



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA
PERUANA
FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA



***“OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL
JUGO DE CAÑA PARA OBTENER BIOETANOL EN LA PLANTA PILOTO DE
ALCOHOL DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA-UNAP”***

TESIS

PARA OPTAR EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

PRESENTADO POR LOS BACHILLERES

RICHAR NIXON BARRERA VELA

JHONANTA LUIS REYES MURO

ASESOR:

ING. VÍCTOR GARCÍA PÉREZ

IQUITOS-PERÚ

2015

ÍNDICE

Página de jurado	x
Dedicatoria	xi
Agradecimiento	xii
Resumen	xiii
Introducción	xiv
Antecedentes	xv
Justificación	xix
Objetivos	xx
Objetivos Específicos	xx

CAPÍTULO I

FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1.	Fermentación alcohólica	1
1.2.	Tipo de proceso de la fermentación	1
1.3.	La levadura o fermento o agente de transformación de azúcar en alcohol	3
1.3.1.	Fisiología del crecimiento	3
1.3.2.	Influencia del entorno	4
1.3.3.	Levadura: Como vive	5
1.4.	Transformación de azúcar en alcohol	7
1.5.	Infección de la levadura	9
1.5.1	Bacterias: Un tipo de infección	9
1.5.2.	Tamaño de los microorganismos	10
1.5.3.	Estructura de las bacterias	10
1.5.4.	Reproducción de las bacterias	11
1.5.5.	Multiplicación de las bacterias	12
1.6.	Agentes infecciosos de la fermentación	13
1.7.	Factores que afectan la fermentación	15
1.7.1.	Calidad del mosto	16
1.7.2.	Infección	17

1.7.3.	Temperatura del mosto	18
1.7.4.	Temperatura de la fermentación	18
1.7.5.	ph	19
1.7.6.	Contenido alcohólico del mosto	20
1.8.	Pérdidas de Alcohol	20
1.8.1.	En la fermentación	21
1.9.	Accidentes de la fermentación alcohólica	21
1.9.1.	Fermentación acética	21
1.9.2.	Fermentación láctica	22
1.9.3.	Fermentación butírica	22
1.10.	Control de los accidentes de la fermentación	22
1.11.	Rendimiento de la fermentación alcohólica	23
1.11.1.	Rendimiento ideal (Gay-Lussac)	23
1.11.2.	Rendimiento teórico (Pasteur)	24
1.11.3.	Rendimiento práctico	24

CAPÍTULO II

MATERIALES, MÉTODO Y DESCRIPCIÓN DEL PROCESO EXPERIMENTAL

2.1.	Materiales y Equipos de proceso.	25
2.2.	Materiales de laboratorio.	25
2.3.	Materia prima e insumos.	25
2.4.	Método.	26
2.5.	Diagrama de bloques.	29
2.6.	Descripción del proceso experimental.	30
2.6.1.	Adquisición y recepción de la materia prima e insumos.	30
2.6.2.	Filtración, calentamiento y enfriamiento.	30
2.6.3.	Fermentación.	31
2.7.	Variación de los Grados Brix con respecto al Tiempo de las muestras M1, M2 y M3.	32
2.8.	Variación de la Concentración de Alcohol con respecto al Tiempo de las muestras M1, M2 y M3.	34

2.9.	Variación del pH con respecto al Tiempo de las muestras M1, M2 y M3	36
------	---------------------------------------------------------------------	----

**CAPÍTULO III
RESULTADOS**

Resultados	38
------------	----

**CAPÍTULO IV
CONCLUSIONES**

Conclusiones	40
--------------	----

**CAPÍTULO V
RECOMENDACIONES**

Recomendaciones	41
-----------------	----

**CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA**

Bibliografía	42
--------------	----

Anexos	43
--------	----

INDICE DE CUADROS

CUADRO N° 01: Muestras de jugo de caña, °Brix, pH y volumen.	30
CUADRO N° 02: Nutrientes y concentración.	31
CUADRO N° 03: Muestras de jugo de caña, agregado de levadura.	31
CUADRO N° 04: Condiciones óptimas de fermentación (muestra M2).	38
CUADRO N° 05: Variación de Grados Brix versus Tiempo (muestra M1).	44
CUADRO N° 06: Variación de Grados Brix versus Tiempo (muestra M2).	44
CUADRO N° 07: Variación de Grados Brix versus Tiempo (muestra M3).	45
CUADRO N° 08: Variación de Concentración de Alcohol versus Tiempo (muestra M1).	45
CUADRO N° 09: Variación de Concentración de Alcohol versus Tiempo	46

(muestra M2).	
CUADRO N° 10: Variación de Concentración de Alcohol versus Tiempo (muestra M3).	46
CUADRO N° 11: Variación de pH versus Tiempo (muestra M1).	47
CUADRO N° 12: Variación de pH versus Tiempo (muestra M2).	47
CUADRO N° 13: Variación de pH versus Tiempo (muestra M3).	47

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1.1. La levadura y sus partes fundamentales.	5
FIGURA 1.2. Reproducción de la levadura.	6
FIGURA 1.3. Biosíntesis del etanol por la levadura.	8
FIGURA 1.4. Morfología de las bacterias.	11
FIGURA 1.5. Curva de crecimiento de los microorganismos.	12
FIGURA 2.1. Variación de los Grados Brix (muestra M1).	32
FIGURA 2.2. Variación de los Grados Brix (muestra M2).	32
FIGURA 2.3. Variación de los Grados Brix (muestra M3).	33
FIGURA 2.4. Variación del Grado Alcohólico (muestra M1).	34
FIGURA 2.5. Variación del Grado Alcohólico (muestra M2).	34
FIGURA 2.6. Variación del Grado Alcohólico (muestra M3).	35
FIGURA 2.7. Variación de pH (muestra M1).	36
FIGURA 2.8. Variación de pH (muestra M2).	36
FIGURA 2.9. Variación de pH (muestra M3).	37

INDICE DE FOTOS

FOTO N°01. Equipos utilizados: Brixómetro, cocina eléctrica, refractómetro, pH metro, microscopio.	48
FOTO N°02. Malla metálica utilizada para filtración.	48
FOTO N°03. Levadura Fleischman utilizada para la fermentación.	49
FOTO N°04. Jugo de caña, en el laboratorio de alcohol.	49
FOTO N°05. Jugo de caña, en la tina de fermentación.	50
FOTO N°06. Tesista realizando control de °Brix, con el Refractómetro.	50
FOTO N°07. Tesista realizando control de °Brix, con el Brixómetro.	51
FOTO N°08. Tesista realizando control del crecimiento de los microorganismos.	51
FOTO N°09. Tesista realizando control del crecimiento de los microorganismos.	52
FOTO N°10. Tesista realizando control del pH y temperatura.	52
FOTO N°11. Proceso de fermentación en condiciones anaeróbicas.	53
FOTO N°12. Medición del grado alcohólico del mosto (en °G.L).	53

JURADO CALIFICADOR

Ing. Gustavo A. Malca Salas, M.Sc.
CIP: 33284
Presidente

Ing. Juan Manuel Rojas Amasifen, Dr.
CIP: 21103
Miembro

Ing. Jorge Suárez Rumiche
CIP: 60878
Miembro

Ing. Víctor García Pérez
CIP: 33227
Asesor

DEDICATORIA

A cada uno de los nuestros que en este andar por la vida, influyeron con sus lecciones y experiencias en formarnos como personas de bien y preparados para los retos que pone la vida, a todos y cada uno de ellos les dedicamos cada una de estas páginas de nuestra tesis.

RICHAR

JHONANTA

AGRADECIMIENTO

Esta tesis, si bien ha requerido de esfuerzo y mucha dedicación por parte de los autores y su asesor de tesis, no hubiese sido posible su finalización sin la cooperación desinteresada de todas y cada una de las personas que a continuación citaré y muchas de las cuales han sido un soporte muy fuerte en momentos difíciles.

Primero y antes que nada, dar gracias a Dios, por estar con nosotros en cada paso que damos, por fortalecer nuestros corazones e iluminar nuestras mentes y por haber puesto en nuestro camino a aquellas personas que han sido nuestro soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

Agradecer hoy y siempre a nuestras familias porque sé que procuran nuestro bienestar, y nos dan la fortaleza necesaria para seguir adelante.

RICHAR
JHONANTA

Resumen

El propósito de este trabajo fue proponer la optimización del proceso de fermentación alcohólica por la levadura, utilizando como sustrato jugo de caña de azúcar.

La levadura se agregó al jugo de caña de azúcar a diferentes grados °Brix (18.5, 18.4, 18.46) y a diferentes temperaturas de 28.8°C, 29.0°C y 29.3°C; este proceso se realizó utilizando 03 muestras de 35, 34.5 y 34.5 litros cada uno; además se utilizaron diferentes nutrientes (fosfato de amonio, sulfato de amonio, sulfato de zinc, sulfato de manganeso y sulfato de magnesio); en diferentes concentraciones y en un medio bajo condiciones controladas.

El paso siguiente fue evaluar las condiciones de pH, °Brix y temperatura a la cual la levadura activa seca y los nutrientes tienen una mejor capacidad fermentativa, en las tres muestras; se determinó para la levadura agregada a la **muestra M2**; con un pH de 4.78, 18.40 °Brix y a una temperatura de 29.0 °C tienen una mejor capacidad fermentativa. Tras el proceso de evaluación de las condiciones de pH, °Brix y temperatura, se evalúa la fermentación alcohólica con la adición de nutrientes.

Los datos obtenidos determinaron que la adición de nutrientes independiente del tipo y su concentración, mejoran la capacidad de transformación de los azúcares a etanol, con la cual se presentó un incremento de la capacidad fermentativa al estar presente los nutrientes. Además el tiempo de fermentación fue de 16 horas, con una concentración de alcohol en el mosto de 7.4 % en volumen de mosto.

I. INTRODUCCIÓN

La fermentación alcohólica es conocida desde hace más de 4000 años, pues los egipcios en éste tiempo ya fabricaban bebidas alcohólicas a partir de los jugos de frutas. A partir de 1800, la fermentación comenzó a ser mejor entendida, y, alrededor de 1876, Pasteur explicó el mecanismo básico de la fermentación alcohólica, esto es, en ausencia de oxígeno, la levadura retiraba la energía para su sobrevivencia de las transformaciones de azúcar en alcohol, y, en presencia de oxígeno, la levadura no producía alcohol, más bien, se multiplicada violentamente. Después de los estudios de Pasteur, principalmente las industrias de vino y cerveza, tomaron gran impulso.

La **fermentación alcohólica** es un proceso en ausencia de aire, originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general azúcares: como pueden ser por ejemplo la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.) para obtener como productos finales: etanol (cuya fórmula química es: $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$), dióxido de carbono (CO_2) en forma de gas y unas moléculas de ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico.

La fermentación alcohólica se puede considerar (desde una perspectiva humana) como un proceso bioquímico para la obtención de etanol, que por otras vías se ha obtenido gracias a procedimientos químicos industriales, mediante la reacción de oxidación de eteno. La finalidad de la fermentación etílica (desde una perspectiva microbiana) es la obtención de energía para la supervivencia de los organismos unicelulares anaeróbicos. Las bebidas alcohólicas se producen a partir de diferentes sustratos, dependiendo de la región geográfica y sus riquezas. Las materias primas pueden ser azúcares simples como los presentes en el jugo de uva, o de alto peso molecular, como el almidón de los granos de cebada. Existen dos tipos de bebidas alcohólicas, las que se obtienen directamente por fermentación de los diferentes sustratos y, producidas del producto de fermentación. El proceso principal por el cual se transforma el mosto en vino es la fermentación alcohólica, la cual consiste en la

transformación de azúcares en alcohol etílico y anhídrido carbónico. La fermentación alcohólica es la base de la vinificación, sin embargo, su importancia no radica únicamente en la obtención de etanol a partir de los azúcares, sino que además durante el proceso fermentativo se van a formar una gran cantidad de productos secundarios que influyen en la calidad y tipo del vino.

Aunque en la actualidad se empieza a sintetizar también etanol mediante la fermentación a nivel industrial a gran escala para ser empleado como biocombustible.⁽²⁾⁽³⁾

La importancia de la fermentación para obtener bioetanol, radica en lo siguiente: Si logramos obtener la máxima conversión de los azúcares fermentecibles a etanol en la fermentación; tendremos en el proceso de destilación la máxima cantidad de bioetanol, es decir la importancia radica en que el rendimiento real, se acerque al rendimiento teórico, de acuerdo a la bioreacción estequiométrica.

II. ANTECEDENTES

La humanidad emplea la fermentación alcohólica desde tiempos inmemoriales para la elaboración de cerveza (empleando cereales) y del vino (empleando el fruto de la vid: la uva en forma de mosto) fundamentalmente. Los griegos atribuían el descubrimiento de la fermentación al dios Dionisio. Algunos procesos similares como el de la destilación alcohólica ya surgen en el año 1150 de la mano de Arnau de Vilanova.⁽⁵⁾ Fue un elemento más a considerar en el desarrollo histórico de la alquimia durante la Edad Media.⁽⁶⁾

En el año 1864 se identificó el gas CO₂ resultante de la fermentación por el químico MacBride y en 1766 Cavendish lo describió como: “el gas existente en la atmósfera” determinando además la proporción de dióxido de carbono con respecto al azúcar empleado en el proceso, que rondaba el 57%. En esta época

se empezó a descubrir, gracias a observaciones científicas, que la fermentación alcohólica se producía también en sustancias no dulces.⁽⁶⁾ Antoine Lavoisier hizo experimentos en 1789 determinando las cantidades de los elementos intervinientes en la fermentación (carbono, oxígeno e hidrógeno). Con el advenimiento de los descubrimientos químicos en el año 1815 el investigador francés Joseph Louis Gay-Lussac fue el primero en determinar una reacción de fermentación obteniendo etanol a partir de glucosa, a pesar de este logro los fundamentos de la fermentación alcohólica eran completamente desconocidos.

