	88,7
0,88104	65	72,4	0,83242	85	89,5
0,87869	66	73,3	0,82987	86	90,2
0,87632	67	74,2	0,82729	87	91,0
0,87396	68	75,1	0,82469	88	91,8
0,87158	69	76,0	0,82207	89	92,5
0,86920	70	76,9	0,81942	90	93,2
0,86680	71	77,8	0,81674	91	94,0
0,86440	72	78,6	0,81401	92	94,7
0,86200	73	79,5	0,81127	93	95,4
0,85958	74	80,4	0,80848	94	96,1
0,85716	75	81,2	0,80567	95	96,7
0,85473	76	82,1	0,80280	96	97,4
0,85230	77	83,0	0,79988	97	98,1
0,84985	78	83,8	0,79688	98	98,7
0,84740	79	84,6	0,79383	99	99,3
0,84494	80	85,4	0,79074	100	100,0

MERCK

Fuente: Laboratorios MERCK

APÉNDICE B1

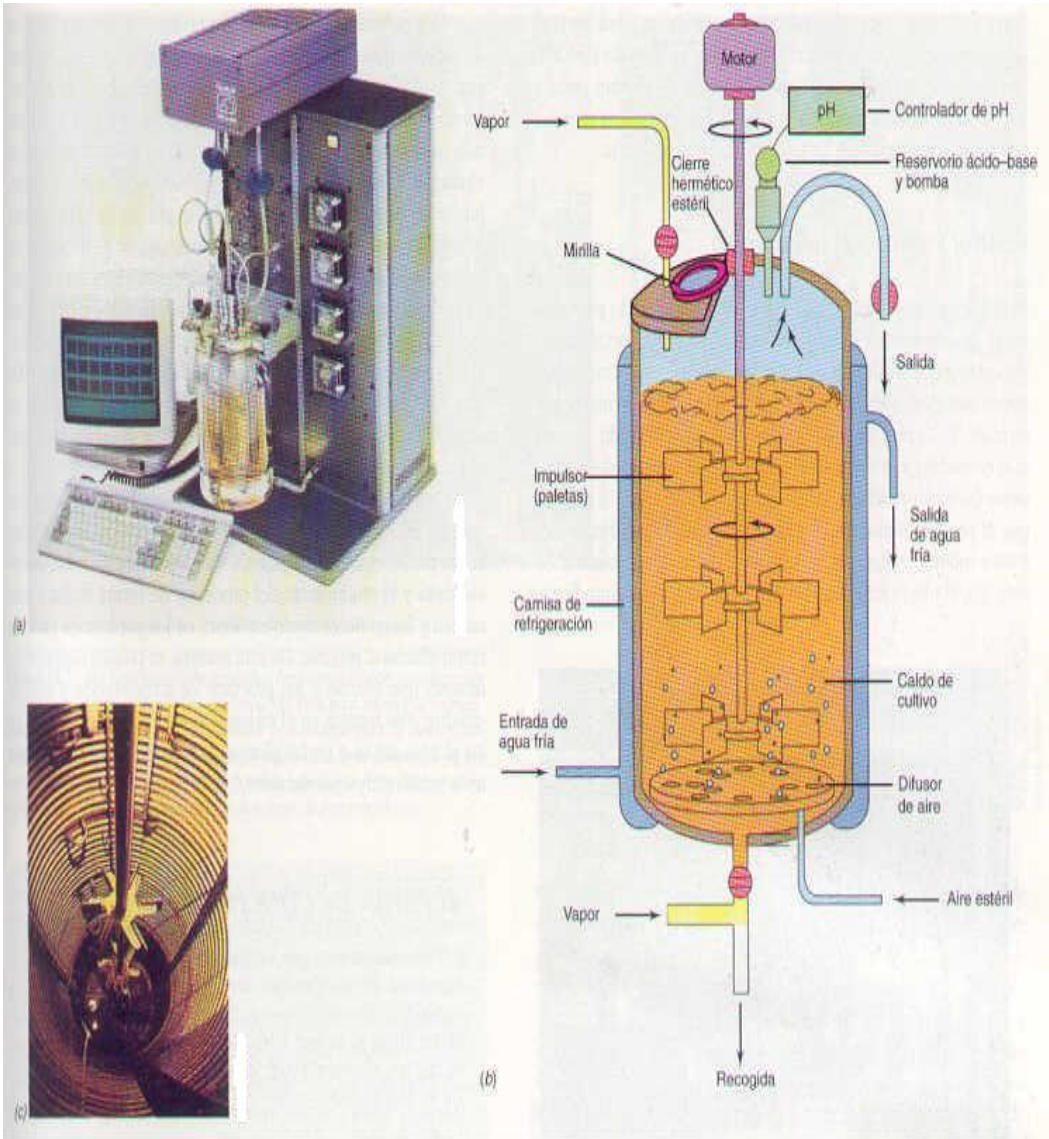
Composición del Agua

COMPOSICIÓN QUÍMICA	(mg/l)
Bicarbonatos	41
Dureza Total	56.13
Calcio	14.3
Cloruros	6.3
Nitritos	0
Cloro Residual	0
Sólidos Totales	162
pH	6.81
Alcalinidad	41

Fuente: Instituto Nacional Ecuatoriano de Normalización

APÉNDICE C1

Bioreactor o Fermentador



Un fermentador industrial. (a) Fotografía de una modelo pequeño para investigación. (b) Esquema de un fermentador ilistrando su construcción y los dispositivos para la aireación y proceso de control. (c) Fotografía del interior de un gran fermentador mostrando las paletas y los serpentines internos para calentar y enfriar.