Durante los años 1830s los químicos Jöns Jakob Berzelius y Justus von Liebig desarrollaron una teoría mecanicista que explica la fermentación, teorías que estaban en contraposición con las creencias de Louis Pasteur en el año 1857 que se fundamentaba en la “teoría vitalista” como explicación de los mecanismo básicos de la fermentación, fue el mismo Pasteur que en el año 1875 demostró que la fermentación era un proceso anaeróbico (en ausencia de oxígeno).

En el año 1818 Erxleben, De La Tour en Francia, Schwann y Kützing en Alemania (1837) descubren que las levaduras (organismos microscópicos unicelulares) son la causa del proceso, pero no fue hasta que Eduard Buchner en el año 1897 descubre que la enzima zimasa es la responsable final de la fermentación alcohólica trabajo por el que recibe el premio Nobel de Química.⁽⁷⁾

Este descubrimiento atrajo el interés de otros científicos, entre ellos Harden y Young quienes en el año 1904 mostraron que la zimasa perdía sus propiedades fermentativas bajo condiciones de diálisis, demostrando que la fermentación dependía de una sustancia de bajo peso molecular que se quedaba retenida en los finos poros de la membrana de la diálisis. La fermentación podía bajo estas circunstancias volver a ser restablecida añadiendo simplemente de nuevo las levaduras, esta sustancia descubierta por Harden y Young se denominó cozimasa,⁸ y fue eventualmente encontrada como una mezcla de iones fosfatados, difosfato de tiamida y NAD⁺. Sin embargo la caracterización de la cozimasa no fue completada hasta el año 1935. El bioquímico Otto Heinrich Warburg en conjunción con Hans von Euler-Chelpin descubren en el año 1929

que el cofactor nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) juega un papel muy importante en el proceso interno de la fermentación. En 1937, los investigadores Erwin Negelein y Hans Joachim Wulff comprueban que mediante la cristalización de los subproductos de la fermentación la enzima alcohol deshidrogenasa es protagonista en algunos sub-procesos realizando un papel importante.⁽⁹⁾

Los descubrimientos posteriores a partir del periodo que va desde mediados del siglo XX hasta comienzos del siglo XXI se centran exclusivamente en la mejora de los procesos de fermentación alcohólica y conciernen más a la optimización del rendimiento industrial bien sea mediante una buena selección de cepas de levaduras, de una temperatura de funcionamiento óptima, de cómo realizar fermentación en un proceso continuo (biorreactores).

La temperatura de fermentación debe ser constante desde el inicio hasta el final, como es muy difícil esto, por lo menos se aconseja mantener la temperatura debajo de 34°C y encima de 28.5°C en fermentación en sistema batch.

La levadura Fleischman consigue fermentar a partir de los 29°C. Si la fermentación se inicia a 29°C y va para 33°C, no dejar caer a 25°C en el final, pues esta diferencia es suficiente para inhibir la levadura, luego el azúcar no será desdoblada.

El crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* se ve favorecido por un pH aproximado de 3.5 a 5.5 y no se desarrollan bien en medio alcalino a menos que se hayan adaptado al mismo. A pesar de la tolerancia bastante amplia de esta para las variaciones de pH a partir de los sustratos habitualmente usados en los medios de cultivo forman productos en especial ácidos que influyen en el crecimiento celular, producción enzimática y utilización de glucosa. Así por ejemplo, algunas investigaciones han observado que con un pH inicial del medio a valores entre 4.0 y 5.1 se obtiene mejor crecimiento⁽⁴⁾.

PROCESO EXPERIMENTAL CONVENCIONAL (Con Levadura)

Tecnología existente. La destilería de la planta piloto de alcohol de la FIQ - UNAP consta de un sistema de fermentación de 4 fermentadores de 2 000 L de capacidad cada uno.

El sistema opera en el modo batch clásico sin recirculación de levadura. El tiempo de fermentación en sala es de 72 horas y produce 6,5 - 7,1 % °GL (Gay Lussac) de etanol en mosto fermentado.

Microorganismo. Se emplea una cepa *Saccharomyces cerevisiae*, productora de etanol.

La selección de una cepa de levadura adecuada, constituye una de las herramientas más eficientes para el control y optimización de la fermentación alcohólica, al maximizar el etanol a producir y minimizar los costos de producción.

Etapa de propagación. En el proceso de inoculación, la levadura seca activa se disuelve en agua y se trasvasa a los pre-fermentadores de 2 000 L los que previamente han sido cargados con sustrato (jugo de caña) para la propagación en un volumen de 15-20% de su volumen total de trabajo. La propagación se lleva a cabo en un medio preparado a 18-18,5 °Bx, temperatura de 28,5 – 33 °C y pH de 3,5 – 5,5 para propiciar la activación de la ruta fermentativa en las células y prepararlas para la fase productiva, obteniéndose una fase log larga. En la medida que se propaga el cultivo (conteo de campos al microscopio) se alimenta medio fresco en tres incrementos adicionales.

El tiempo de fermentación en los fermentadores es de 72 horas y produce 6,5 - 7,1 % °GL (Gay Lussac) de etanol.

III. JUSTIFICACIÓN

El desarrollo del presente trabajo se justifica por lo siguiente:

La producción de etanol es de gran importancia y conveniencia en varias industrias, ya sea por su uso en la industria alimenticia en la elaboración de bebidas alcohólicas, o en la industria de los biocombustibles.

Actualmente el tiempo de fermentación en la planta piloto de nuestra facultad, supera las 72 horas, por lo que este es uno de los motivos, el no poder entrar en un proceso de producción continua, lo cual con el desarrollo del presente trabajo, se piensa reducir considerablemente, haciendo un seguimiento detallado de todo el proceso de fermentación, desde la llegada del jugo fresco a las instalaciones de la planta, hasta lograr todo el proceso de conversión de los azúcares fermentecibles en etanol.

Además se incluirán innovaciones en el proceso de fermentación, considerando que no existe hasta el momento por lo menos un manual de operación; entre las innovaciones, tenemos:

- ✓ Adición de nutrientes al mosto (jugo fermentado).
- ✓ Disminución del tiempo de fermentación.

IV. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Optimizar los parámetros del proceso de fermentación del jugo de caña para obtener bioetanol en la planta piloto de alcohol de la Facultad de Ingeniería Química-UNAP”.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Evaluar los parámetros: Temperatura, pH, Concentración de levadura, Nutrientes; para lograr la máxima conversión de azúcar fermentecible en bioetanol.
2. Evaluar el tiempo óptimo de fermentación.
3. Evaluar el rendimiento de alcohol en el jugo fermentado, de acuerdo a la reacción.

CAPÍTULO I

FUNDAMENTO TEÓRICO

1.1. Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es conocida hace más de 4000 años, pues los egipcios de ese tiempo, ya fabricaban bebidas alcohólicas a partir de los jugos de frutas. A partir de 1800, la fermentación comenzó a ser mejor entendida, y alrededor de 1876, Pasteur explicó el mecanismo básico de la fermentación alcohólica, esto es, en ausencia de oxígeno, la levadura retiraba la energía para su sobrevivencia de las transformaciones de azúcar en alcohol, y en presencia de oxígeno, la levadura no producía alcohol, más bien se multiplicaba violentamente. Después de los estudios de Pasteur, principalmente las industrias de vino y cerveza, iniciaron un gran impulso.

En otro marco histórico en el proceso de fermentación, vino a ocurrir en las décadas de 1930 – 1940, cuando Melle-Boinot, desarrolló el proceso de recuperación de levadura por intermedio de centrífugas y su tratamiento para evitar la infección. El rendimiento alcohólico que anteriormente era en torno a 60 – 70%, cuando el proceso era bien conducido, pasó a 85 – 90%, lógicamente cuando el proceso Melle - Boinot era bien conducido⁽⁵⁾.

Desde 1945 hasta la actualidad, como el alcohol producido a partir del petróleo era más barato, la industria del etanol por fermentación sufrió un retroceso. Actualmente con la necesidad de producir biocombustible a partir de la caña de azúcar, se debe experimentar en el proceso de fermentación; este proceso debe ser más rápido.

1.2. Tipo de proceso de la Fermentación

La **fermentación** es un proceso catabólico de oxidación incompleta, que no requiere oxígeno, y el producto final es un compuesto orgánico. Según los productos finales, existen diversos tipos de fermentaciones.

OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL JUGO DE CAÑA PARA OBTENER BIOETANOL EN LA PLANTA PILOTO DE ALCOHOL DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA-UNAP

Fue descubierta por Louis Pasteur, que la describió como *la vie sans l'air* (la vida sin el aire). La fermentación típica es llevada a cabo por las levaduras. También algunos metazoos y protistas son capaces de realizarla⁽⁸⁾.

El proceso de fermentación es anaeróbico, es decir, se produce en ausencia de oxígeno; ello significa que el aceptor final de los electrones del NADH producido en la glucólisis no es el oxígeno, sino un compuesto orgánico que se reducirá para poder reoxidar el NADH a NAD⁺. El compuesto orgánico que se reduce (acetaldehído, piruvato) es un derivado del sustrato que se ha oxidado anteriormente.

En los seres vivos, la fermentación es un proceso anaeróbico y en él no intervienen las mitocondrias ni la cadena respiratoria. El proceso de fermentación es característico de algunos microorganismos: algunas bacterias y levaduras. También se produce en la mayoría de las células de los animales (incluido el ser humano), excepto en las neuronas, que mueren rápidamente si no pueden realizar la respiración celular; algunas células, como los eritrocitos, carecen de mitocondrias y se ven obligadas a fermentar; el tejido muscular de los animales realiza la fermentación láctica cuando el aporte de oxígeno a las células musculares no es suficiente para el metabolismo aerobio y la contracción muscular.

Desde el punto de vista energético, las fermentaciones son muy poco rentables si se comparan con la respiración aerobia, ya que a partir de una molécula de glucosa sólo se obtienen dos moléculas de ATP, mientras que en la respiración se producen 36. Esto se debe a la oxidación del NADH que, en lugar de penetrar en la cadena respiratoria, cede sus electrones a compuestos orgánicos con poco poder oxidante.

En la industria la fermentación puede ser oxidativa, es decir, en presencia de oxígeno, pero es una oxidación aeróbica incompleta, como la producción de ácido acético a partir de etanol.

1.3. La levadura o fermento o agente de transformación de azúcar en alcohol

Levaduras. Las levaduras pueden ser definidas como hongos unicelulares que se reproducen por gemación o fisión. Las levaduras están implicadas en fenómenos de competición por nutrientes, de antagonismo o de simbiosis en los suelos, las aguas, los animales y los vegetales. Su presencia depende en primer lugar de la disponibilidad de carbono orgánico, temperatura, pH y de la presencia de agua. El hábitat de las levaduras, puede ser en las capas superiores del suelo, ó en materias orgánicas sobre todo de origen vegetal que sean ricas en carbohidratos; estas pueden aislarse especialmente del suelo de los viñedos y huertos, de las superficies de uvas, manzanas y de la mayoría de los frutos dulces. Son arrastradas por el aire, junto con el polvo⁽¹⁾.

Las levaduras han sido usadas por el hombre desde hace milenios, en particular en la fabricación de bebidas alcohólicas y de pan.

1.3.1. Fisiología del crecimiento.

Las necesidades nutricionales de las levaduras, buscan medios de cultivo que aporten los elementos necesarios para la síntesis de los tejidos celulares y para cubrir las necesidades energéticas de las levaduras⁽¹⁾.

Carbono: El carbono es el compuesto mayoritario de la célula de la levadura, alrededor del 50% en peso seco. Los compuestos carbonados son utilizados por las levaduras a la vez como fuente de energía y como fuente de carbono. Entre las fuentes de carbono, los glúcidos son los más frecuentemente utilizados como hexosas, disacáridos, trisacáridos.

Nitrógeno: El nitrógeno es cuantitativamente el segundo constituyente aportado por el medio de cultivo. Es utilizado por las células en los aminoácidos, los nucleótidos y algunas vitaminas.

Todas las levaduras, asimilan el nitrógeno en forma de ion amonio, los cuales pueden ser aportados en el medio por el cloruro amónico, nitrato amónico, fosfato amónico, y sobre

todo el sulfato amónico siendo este el mejor, y al mismo tiempo aportando el azufre necesario para la síntesis de ciertos aminoácidos.

Fósforo: El fósforo se halla incluido en los ácidos nucleicos y los nucleosidos di y tri-fosfato. El fósforo es asimilado por la célula en forma de iones orto fosfato (H_2PO_4^-). Las fuentes de fósforo en el medio de cultivo deben estar constituidas por el dihidrogeno fosfato de potasio (KH_2PO_4) o por el hidrogeno fosfatodisodico ($\text{Na}_2\text{H}_2\text{PO}_4$).

Azufre: El 60% del azufre está incorporado en las proteínas. El 5% en forma de sulfato inorgánico libre. El resto está en forma de enlaces disulfuro y en aminoácidos sulfurados libres, así como también está presente en algunas vitaminas. La fuente de azufre más utilizada en los medios de cultivo es el sulfato amónico.

Potasio: El potasio es elemento mineral cualitativamente más importante en las levaduras, ya que a pH ácido el potasio estimula la fermentación y la respiración, además actúa como efector de numerosas enzimas entre otros. Las fuentes de potasio en los medios de cultivo son el cloruro potásico y los fosfatos mono y dipotasico.

Magnesio: El magnesio es necesario para el buen funcionamiento de muchas enzimas del metabolismo, así mismo está implicado en las estructuras de los ribosomas, de las membranas nucleares y ácidos nucleicos. Una carencia de magnesio en la fermentación alcohólica conlleva a la producción de ácido acético. El magnesio en los medios de cultivo se encuentra como cloruro o sulfato de magnesio.

Otros iones: Otros iones que juegan papel importante son: calcio, manganeso, zinc, hierro, bario, cloruro, sodio.

1.3.2. Influencia del entorno.

Temperatura: La temperatura de las levaduras, oscila entre 25 y 30°C que permite un efectivo crecimiento. La temperatura de crecimiento influye en la composición en ácidos grasos de las membranas plasmáticas.

Saccharomyces cerevisiae no posee ácidos grasos polinsaturados, el grado de insaturación es poco o nada modificado por la temperatura de crecimiento. *Candida utilis* que poseen ácidos grasos mono y polinsaturados, el grado de insaturación es función de la temperatura de crecimiento.

Oxígeno: Todas las levaduras son capaces de desarrollarse en presencia de oxígeno, no hay levaduras anaeróbicas estrictas. El oxígeno interviene en la síntesis de esteroides y del ácido nicotínico.

1.3.3. Levadura: Como vive

Las levaduras son clasificadas como hongos y las más importantes en producción de etanol son las llamadas ***Saccharomyces cerevisiae*** y ***Saccharomyces cesuvarum***. La primera es utilizada en la industria de la panificación, producción de proteínas, mientras que el segundo para la producción de cerveza.

Las levaduras son microorganismos unicelulares de forma ovoide esférica, y su tamaño puede variar de 4 a 8 μm (un micrón = 10^{-5}m) de largo por 5 a 16 μm de ancho.

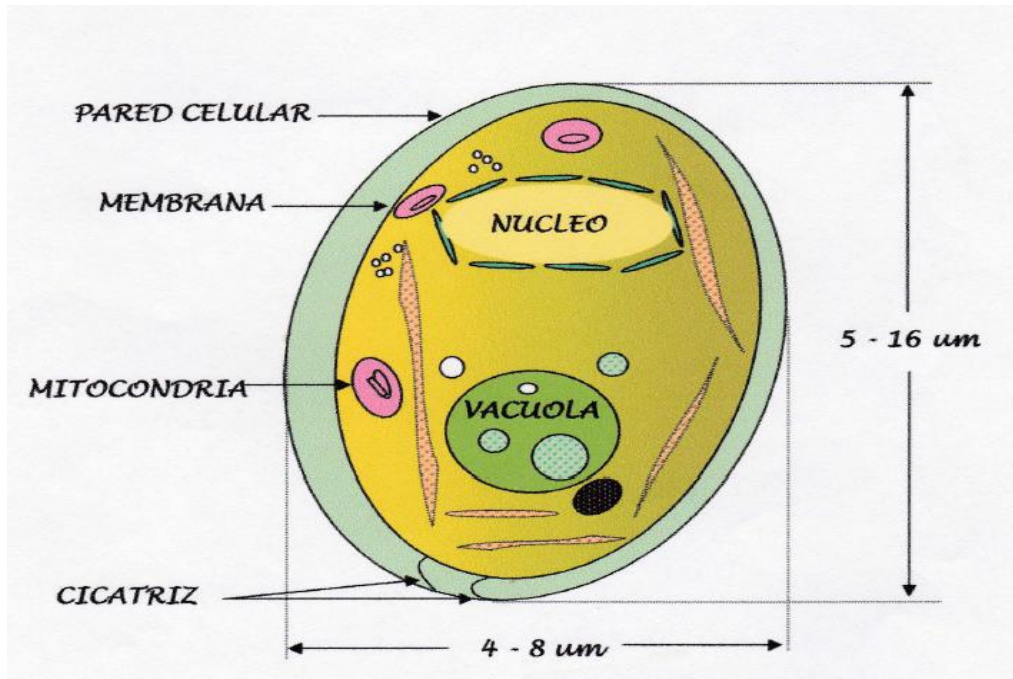


Fig. 1.1. La levadura y sus partes fundamentales.⁽¹⁾

Según la fig. 1.1, muestra la levadura y sus partes principales, mientras que la fig. 1.2., el modo como ella se reproduce.

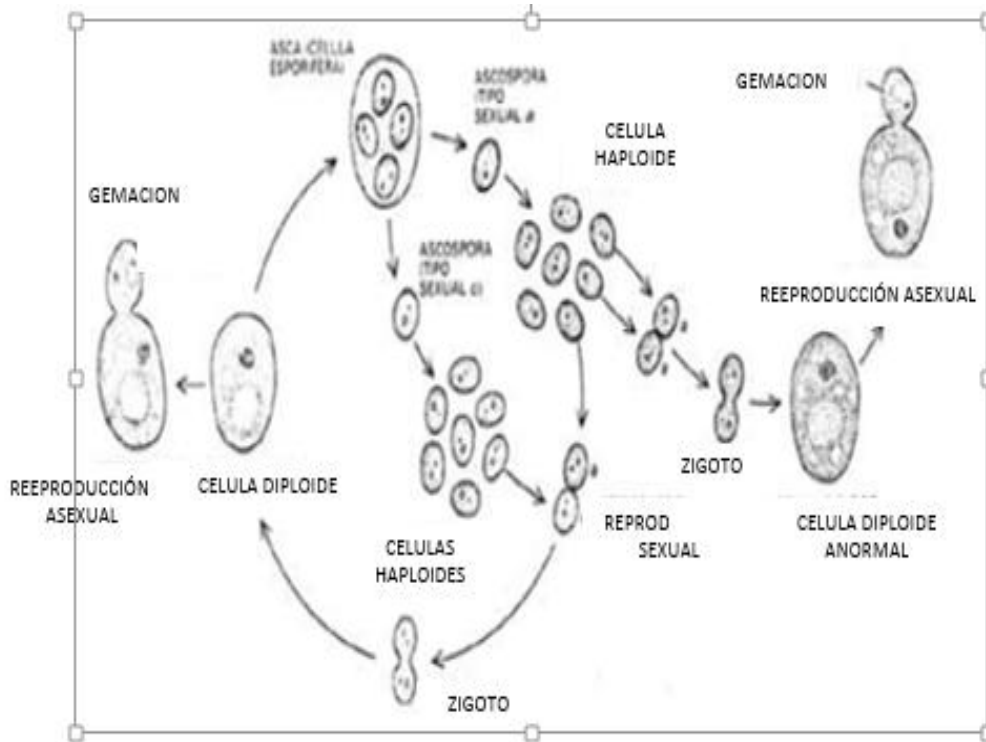


Fig. 1.2. Reproducción de la levadura.⁽¹⁾

La levadura se reproduce por dos maneras diferentes: por brotamiento y por ascoporos (fig. 1,2).

Por brotamiento, una célula puede dar origen a cerca de 40 células hijas. En promedio son 24 generaciones, nunca dos brotes son formados en el mismo local. La velocidad en que las dos células nuevas son reproducidas depende de tres factores: temperatura, sales minerales y oxígeno. Existen condiciones óptimas para estas tres variables, para cada variedad de levadura. De manera general, una generación es producida en 1 a 2 horas, en condiciones ideales.

Es en la degradación u oxidación de los azúcares que la levadura consigue energía para la síntesis de material celular.

En la presencia de oxígeno, la mitocondria es utilizada intensamente y una gran cantidad de energía es producida en la oxidación total de los azúcares a dióxido de carbono y agua. En cambio si el medio no tiene oxígeno (aire), la mitocondria no funciona, entonces la levadura producirá etanol. La energía producida en la transformación del azúcar en etanol es mucho menor (19 veces), que la energía producida en la transformación de azúcar en dióxido de carbono en presencia de oxígeno.

El entendimiento del mecanismo fisiológico de como la levadura vive es importante, porque ayudará bastante en la mejora de las condiciones de fermentación, incrementando el rendimiento

1.4. Transformación de azúcar en alcohol

La célula para poder vivir y multiplicarse, tiene que producir energía, y la fuente de energía son los azúcares (carbohidratos). Estos además de servir como fuente de energía, son también los precursores de los aminoácidos, proteínas, polisacáridos y lípidos.

En el mosto de jugo de caña, el azúcar en mayor cantidad es la sacarosa, además también se tiene la glucosa y la fructosa. La sacarosa para poder ser transformada en alcohol tiene que ser primero hidrolizada, esto es hecho con la ayuda de la invertasa que se localiza en la pared celular de las levaduras. El producto de la hidrólisis de la sacarosa es la fructosa y la glucosa mediante el proceso de la inversión o invertasa, esto se realiza con facilidad en soluciones ácidas a velocidades que aumentan notablemente según el aumento de la temperatura y la disminución del pH.

Estos productos son absorbidos por la levadura e inmediatamente fosforilados (una molécula de fosfato se une a la de azúcar). Esta molécula (activada), puede seguir varios caminos: formar polisacáridos de reserva y pared celular; formar aminoácidos y proteínas para las membranas y enzimas; entrar en la vía glucolítica produciendo energía en forma de ATP (Trifosfato de adenosina) y el Ácido Pirúvico (Piruvato). Si el medio contiene oxígeno, el ácido pirúvico será oxidado en la mitocondria, produciendo una gran cantidad de energía en forma de ATP, dióxido de carbono y agua. Si no hubiera oxígeno, la

OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL JUGO DE CAÑA PARA OBTENER BIOETANOL EN LA PLANTA PILOTO DE ALCOHOL DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA-UNAP

mitocondria no funciona, de allí, el ácido pirúvico será desviado para la producción de etanol.

Por lo tanto, la presencia o ausencia de oxígeno, controla la producción de etanol por la levadura. La fig 1.3 muestra a detalle las vías metabólicas que controlan la producción de etanol en la levadura.

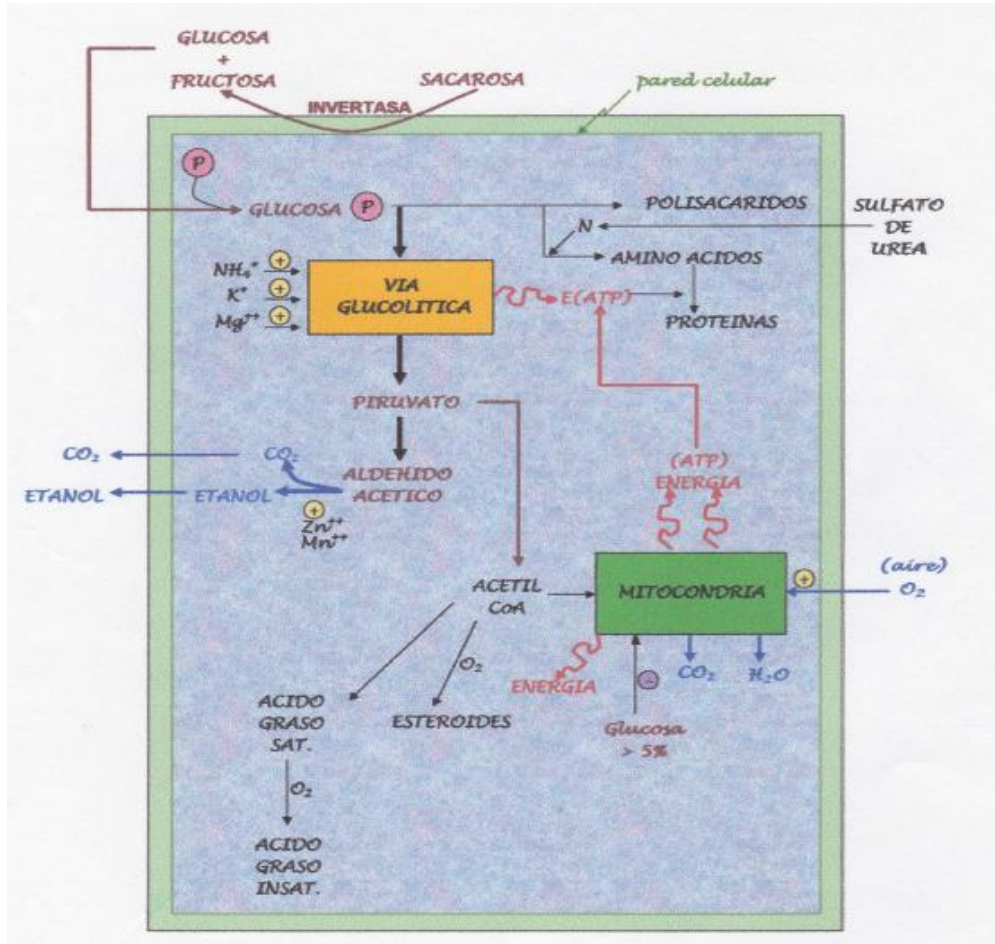
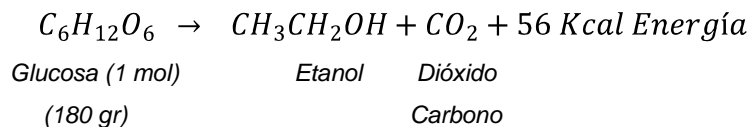


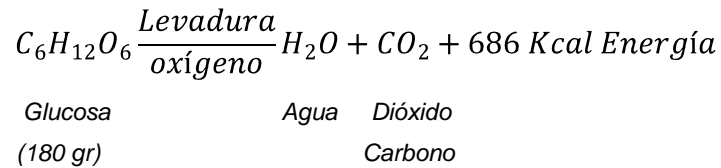
Fig. 1.3. Biosíntesis del etanol por la levadura⁽¹⁾

Cuando un mol de glucosa (180) es oxidado hasta etanol y dióxido de carbono, es liberada una energía equivalente a 56 Kcal, siendo cerca de 40 Kcal disipadas en forma de calor, y, otras 16 Kcal almacenadas como energía química en forma de ATP.