Fuente: es.geocities.com/joakinicu/apartado12c.htm

APÉNDICE D1

Tanques fermentadores

Fuente: http://proluxsa.biz/fermentadores.jpg

APÉNDICE E1
Tanques de almacenamiento

Fuente: http://www.ingenal.com/images/05_Tanques.JPG

APÉNDICE F1

Enzima BAN 800 MG

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE G1

Enzima pesada en la balanza

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE H1

Calderas de vapor

Fuente: http://www.termpacific.com/productos/calderas/cald2.jpg

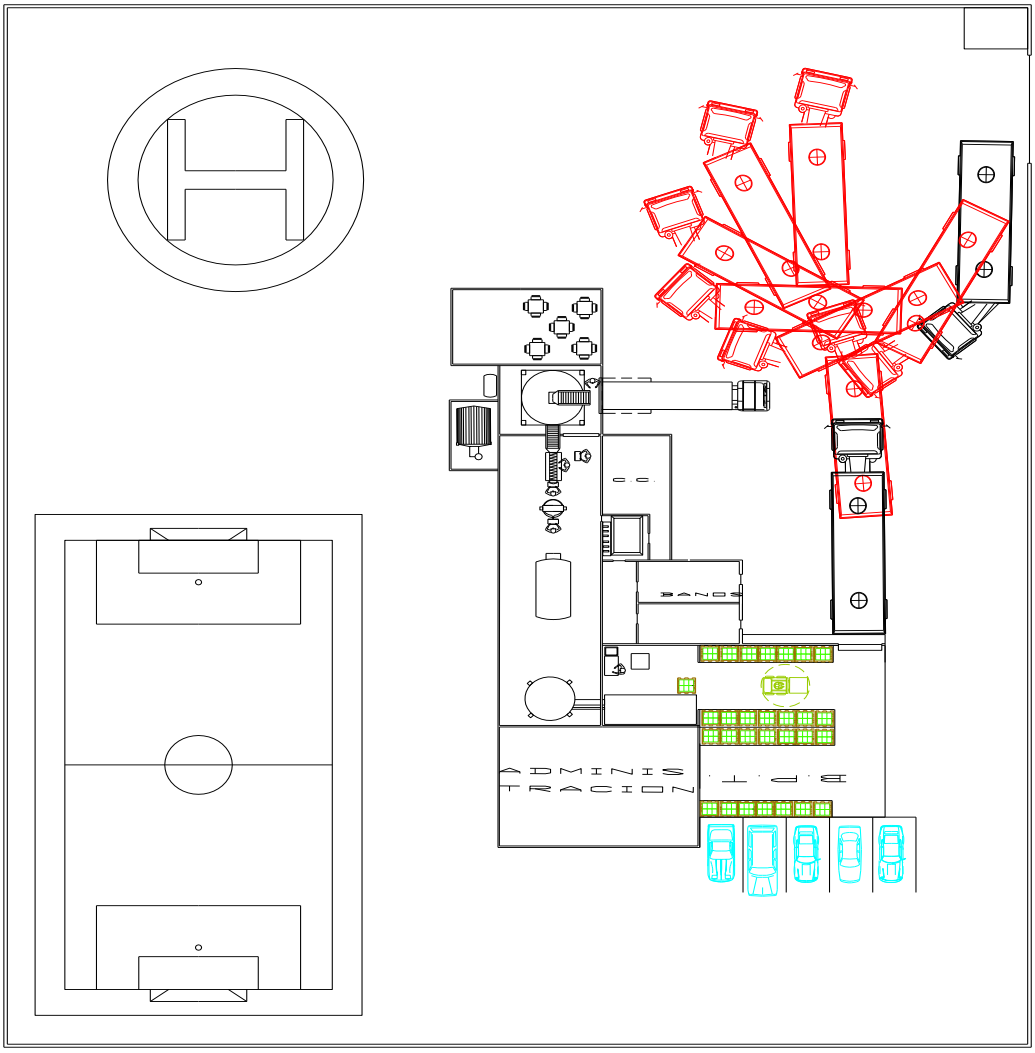
APÉNDICE I1

Marmita de vapor

Fuente: http://www.cosmos.com.mx/ultra/2529/imagenes/marmita_gas.jpg

APÉNDICE J1

LAYOUT DE LA PLANTA PROCESADORA DE ALCOHOL ETÍLICO



Fuente: Roddy Peñafiel León

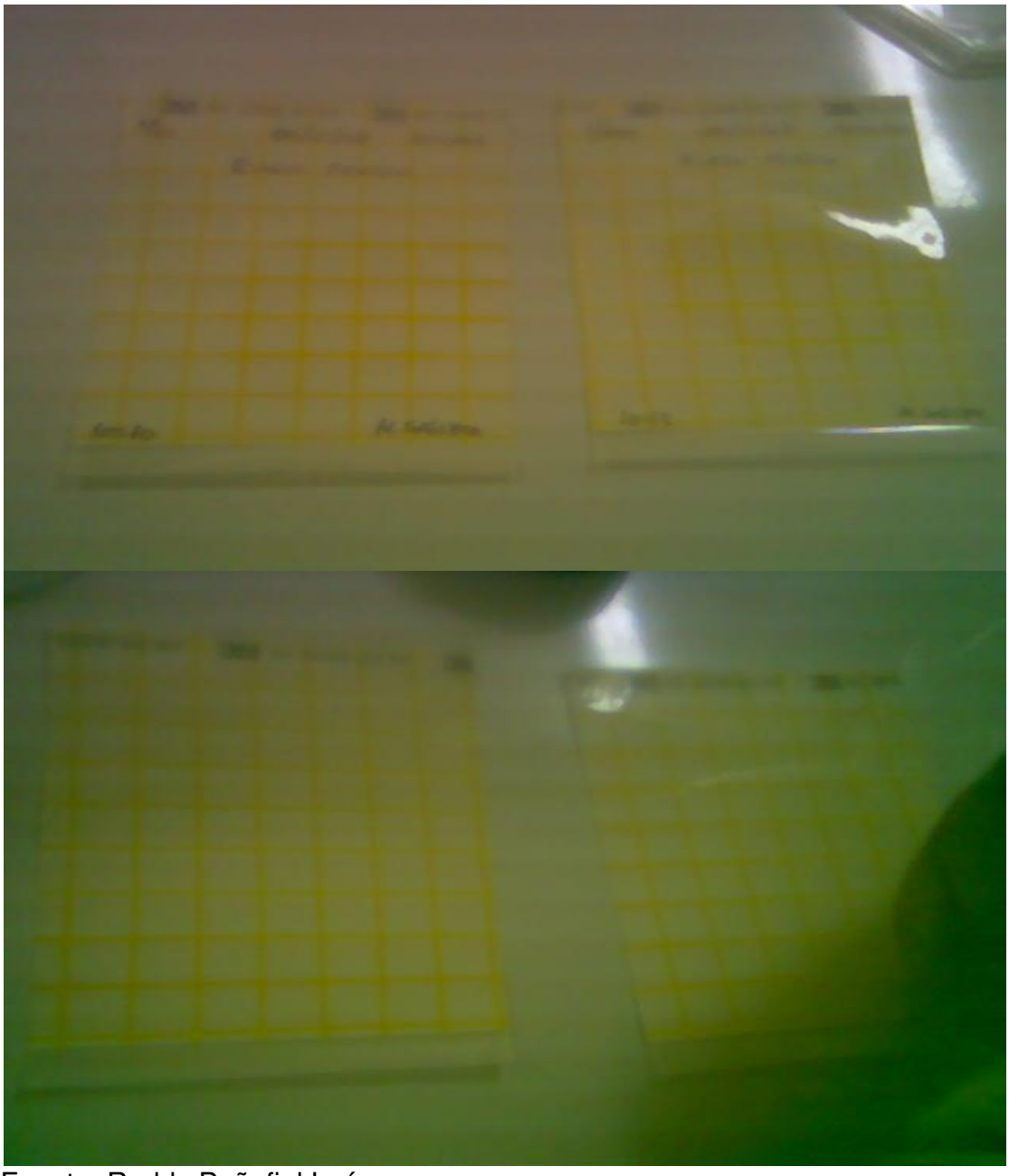
APÉNDICE K1

Bioreactor usado experimentalmente

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE L1

Placas petrifilm inoculadas



Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE M1

Tubos de ensayo con muestra

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE N1

Muestra fermentada y materiales para análisis microbiológico

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE O1

Toma de muestra y preparación de diluciones

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE P1

Cajas petri

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE Q1

Muestra fermentada para ser analizada

Fuente: Roddy Peñafiel León

APÉNDICE R1

Microdestilador

Fuente: Laboratorio Control de Calidad SODERAL S.A.

APÉNDICE S1

Densímetro

Fuente: Laboratorio Control de Calidad SODERAL S.A.

APÉNDICE T1

Torre de destilación

Fuente: Destiladora BRUGAL Costa Rica

BIBLIOGRAFIA

1. ALBERT WISEMAN, Manual de Biotecnologías de las Enzimas, Editorial Acribia, 1998, España.
2. GACESA. P., y HUBBLE. J., Tecnología de las Enzimas, segunda edición, Editorial Acribia, España.
3. GERALD REED, Enzymes in Food Processing, Universal Foods Corporation, Second Edition. Pág. 458 – 465.
4. J. S. HOUGH, Biotecnología de la Cerveza y de la Malta, primera edición, Editorial Acribia, España.
5. MARIANO GARCÍA GARYBAY, LÓPEZ MUNGUÍA, Biotecnología Alimentaria. Pág. 263 - 288, 1996.

Links de Internet

1.http://www.microcervecerias.galeon.com/cerveceria90.htm

2.http://www.minicerveceria.com/listado.asp?cat=155

3.http://www.exapro.com/sp/produit-5763-Used-hot-boiler-GUILLOT-ST-3490-1200kW.html

4.http://www.todocerveza.com.ar/LISTA%20DE%20PRECIOS.xls

5.http://usuario.lycos.es/birraworld/tipos_de_cervezas.htm

6.http://www.zonadiet.com/bebibas/a-cerveza-tipos.htm

7.http:/www.embajadadelrasil.org.ec/imagesFTP/3426.ETANOL_Y_PLANTAS_DE_ETANOL_EN_ECUADOR.doc

8.http://www.freewebs.com/biotecvida9/proyecto.htm