Levadura



Si el medio posee oxígeno, un mol de glucosa (180 g) se oxida en la vía glucolítica y en la mitocondria, produciendo dióxido de carbono y agua, liberando 686 Kcal, siendo cerca de 300 Kcal en forma de energía química (ATP), y, unas 386 Kcal disipadas en forma de calor:



Es por ésta razón que, en presencia de oxígeno, la multiplicación de la levadura se da mucho más intensamente, pues la cantidad liberada de energía química (ATP) es mucho mayor (19 veces). Por otro lado, en presencia de oxígeno, el consumo de glucosa es mucho menor que en ausencia de oxígeno.

La célula necesita de una menor cantidad de glucosa en presencia de oxígeno, porque la cantidad de energía producida es mucho menor.

1.5. Infección de la levadura

Una de las infecciones más frecuentes de la levadura, es por la acción de las bacterias, que engloba a un heterogéneo grupo de seres vivos celulares, evolutivamente muy antiguos y bien adaptados a todos los ambientes posibles, por esa razón, durante la fermentación, cuando la temperatura es superior a los 30°C, puede haber infección por bacterias, por lo que la fermentación debe pararse o de lo contrario, ser sometido a un proceso de enfriamiento.

1.5.1. Bacterias: Un tipo de infección

Los lactobacillus crecen en superficie sobre medio sólido, favoreciéndose su crecimiento en anaerobiosis al 5-10% de dióxido de carbono. El intervalo de temperatura y de pH óptimo de crecimiento se sitúa entre 35-38°C y 5,5-5,8 respectivamente. Los lactobacillus transforman la glucosa y las hexosasaldehídicas similares. Los carbohidratos que producen estos azúcares simples y los alcoholes polihidroxílicos en ácido láctico lo hacen

por homofermentación o bien, producen ácido láctico y otros productos adicionales como ácido acético, etanol, dióxido de carbono, ácido fórmico y ácido succínico. Además producen peróxido de hidrogeno, radicales libres, diacetilo, acetaldehído, isómeros D de los aminoácidos, antibióticos y bacteriocinas⁽⁵⁾.

A pesar de que las levaduras producen algunos ácidos orgánicos durante la fermentación, las concentraciones son relativamente bajas en comparación con las producidas por los lactobacilos y otras bacterias contaminantes, afectando así el rendimiento de alcohol.

1.5.2. Tamaño de los microorganismos

En la medida del tamaño de los microorganismos se usan unidades menores que el milímetro (mm), para evitar el uso de los decimales. De modo general, para la medida de las bacterias y levaduras se usa el micrón (u), que es la milésima parte de un milímetro, o sea un micrón.

Las células de levaduras y de mayoría de las bacterias pueden ser medidas fácilmente desde que sean vistas con el sistema de lentes de mayor aumento.

1.5.3. Estructura de las bacterias

Estos microorganismos se presentan como esferas, bastonetes y espirilos.

Las esferas son conocidos como cocos y varían de 0.5 u a 1.0 u de diámetro, el ordenamiento celular depende del orden sucesivo de la división. Si dado el caso, la división del organismo ocurriera en aglomerados semejantes al de un racimo de uvas, es denominado estafilococos. Cuando la división se da siempre en un mismo plano, como las células hijas adhiriéndose unas a otras, resultará la formación de cocos, denominada estreptococos. Si las células se dividen sucesivamente en dos planos en ángulos rectos, ellas forman conjuntos de 2, 4, u 8 células, conocidas como diplococos, tétradas y sarcinas.

Las bacterias semejantes a bastones varían de 1 a 10 u de longitud, y de 0.3 a 1.0 u de ancho. En algunas de ellas, la parte terminal del bastonete parece ser redonda y en otras cuadrada. Estas son denominadas bacilos o bastonetes, y se pueden presentar aisladas, en pares o en cadenas cortas y largas⁽¹⁾.

En la fig. 1.4. se detalla algunas bacterias en lo que respecta a su morfología.

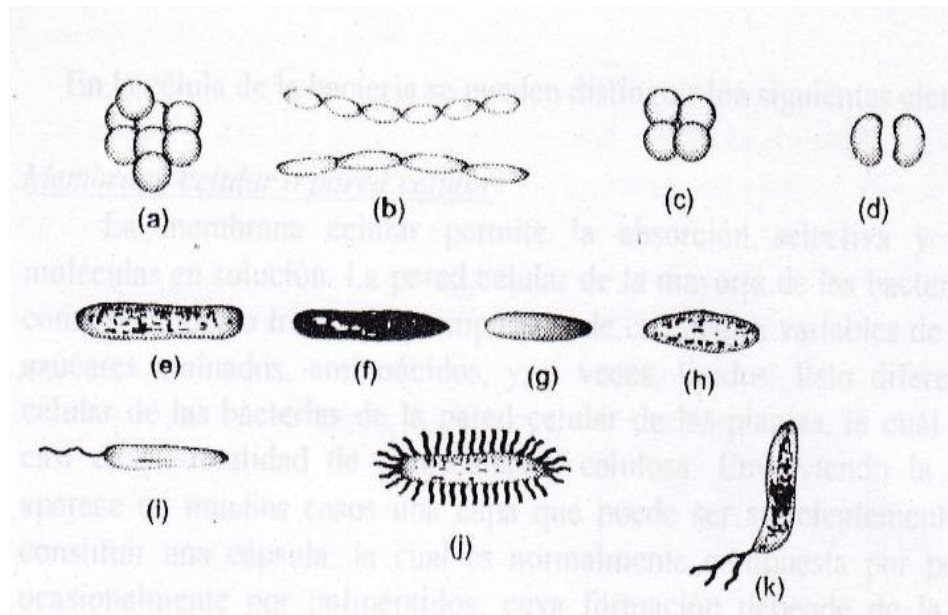


Fig. 1.4. Morfología de las bacterias: a) Stapilococos. B) Streptococos
c) Tetrada. d) Neiseria. e), f), g), h) Bacilos i) Bacilos con flagelo polar
j) Bacilo con flagelo peritrico⁽¹⁾.

1.5.4. Reproducción de las bacterias

Las bacterias de modo general, se dividen por "**fisión bacteriana**" y algunas veces por brotamiento, o sea, formación de pequeños brotes llamados **gonidios**. Si esta reproducción es mitótica o amitótica, no es aún conocido, porque el aparato nuclear de las bacterias es muy pequeño. La reproducción sexual también puede ocurrir dando origen a individuos con las mismas propiedades que los padres.

1.5.5. Multiplicación de las bacterias

Cuando las bacterias son colocadas en un medio nuevo y nutritivo, hay normalmente un corto periodo, donde una pequeña división ocurre. Después de este periodo, las células comienzan y continúan un proceso rápido de multiplicación en progresión geométrica, donde las células crecen y se multiplican en dos y, cada hija se divide en seguida. El tiempo para que la célula hija llegue a la madures y luego dividirse, es denominado “tiempo de generación”, el cual, para algunas bacterias, es relativamente corto, siendo bajo condiciones óptimas no superior a los 20 minutos.

Después de cierto tiempo, debido al consumo de los nutrientes y a la acumulación de productos metabólicos y otros productos, la velocidad de la división celular disminuye y finalmente empiezan a morir, luego la mayoría estará muerta.

Cuando en un grupo bacteriano, se hace el conteo de las células vivas en intervalos de tiempo después de la inoculación, el logaritmo del número de células es colocado en un gráfico de coordenadas cartesianas y, el tiempo en el eje de las abscisas, se obtiene un gráfico semejante al de la fig. 1.5.

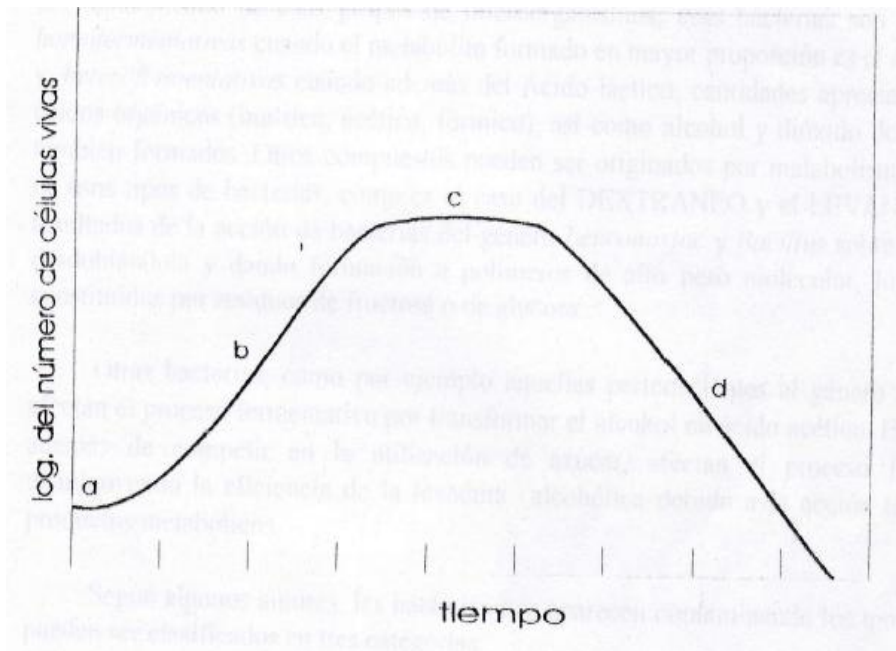


Fig. 1.5: Curva de crecimiento de los microorganismos

En este gráfico se pueden distinguir las siguientes fases:

- ✓ Log – Fase: periodo de adaptación e inicio de la multiplicación.
- ✓ Fase logarítmica: multiplicación rápida (progresión geométrica).
- ✓ Fase estacionaria: Cuando no hay multiplicación aparente.
- ✓ Fase de declinio: Cuando los organismos están formando esporos o muriendo.

1.6. Agentes infecciosos de la fermentación

Dentro de los organismos responsables por el fracaso de la fermentación alcohólica de jugo de caña, se destacan las bacterias pertenecientes a los géneros: Acetobacter, Lactobacillus, Castridium, Bacillus, Streptococos, Leuconostoc, etc. De acuerdo con los productos resultantes del metabolismo de esos grupos de microorganismos, esas bacterias son denominadas homofermentativas, cuando el metabolito formado en mayor proporción es el ácido láctico y, heterofermentativos cuando además del ácido láctico, cantidades apreciables de otros ácidos orgánicos (butírico, acético, fórmico), así como alcohol y dióxido de carbono son también formados. Otros compuestos pueden ser originados por metabolismo de algunos de esos tipos de bacterias, como es el caso del DEXTRANEO y el LEVANEEO, que son resultados de la acción de bacterias del género Leuconostoc y Bacillus sobre la sacarosa, desdoblándola y dando formación a polímeros de alto peso molecular, los cuales son constituidos por residuos de fructosa o de glucosa.

Otras bacterias como aquellas pertenecientes al género Acetobacter, afectan el proceso de fermentación por transformar el alcohol en ácido acético. Esas bacterias además de competir en la utilización de azúcar, afectan el proceso fermentativo, disminuyendo y la eficiencia de la levadura alcohólica, debido a la acción tóxica de sus productos metabólicos.

Las bacterias que contaminan los mostos de caña de azúcar, se clasifican en tres categorías:

1. Especies que producen sustancias mucilaginosas.
2. Especies aeróbicas formadoras de esporas.
3. Especies aeróbicas no formadoras de esporas.

Las bacterias presentes en el jugo de caña, pueden ser mesófilas y termófilas, esto es, bacterias que se desenvuelven a temperaturas por debajo de 45°C y encima de los 45 °C respectivamente, pudiendo la última soportar temperaturas del orden de los 70 °C.

Las pérdidas de sacarosa debido a la acción de los microorganismos provenientes de la caña y que se multiplican durante las operaciones de extracción hasta la clarificación del jugo, no son bien determinados, mientras tanto, experimentos de laboratorio tienen demostrado que el jugo de caña dejado en reposo por 6 horas, pierde 14.3% de su sacarosa.

En la industria, ha sido estimado que las pérdidas de sacarosa por infección durante las operaciones de extracción son de 0.5 a 1.0 %.

Los microorganismos presentes en la caña de azúcar pueden ser originarios del suelo que se adhiere al rastrojo y a las hojas, del agua de lavado de caña, y, contaminantes del aire. La mayor o menor cantidad de microorganismos en la caña hasta la extracción del jugo, va a depender de los siguientes factores:

- ✓ Sistema de corte.
- ✓ Tiempo transcurrido entre el corte, transporte, almacenamiento y molienda.
- ✓ Temperatura y humedad del aire.

Durante y después de la molienda, el jugo obtenido podrá tener su carga microbiana aumentada, debido a:

- ✓ Falta de higiene en los equipos de extracción y separación de sólidos en suspensión.
- ✓ Cantidad de bagacillo y tierra que acompaña al jugo.

Otro tipo de infección que viene ocurriendo en la fermentación, es la infección causada por la levadura salvaje. Algunas de ellas tienen tamaño y formas diferentes de las levaduras industriales. Pueden tener rendimiento fermentativo igual o menos que la levadura industrial. Otras no se separan las células hijas, de las células madres y

producen una espuma incontrolable. Para el control de esta infección es necesario variar el pH y la temperatura de la fermentación, aumentar los cuidados asépticos durante el proceso de fermentación (tanques, tuberías, etc).

1.7. Factores que afectan la fermentación

La fermentación es afectada por una serie de factores, y, la variable más importante que puede ser afectada, es el rendimiento de la fermentación ó rendimiento alcohólico, esto es el porcentaje de azúcar que se transforma en alcohol, en relación a la cantidad máxima teórica de la ecuación de Gay Lussac (100 kg de azúcar, en la forma de glucosa y/o fructosa, producen un máximo de 64.7 litros de alcohol a 20°C).

La fermentación en un proceso batch o intermitente, se divide en tres fases:

1. Fase Preliminar: es el periodo en que la levadura se está adaptando al nuevo medio (mosto) y, la producción de alcohol y células es muy pequeña. Este periodo dura de 0.5 a 3 horas.
2. Fase Intensa: Es el periodo en que hay una gran producción de etanol con un consecuente aumento de células. Esta fase puede durar de 3 a 20 horas, dependiendo de la concentración inicial y calidad de levadura, de la cantidad y calidad de las sales presentes, así como de la temperatura del mosto.
3. Fase Final: En este periodo prácticamente no hay multiplicación celular, aunque si hay una pequeña producción de etanol. Esta fase puede durar de 2 a 6 horas, o tal vez más, dependiendo de las condiciones descritas para la fase intensa.

La multiplicación de la levadura es paralela a la producción de alcohol. La razón de esta asociación es porque las células no se multiplican si no hubiera energía. Como no hay oxígeno, la energía producida depende directamente de la producción de etanol.

Habiendo una mayor producción de células, la cantidad de alcohol producida por hora aumenta proporcionalmente. Se puede observar también en esta fase, un aumento en el

desprendimiento de calor y una consecuente elevación de la temperatura del mosto en fermentación.

1.7.1. Calidad del mosto

El mosto, es la solución acuosa que contiene el azúcar que va a ser transformado en alcohol. Además de los azúcares fermentables (sacarosa, glucosa y fructosa), el mosto contiene también una gran cantidad de sales.

Las sales forman parte de la calidad del mosto, un mosto con pocas sales o con muchas de algunas sales, no son considerados mostos de buena calidad.

La relación entre las sales es importante, principalmente Ca, Mg; cuya relación no debe ser mayor que uno. La presencia de potasio encima de 4000 ppm también afecta negativamente al rendimiento de la fermentación, originando un aumento en la producción de glicerol⁽⁴⁾.

Sales como los sulfitos, son los tóxicos al fermento o levadura, estas sales son encontradas en mieles, donde hubo uso de azufre para la clarificación. Contenidos de sulfitos encima de 100 ppm empiezan a afectar el fermento.

Acidez elevada en el mosto, no es aconsejable, esto significa melaza caramelizada o, mucho azufre, o nivel de infección alta.

Otros componentes del mosto que denotan una mala calidad, son las proteínas, pues estas son estabilizadoras de espumas que tanto trastorno traen al fermentador con el consecuente perjuicio, por las pérdidas de azúcar y alcohol. Tierra, arena, bagacillo y otros componentes similares disminuyen la calidad del mosto, debido a la protección que dan a las bacterias contra los biocidas, bactericidas y al calentamiento, además de obstruir los intercambiadores de calor, filtros y centrifugas.

El mosto de jugo de caña, debe tener el mínimo posible de bacterias, esto se puede conseguir con el calentamiento del jugo y/o uso de biocidas o bactericidas. Cuando no se

calienta el jugo, el uso de biocida es peligroso, puede matar a los microorganismos de la levadura.

Bactericida en el dosaje correcto, podrá ser usado sin recelo, la muerte de las bacterias por calentamiento, biocida, o bactericida, es inversamente proporcional a la cantidad de sólidos disueltos en suspensión en el mosto.

La clarificación del jugo debe ser hecha por calentamiento hasta 105 °C, con ácido fosfórico y encalado, si fuera posible. El pH del jugo, antes de entrar al decantador, no debe ser nunca superior a 5.8.

El zinc y el magnesio debajo de 0.7 ppm, puede atrasar la fermentación y también bajar el rendimiento de alcohol, así como el fósforo, que además de lo anterior, puede disminuir la viabilidad del fermento. Existen experiencias de que sin clarificar el jugo, se puede aumentar el rendimiento de la fermentación del 3 % al 7%⁽⁴⁾.

1.7.2. Infección

La proliferación de los microorganismos se da por la presencia en el medio de azúcares, sales y humedad, la mayor parte de estos microorganismos son bacterias del género *Acetobacter aerogenes*, que también son encontrados en el suelo, donde su concentración mayor es alrededor del pie de la caña hasta cerca de 15 cm de diámetro.

Otro microorganismo que es bien conocido, es la bacteria *Leuconostocmesenteroides* y *L. dextranicum*, ambas producen el dextrano. Estas bacterias se localizan en el suelo, su mayor concentración está situada a cerca de 45 cm del pie de la caña.

Cuando llueve hay una lixiviación de azúcares, aminoácidos y sales, éstos se van a acumular en las vainas de las hojas de la caña como en el suelo, aumentando sustancialmente la población microbiana, tanto de la caña como del suelo. La caña después de cogida, en contacto con el suelo mojado, se deteriora con facilidad, debido a ese aumento tremendo de microorganismos y a las condiciones de humedad propicia para su desenvolvimiento. Estos microorganismos pueden penetrar por el corte, cerca de

15 cm en dos horas, y si las condiciones fueran favorables, en una caña con orificio longitudinal interior, la infestación puede ser total en 18 horas, lo que por cierto causaría serios problemas en el procesamiento y fermentación⁽⁸⁾.

1.7.3. Temperatura del mosto

La temperatura del mosto, tiene una importancia muy grande en la fermentación, si la temperatura es baja (bajo los 26 – 27°C), el fermento puede no pegar debido al choque térmico. La solución es airear con aire calentado, otra solución es alimentar a la tina fermentativa con mosto caliente de unos 40 a 50°C.

Mosto caliente por encima de los 28 – 29°C, puede acarrear un sobrecalentamiento en las tinas de fermentación, siendo el resultado una disminución en el rendimiento alcohólico por una mayor evaporación de alcohol durante la fermentación. Por otro lado, existe una correlación altamente positiva entre bacterias en el mosto y la temperatura de éste mosto, principalmente entre temperaturas de 30°C a 40°C, por lo tanto, si la temperatura del mosto fuera encima de 30°C, el número de bacterias aumentará proporcionalmente con el aumento de la temperatura hasta 40°C.

1.7.4. Temperatura de la fermentación

La temperatura de fermentación debe ser constante desde el inicio hasta el final, como es muy difícil esto, por lo menos se aconseja mantener la temperatura debajo de 34°C y encima de 28.5°C en fermentación en sistema batch.

Si la fermentación se inicia a 29°C y va para 33°C, no dejar caer a 25°C en el final, pues esta diferencia es suficiente para inhibir la levadura, luego el azúcar no será desdoblada.

Para cantidades de alcohol en las tinas de fermentación, hasta 7.5 %, se debe trabajar en un rango de 29 a 31°C, caso contrario la viabilidad cae mucho. La levadura Fleischman consigue fermentar a partir de los 29°C.

El mayor problema de temperatura encima de 33°C es la multiplicación de las bacterias, que es superior a la del fermento.

Los factores que causan la variación de la temperatura de la fermentación pueden ser resumidas en lo siguiente:

- ✓ ART del mosto. Cuando más azúcar en el mosto, más alcohol es producido, más calor es liberado.
- ✓ Porcentaje de levadura. Cuanto mayor es el porcentaje de levadura, más rápida es la fermentación, por lo tanto, más energía es liberada por unidad de tiempo, consecuentemente, mayor calentamiento en las tinas de fermentación.
- ✓ Temperatura del mosto.

Altas temperaturas, además de aumentar considerablemente la pérdida de alcohol por evaporación, ocasionan una gran muerte de fermento, al mismo tiempo que proporciona un medio favorable para las bacterias.⁽³⁾

La alimentación a las tinas, debe ser en una velocidad tal que nunca en momento alguno el contenido de ART en la tina alcance 10%. Si esto ocurriera, habrá por cierto reducción en el rendimiento de la fermentación. De igual modo, la temperatura no debe elevar más de 34°C. Cuanto más rápido es la alimentación, mayor es la producción de glicerol y menor el rendimiento fermentativo. La alimentación no debe ser muy lenta tampoco, pues la evaporación de alcohol y el peligro de contaminación puede ser grande. La velocidad de alimentación tiene que ser compatible con la bajada del Brix, o el consumo de azúcar por la levadura.

1.7.5. Ph

El crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* se ve favorecido por un pH aproximado de 3.5 a 4.5 y no se desarrollan bien en medio alcalino a menos que se hayan adaptado al mismo. A pesar de la tolerancia bastante amplia de esta para las variaciones de pH a partir de los sustratos habitualmente usados en los medios de cultivo forman productos en especial ácidos que influyen en el crecimiento celular, producción enzimática y utilización

de glucosa. Así por ejemplo, algunas investigaciones han observado que con un pH inicial del medio a valores entre 4.0 y 5.1 se obtiene mejor crecimiento.⁽⁴⁾

1.7.6. Contenido alcohólico del mosto

De manera general, cuanto más alcohol tiene el mosto, habrá mayor rendimiento alcohólico. Esto está ligado a una serie de factores que van a determinar el rendimiento de la fermentación, y, por lo tanto, el contenido de alcohol en el mosto. Por otro lado, cuando se tiene problemas, también se usa disminuir el contenido alcohólico del mosto, bajando la concentración de ART del mosto.

En el inicio de la zafra, cuando el objetivo principal es el de multiplicar el fermento, no se debe forzar el ART del mosto para obtener altos contenidos alcohólicos, pues así no se multiplicará el fermento. Después que el fermento alcanzó valores de 6 a 7.5 % (v/v), si aumentamos además el ART del mosto, primero debemos disminuir la tasa de crecimiento y, después el porcentaje de levadura comienza a caer. Se debe observar con cuidado si no hubo demasiado aumento en la temperatura de la fermentación, pues frecuentemente hay ese aumento. Se debe trabajar con un contenido alcohólico que guarda relación con las condiciones que se tiene en el área de fermentación. Lo ideal sería trabajar con contenidos de alcohol de 9.5 a 10 % (v/v), o superiores, para este caso debemos de tener las tinas de fermentación cerrada. Si las tinas están abiertas, no se debe pasar del 8.5 % (v/v) de contenido alcohólico en el vino.

Con un contenido de alcohol de 8% en el mosto y temperatura de 34°C, se pierde aproximadamente 0.8% de alcohol producido. Contenidos de alcohol mayores y temperaturas de fermentación más elevadas, lógicamente las pérdidas serán también mayores, pudiendo llegar de 1.5 a 2.0%.

1.8. Pérdidas de Alcohol

El alcohol, puede perderse por varios factores, como es la temperatura, si este se incrementa por encima de los 34°C, hay evaporación del alcohol producido en el proceso de fermentación otro de los factores por la que se pierde el alcohol, es cuando el pH

disminuye hasta lograr un valor por debajo de 2.8; en este caso la fermentación no es alcohólica, sino se efectúa una fermentación acética.

1.8.1. En la fermentación

Durante la producción de alcohol, las pérdidas más comunes son por evaporación acelerada por la producción de dióxido de carbono. Estas pérdidas varían de 0.2% a 2.0%, dependiendo del grado alcohólico y de la temperatura de la fermentación. Si el rendimiento de la fermentación llega a valores encima de 86 – 87%, ya se está en la hora de cerrar las tinas de fermentación.

El alcohol producido puede ser transformado en ácido acético, si hubiera condiciones para eso, retener el mosto por muchas horas después de terminada la fermentación, puede favorecer a ésta transformación y también a la evaporación.

1.9. Accidentes de la fermentación alcohólica

En una fermentación alcohólica, cuyo objetivo es obtener etanol, aparecen otros compuestos como productos secundarios en diminuta proporción. Cuando las condiciones de temperatura, de pH, de concentración en azúcares, de conservación de materia prima, de higiene, deficiencias en la preparación del mosto, se desenvuelven otros microorganismos especialmente bacterias, que actúan sobre los azúcares, así como también sobre los productos originados en la fermentación alcohólica, generando otros compuestos orgánicos. Estas fermentaciones extrañas se desarrollan paralelamente a la fermentación alcohólica, disminuyendo el rendimiento en alcohol.⁹

1.9.1. Fermentación acética

La presencia del ácido acético en una fermentación puede provenir de la oxidación del aldehído acético, producto intermediario de la transformación de azúcar en alcohol.

La mayor probabilidad de la presencia de éste ácido es que haya sucedido una fermentación acética ocasionada por bacterias del género Acetobacter, siendo las principales especies: A. Aceti, A.acetuzum, A.Pasteurianum, otras.

La presencia de una fermentación acética se detecta por el fuerte olor característico a vinagre.

1.9.2. Fermentación láctica

Consiste en la oxidación parcial de los hidratos de carbono, con producción de ácido láctico. Los agentes de ésta fermentación pertenecen a los géneros Lactobacillus y Streptococcus, siendo los más comunes: L.Acidophilus, S.lacti.

Estas bacterias se desenvuelven en mostos ácidos próximos a pH neutro. La temperatura de su actividad es elevada, situada ente 30 – 45°C.

1.9.3. Fermentación butírica

Cuando se han generalizado las fermentaciones acética y láctica, traen consigo la fermentación butírica, la cual proviene de la oxidación de los hidratos de carbono.

Los agentes de ésta fermentación son bacterias pertenecientes al género Clostridium, siendo la principal especie C. Pasteurianum. Se detecta su presencia por un fuerte olor a rancio⁽⁸⁾.

1.10. Control de los accidentes de la fermentación

Se pueden controlar los accidentes de la fermentación a través de la observación de las siguientes recomendaciones:

- a. Emplear materia prima bien conservada.
- b. Preparar los mostos adecuadamente, de buena calidad.
- c. Usar los antisépticos dentro de las especificaciones técnicas.

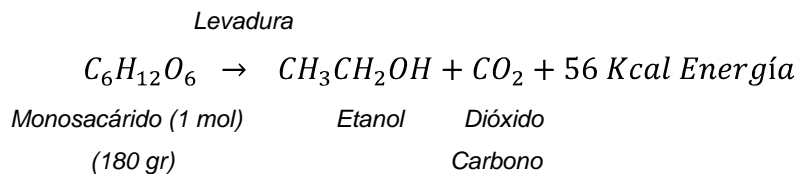
- d. Emplear un fermento vigoroso, puro y en cantidad suficiente para realizar el proceso fermentativo en tiempo razonable.
- e. Mantener la temperatura de fermentación en lo posible, en torno a 30°C, con auxilio de enfriamiento.
- f. Efectuar constantemente análisis microscópicos para verificar el grado de contaminación de la levadura.
- g. Mantener todas las instalaciones de la destilería en condiciones asépticas, esto es sin duda, el factor más importante para controlar las infecciones.

1.11. Rendimiento de la fermentación alcohólica

Para hallar el rendimiento de la fermentación, es necesario determinar las cantidades totales de azúcares contenidos en el mosto, luego relacionarlo con el grado alcohólico del mosto resultante.

1.11.1. Rendimiento ideal (Gay-Lussac)

A partir de la ecuación química de la fermentación, Gay-Lussac estableció las siguientes relaciones:



180 gr de Glucosa \rightarrow 92 gr Etanol

100 gr de Glucosa \rightarrow x

x = 51.1 gr

100 gr de glucosa producen 51.1 gr de Etanol, o 64.34 ml de Etanol a 15°C

dado que la densidad del Etanol puro es 0.7943

Cuando un mol de glucosa (180) es oxidado hasta etanol y dióxido de carbono, es liberada una energía equivalente a 56 Kcal, siendo cerca de 40 Kcal disipadas en forma de calor, y, otras 16 Kcal almacenadas como energía química en forma de ATP.

Como se observa no se han tomado en cuenta otras sustancias procedentes de las diversas reacciones colaterales formadas en una fermentación.

1.11.2. Rendimiento teórico (Pasteur)

Para determinar el rendimiento, Pasteur considera la formación de diferentes productos generados en una fermentación normal y calcula que con mostos bien preparados y una fermentación bien conducida, el rendimiento teórico es aproximadamente el 95 % del rendimiento ideal.⁽⁹⁾

1.11.3. Rendimiento práctico

El rendimiento práctico se considera del orden del 95 % del rendimiento ideal (parecido al rendimiento teórico de Pasteur).

CAPÍTULO II

MATERIALES, MÉTODO Y DESCRIPCIÓN DEL PROCESO EXPERIMENTAL

2.1. Materiales y Equipos de proceso

- ✓ Envases Metálico de 35 lt.
- ✓ Envases Plásticos de 3lt.
- ✓ Mangueras
- ✓ Colador
- ✓ Embudos
- ✓ Guantes
- ✓ Cocina eléctrica
- ✓ Balanza gramera digital
- ✓ pH metro
- ✓ Refractómetro
- ✓ Alcohólímetro

2.2. Materiales de laboratorio

- ✓ Probeta de 1000 y 250 ml
- ✓ Termómetro
- ✓ Vaso de precipitación de 500 ml
- ✓ Cronómetro

2.3. Materia prima e insumos

- ✓ Jugo de caña
- ✓ Levadura (*Saccharomyces cerevisiae*)
- ✓ Fosfato de amonio
- ✓ Sulfato de amonio
- ✓ Sulfato de zinc
- ✓ Sulfato de magnesio
- ✓ Sulfato de manganeso

2.4. MÉTODO

Ubicación

La presente investigación se realizó en el “Laboratorio de Alcohol de la Facultad de Ingeniería Química de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana”, ubicada en Av. Freyre N°610- Iquitos, Perú.

Variables a Evaluarse

Las variables cuantitativas evaluadas para materias primas fueron ° Brix, pH, temperatura y soluto en la solución. Durante la fermentación se consideró sólidos solubles, pH, temperatura durante el proceso además sólidos solubles finales y al producto terminado Grado Alcohólico y Rendimiento.

En Materia Prima

- ✓ **Sólidos Solubles (°Brix):** con la finalidad de evaluar el porcentaje de sólidos solubles presentes en el jugo de caña, cachaza y melaza; se empleó un refractómetro de escala 0° a 32° Brix.
- ✓ **pH:** para la obtención de los valores de pH en todas las materias primas utilizadas en la investigación se utilizó el pH metro, estos valores fueron tabulados para realizar los análisis que se detallan en análisis de variables para materia primas.

Durante el Proceso

- ✓ **Sólidos Solubles durante la fermentación:** con el objeto de determinar las curvas de fermentación del mosto, se empleó un refractómetro de escala 0° a 32° Brix, la toma de datos se efectuaron cada 2 horas en todo los tratamientos.
- ✓ **Sólidos Solubles finales:** se empleó un refractómetro de escala 0° a 32° Brix estos valores se los determinó al no registrar descensos en los valores del °Brix en cada uno de los tratamientos.

- ✓ **pH durante la fermentación:** se utilizó en la investigación pHmetro perteneciente al laboratorio de alcohol, los datos se registraron durante la fermentación en un periodo de 06 horas entre cada registro, esto se aplicó a todos los tratamientos.
- ✓ **pH finales:** se empleó un pHmetro perteneciente al laboratorio de Alcohol, estos valores se los determinó al no registrar descensos en los valores de pH en cada uno de los tratamientos.

Producto Terminado

- ✓ **Rendimiento de alcohol:** Se midió el volumen de alcohol destilado en relación al sustrato utilizado por 100. Con el objeto de conocer el rendimiento de alcohol de cada tratamiento.
- ✓ **Grado alcohólico:** se empleó un alcoholímetro, con la finalidad de determinar la cantidad de grados de alcohol presentes en el producto final.

Unidad Experimental

Cada unidad experimental, estuvo conformada por 35 litros de jugo de caña, la misma que fue obtenida de la carretera Iquitos – Nauta. (km 33.5).

PROCESO METODOLÓGICO EXPERIMENTAL CON NUTRIENTES

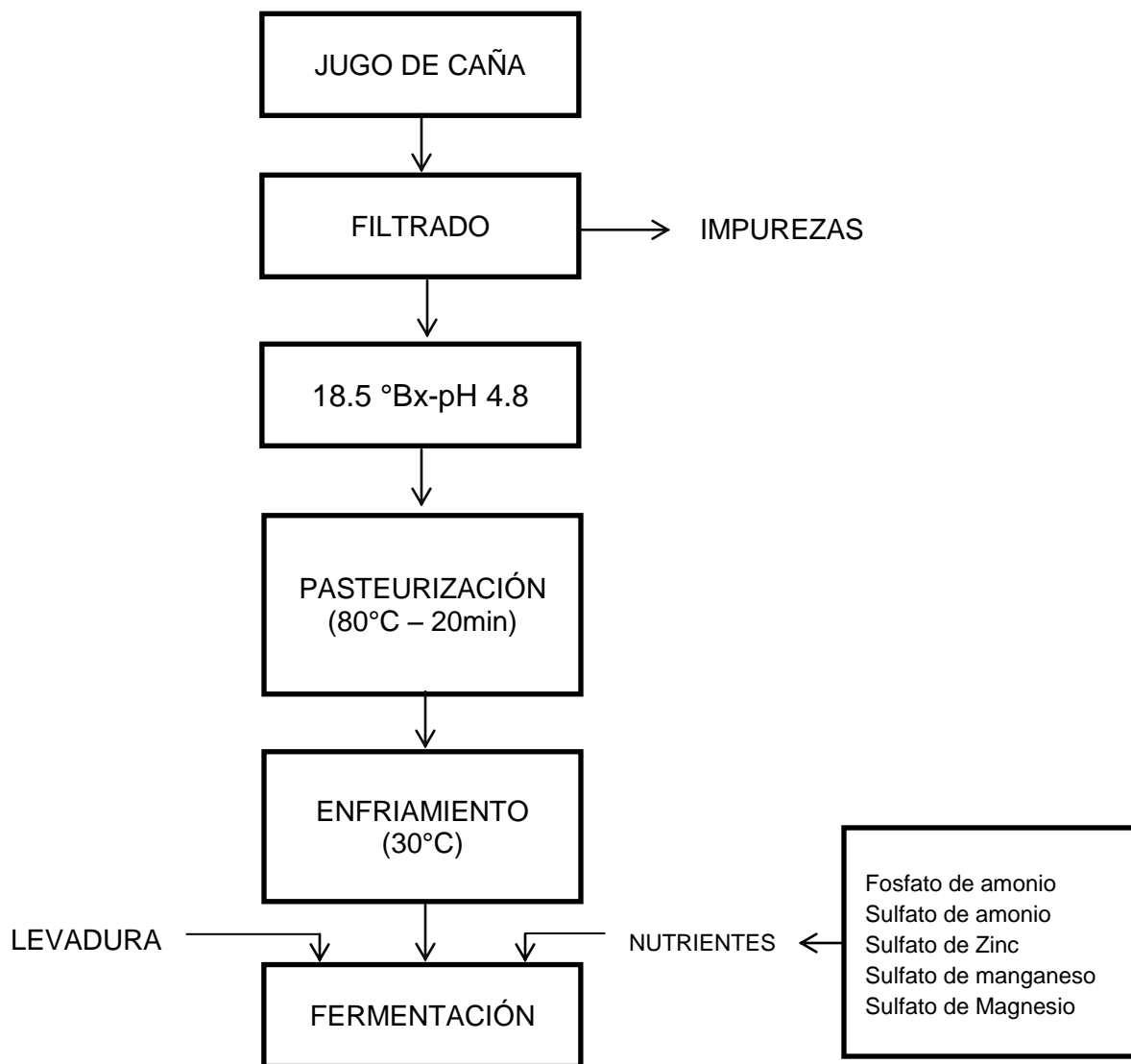
Microorganismo. Se empleó una cepa *Saccharomyces cerevisiae*, productora de etanol.

Tecnología existente. La destilería de la planta piloto de alcohol de la FIQ – UNAP consta de un sistema de fermentación de 4 fermentadores de 2 000 L de capacidad cada uno.

El sistema opera en el modo batch clásico sin recirculación de levadura. El tiempo de fermentación en sala es de 16 horas y produce 7,4% ° GL (Gay Lussac).

Etapas de propagación. El proceso de inoculación fue el mismo que tradicionalmente se emplea en la fermentación de melazas a saber, la levadura seca activa se disuelve en agua y se trasvasa a la tina de fermentación anaeróbica de 35 L los que previamente han sido cargados con sustrato y **sales nutrientes** (Fosfato de amonio, Sulfato de amonio, Sulfato de Zinc, Sulfato de Manganeso, Sulfato de magnesio) para la propagación en un volumen de 15-20% de su volumen total de trabajo. La propagación se lleva a cabo en un medio preparado a 18-18,5 °Bx para propiciar la activación de la ruta fermentativa en las células y prepararlas para la fase productiva, evitando una fase log larga. En la medida que se propaga el cultivo (conteo de campos al microscopio) se alimenta medio fresco en tres incrementos adicionales.

2.5. DIAGRAMA DE BLOQUES



2.6. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO EXPERIMENTAL

2.6.1. Adquisición y recepción de la materia prima e insumos:

Para realizar los experimentos referentes a la fermentación del jugo de caña, este se obtuvo de la carretera Iquitos-Nauta (Km 33.5).

Se trajeron 03 muestras en diferentes momentos:

Primera muestra: M1 (29 Noviembre del 2013).

Segunda Muestra: M2 (07 de Diciembre del 2013).

Tercera Muestra: M3 (14 de Diciembre del 2013).

En el mismo lugar, se tomaron medidas como: °Brix, pH.

Cuadro N° 01: Muestras de jugo de caña, °Brix, pH y Volumen

JUGO DE CAÑA	°Brix	pH	Litros
M1 (29/11/13)	18.50	4.80	35.00
M2(07/12/13)	18.40	4.78	34.50
M3(14/12/13)	18.46	4.78	34.50

Fuente: Grupo de Trabajo

2.6.2. Filtración, calentamiento y enfriamiento

Obtenido el jugo de caña, fue transportado a las instalaciones de las Plantas Piloto (Laboratorio de Alcohol), donde se realizó la filtración, con el fin de eliminar residuos (bagacillo) de la molienda., que puedan impedir la fermentación, posteriormente el jugo fue sometido a un proceso de calentamiento, hasta una temperatura de 80°C, por un periodo de 20 min, con la finalidad de eliminar microorganismos indeseables en la fermentación, posteriormente se enfrió el jugo hasta una temperatura de 30°C.

2.6.3. Fermentación

El jugo de caña de azúcar con una temperatura de 30°C, es sometido al proceso de fermentación, se agregaron diferentes concentraciones de levadura, además se agregó a cada muestra nutrientes (Fosfato de amonio, Sulfato de amonio, Sulfato de Zinc, Sulfato de Manganeso, Sulfato de magnesio).

Cuadro N° 02: Nutrientes y Concentración

Nutriente	Concentración en el mosto (ppm)		
	M1	M2	M3
Fosfato de Amonio	2.5	3.0	3.5
Sulfato de Amonio	5.0	5.5	6.5
Sulfato de Zinc	2.5	3.0	3.5
Sulfato de Manganeso	0.5	1.0	1.5
Sulfato de Magnesio	0.5	1.0	1.5

Fuente: Grupo de Trabajo

Cuadro N° 03: Muestras de jugo de caña, agregado de levadura.

MUESTRA	°Brix	pH	Litros	gr/lt	Gramos totales	T (°C)
M1	18.50	4.80	35	0.50	17.5	28.8
M2	18.40	4.78	34.5	1.00	34.5	29.0
M3	18.46	4.78	34.5	1.50	51.75	29.3

Fuente: Grupo de Trabajo

2.7. Variación de los Grados Brix con respecto al Tiempo de las muestras M1, M2 y M3

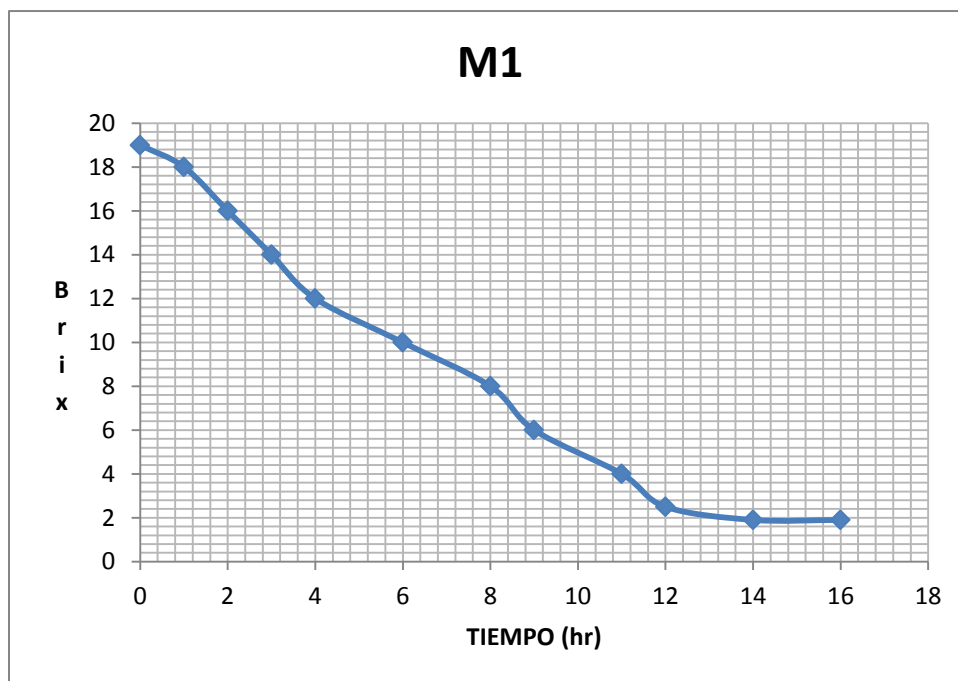


Fig. N° 2.1.: Variación de los Grados Brix (muestra M1)

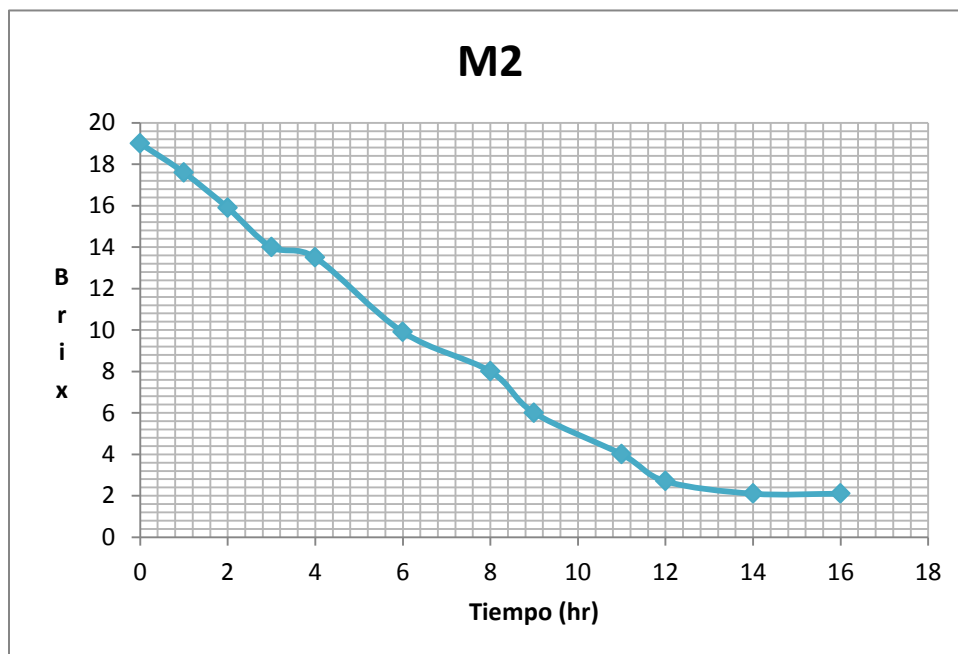


Fig. N° 2.2.: Variación de los Grados Brix (muestra M2)

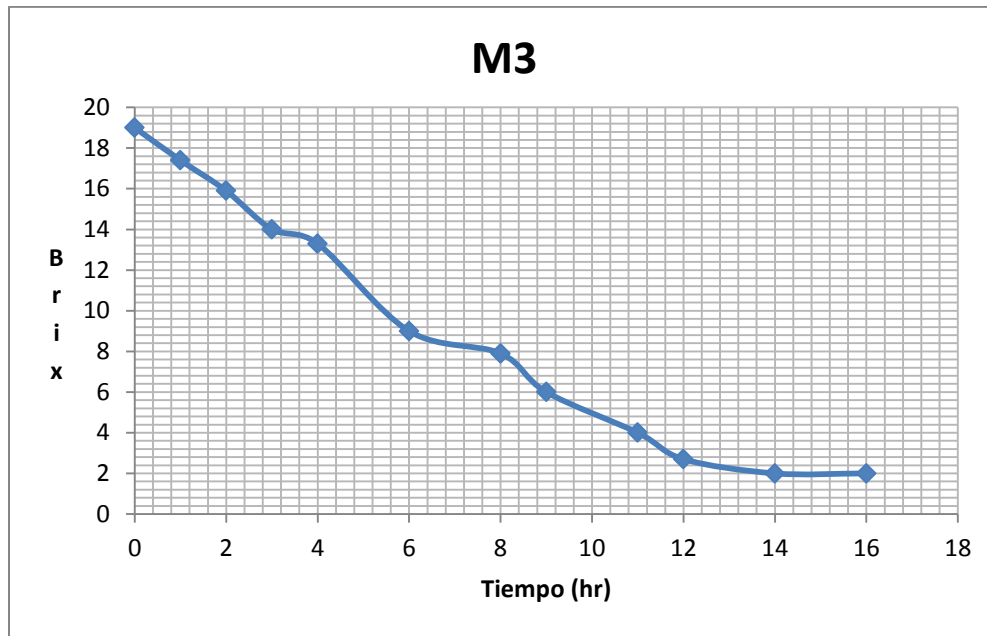


Fig. N° 2.3.: Variación de los Grados Brix (muestra M3)

En las figuras 2.1, 2.2 y 2.3., la variación de los grados Brix con respecto al tiempo tienen las mismas características, se puede notar que a partir de las dieciséis horas de fermentación, los grados Brix, se estabilizan, permaneciendo constante este factor en 1.9° Brix, por más que se agregó levadura, este valor no varió, por la no existencia de azúcares fermentecibles.

2.8. Variación de la concentración de alcohol con respecto al tiempo de las Muestras M1, M2 y M3

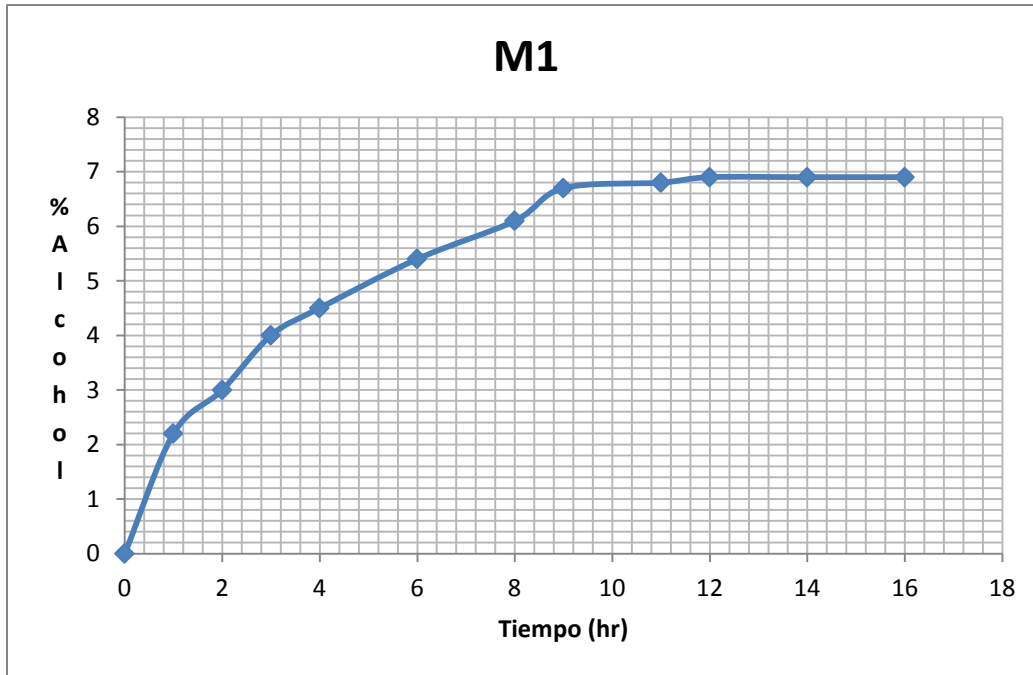


Fig. N° 2.4.: Variación del grado alcohólico (muestra M1)

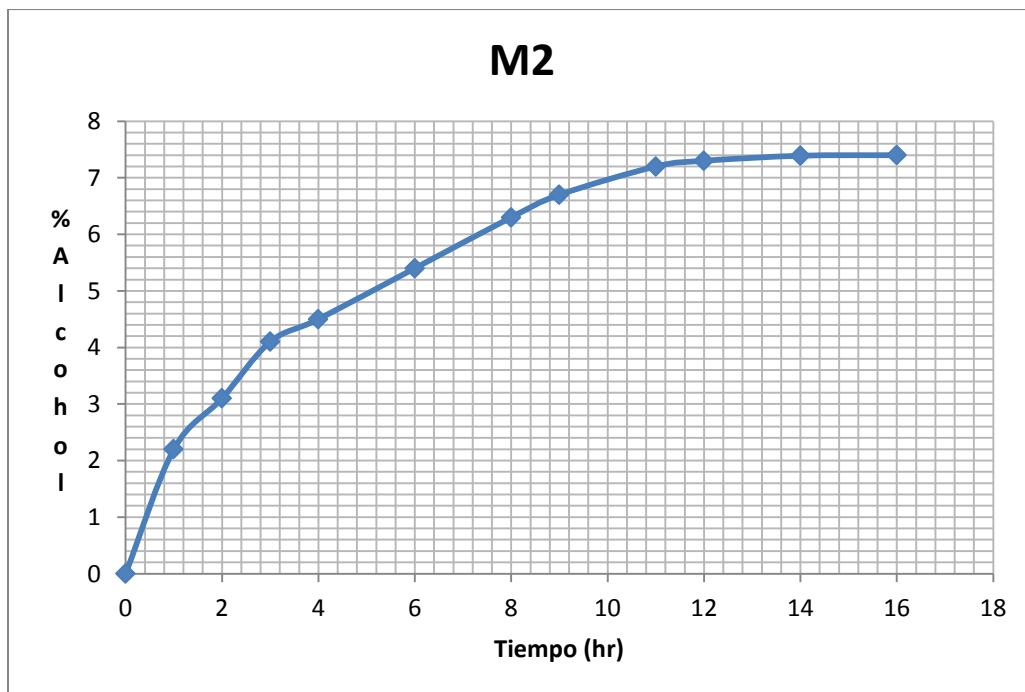


Fig. N° 2.5.: Variación del grado alcohólico (muestra M2)

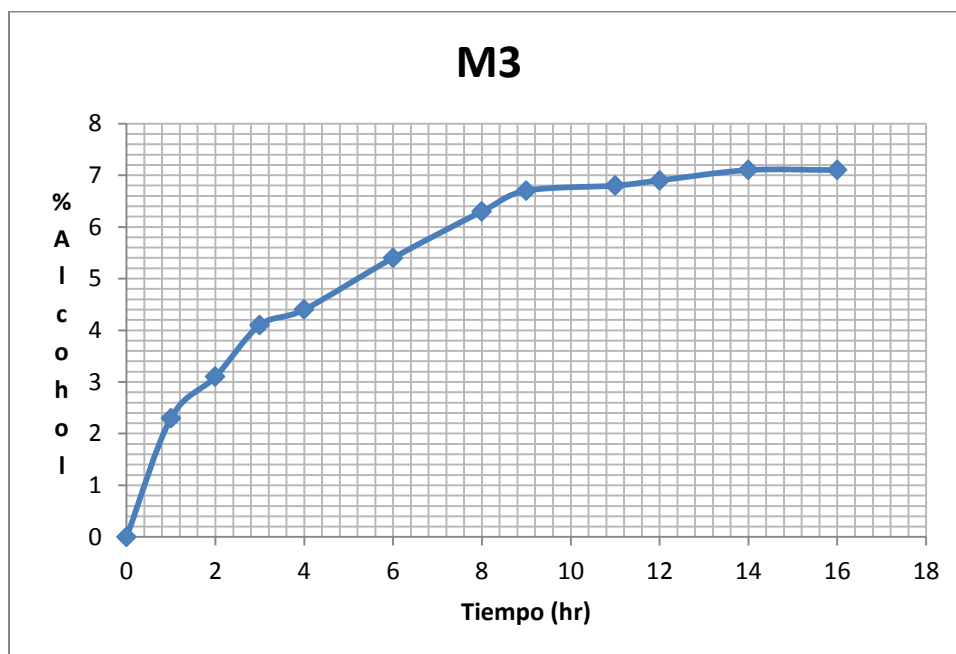


Fig. N° 2.6.: Variación del grado alcohólico (muestra M3)

En las figuras: 2.4, 2.5. y 2.6; inicialmente las diferentes muestras, no muestran contenido de alcohol, a medida que transcurre el tiempo, va incrementando el porcentaje, el máximo porcentaje, se determinó a las dieciséis horas de iniciada la fermentación, de las tres muestras el máximo porcentaje alcanzado fue de 7.4% en volumen, estabilizándose en el tiempo, correspondiente a la **muestra M2**.

2.9. Variación del pH con respecto al Tiempo de las Muestras M1, M2 y M3

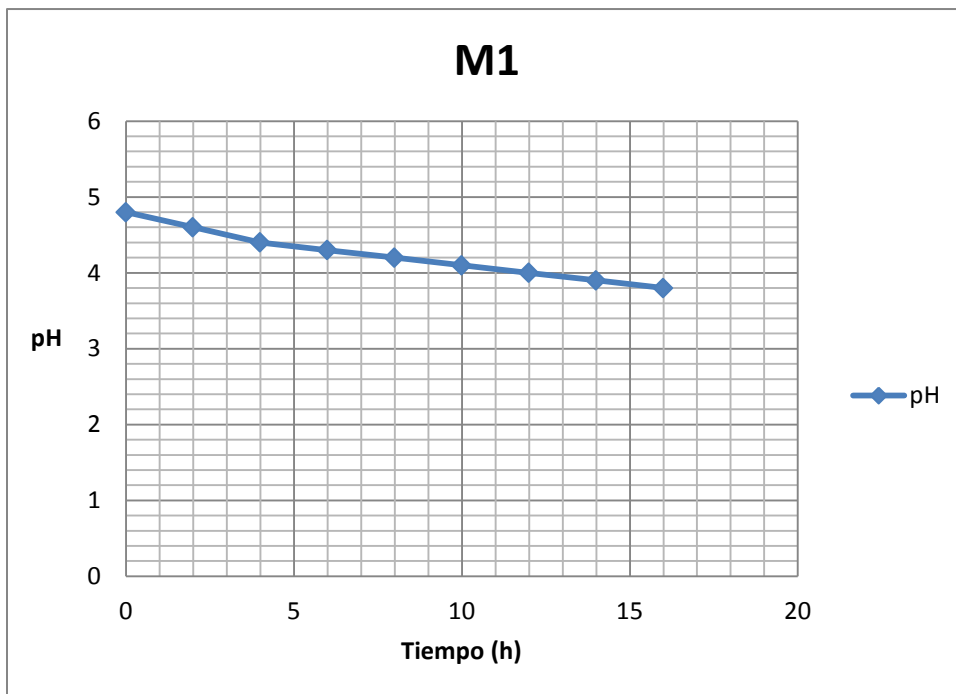


Fig. N° 2.7.: Variación de pH (muestra M1)

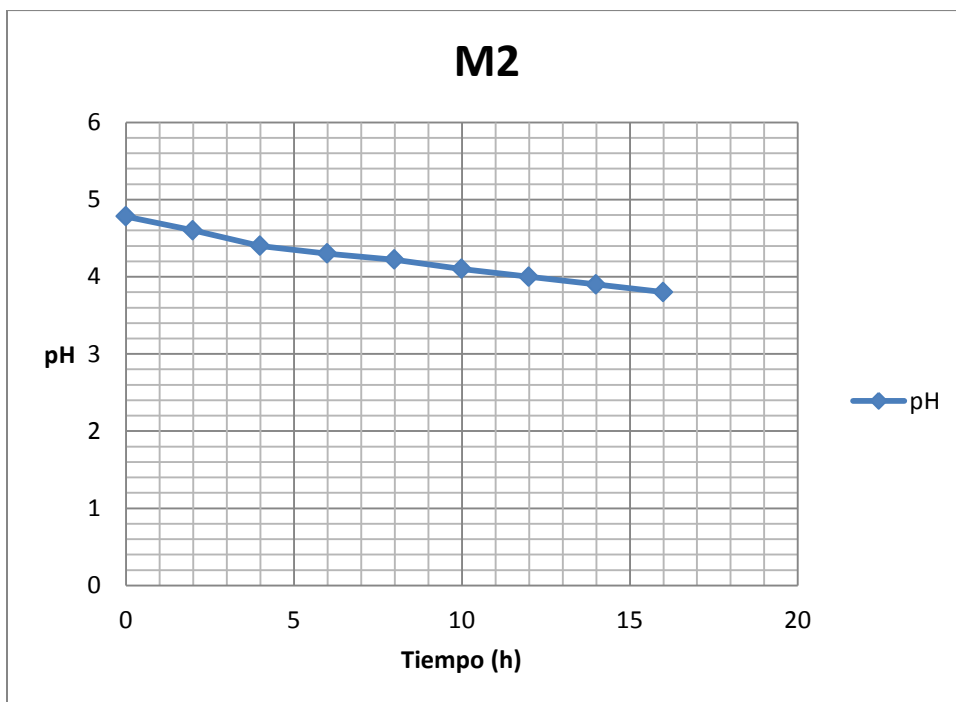


Fig. N° 2.8.: Variación de pH (muestra M2)

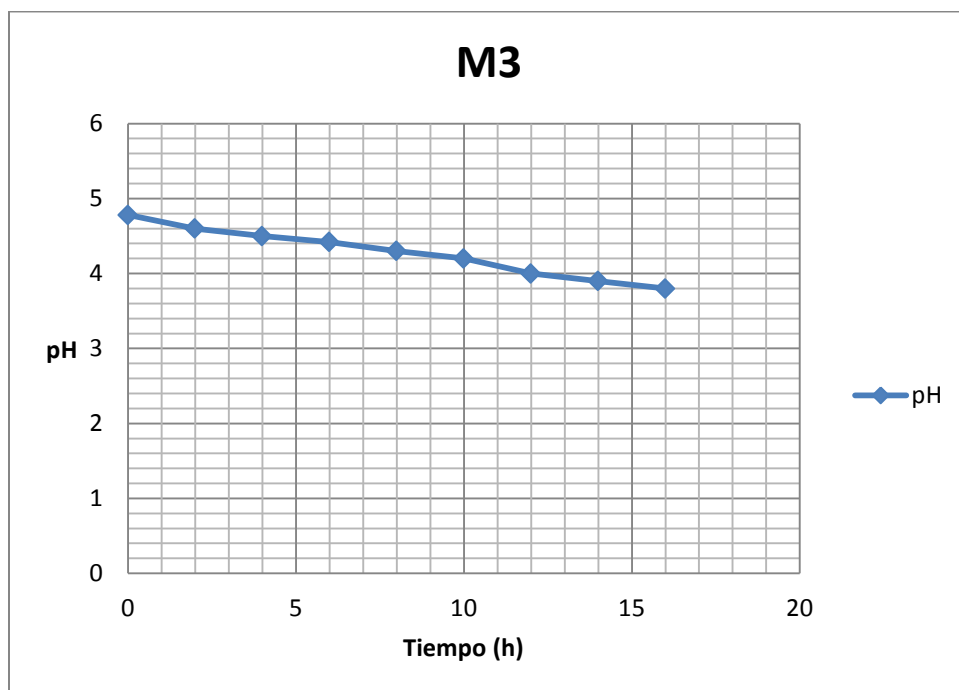


Fig. N° 2.9.: Variación de pH (Muestra 3)

En las figuras 2.7, 2.8 y 2.9., la variación de pH con respecto al tiempo tienen las mismas características, se puede notar que a partir de las dieciséis horas de fermentación, el pH se estabiliza, permaneciendo constante en 3.8, por más que se agregó levadura, este valor no varió, por la no existencia de azúcares fermentecibles.

CAPÍTULO III RESULTADOS

3.1. Durante la evaluación en el proceso experimental de los parámetros de fermentación del jugo de caña para obtener bioetanol desarrollado en el laboratorio de alcohol de la planta piloto de la Facultad de Ingeniería Química – UNAP, se obtuvo que la **muestra M2** logró la máxima conversión de azúcar fermentecible en etanol en las condiciones que se muestran en el cuadro siguiente:

Cuadro N° 04: Condiciones óptimas de fermentación (**muestra M2**)

Parámetros	Valor
Temperatura Óptima (°C)	29.0
pH	4.78
Concentración de Levadura Óptima (g/L)	1.0
Nutrientes (ppm)	
Fosfato de Amonio	3.0
Sulfato de Amonio	5.5
Sulfato de Zinc	3.0
Sulfato de Manganeso	1.0
Sulfato de Magnesio	1.0

Fuente: Grupo de Trabajo

3.2. Actualmente el tiempo de fermentación convencional del jugo de caña en la planta piloto de nuestra facultad, supera las 72 horas, por tal motivo no permite entrar en un proceso de producción continua.

Evaluando el tiempo de fermentación en las condiciones de parámetros y nutrientes, mencionados en el proceso experimental, se obtuvo un tiempo promedio de fermentación de 16 horas en las tres muestras; esto debido a la adición de nutrientes (Fosfato de Amonio, Sulfato de Amonio, Sulfato de Zinc, Sulfato de Manganeso, Sulfato de Magnesio), siendo la **muestra M2** quien presentó mayor rendimiento en alcohol y en el mismo tiempo (16 horas).

- 3.3. Al evaluar el rendimiento de alcohol en el jugo fermentado se obtuvo una concentración final de etanol en el mosto (jugo fermentado) de **7.4 % G.L.** (Gay-Lussac), perteneciente a la **muestra M2**.

CAPÍTULO IV CONCLUSIONES

- 4.1. Se evaluaron los parámetros de temperatura, pH, concentración de levadura y nutrientes; para lograr la máxima conversión de azúcar fermentecible en etanol, determinándose las condiciones de optimización en parámetros siendo, Temperatura óptima: 29.0 °C; pH: 4.78; Concentración de levadura óptima: 1.0 g/L; Nutrientes (Fosfato de amonio: 3.0 ppm, Sulfato de amonio: 5.5 ppm, Sulfato de Zinc: 3.0 ppm, Sulfato de Manganeso: 1.0 ppm, Sulfato de magnesio: 1.0 ppm); obtenidas en la **muestra M2**.
- 4.2. Al evaluar el tiempo de fermentación del jugo de caña para obtener etanol, se determinó que el tiempo promedio óptimo en las tres muestras evaluadas (M1, M2 y M3) fue de 16 horas, siendo la **muestra M2** la que presenta mayor rendimiento alcohólico al final del proceso de fermentación, esto debido a la adición de los nutrientes en las concentraciones óptimas, ya que con la ausencia de estos nutrientes en el jugo de caña, la fermentación se extiende por más de 72 horas, a pesar de no variar la temperatura (29.0°C), además de que el pH, se encuentre en el rango óptimo que es de 3.5 a 5.5.
- 4.3. Al evaluar el rendimiento de alcohol en el jugo fermentado, se determinó que la **muestra M2** es la que presenta mayor rendimiento alcohólico al final de la fermentación, siendo este 7.4% °G.L (Gay - Lussac).

CAPÍTULO V RECOMENDACIONES

- 5.1.** Se recomienda la adición de nutrientes a la materia prima, en las concentraciones exactas, ya que logran la máxima conversión de azúcar fermentecible en etanol en menor tiempo (en condiciones óptimas de temperatura y pH); ya que si incrementáramos la concentración de levadura, esto no es indicativo de que la formación de alcohol se incremente.
- 5.2.** Se recomienda que las muestras sean debidamente pasteurizadas para evitar la contaminación y desarrollo de otro tipo de microorganismos que alteren el proceso de obtención de alcohol.
- 5.3.** Se recomienda la pertinencia de la producción de bioetanol a nivel industrial, ya que los resultados del presente trabajo demuestran que el proceso de fermentación se desarrolla en un tiempo razonable, pudiéndose entrar en un proceso de producción continuo con grandes volúmenes.
- 5.4.** Se recomienda efectuar estudios complementarios que evalúen la rentabilidad del proceso, para desarrollar la instalación de una planta de obtención de bioetanol a nivel industrial.

**CAPÍTULO VI
BIBLIOGRAFÍA**

1. AVERS; CHARLOTTE J. (1991): "**Biología Celular**". Segunda Edición, Grupo Editorial Iberoamericano, México.
2. FELDER R, ROUSSEAU R.W. (2004): "**Principios elementales de los procesos químicos**". Addison-Wesley Iberoamericana S.A., México. 750p.
3. JIMÉNEZ MENDOZA, J. A. (2009). "**Identificación y cuantificación de algunos alcoholes en la destilación y rectificación**". Editorial Hispanoamericana.
4. NEGLIA G. (1996): "**Medición y Control de Procesos**". Centro de Investigación y Desarrollo, Kima-Perú.
5. OUGH, C.S. (1976) "**Análisis de vinos y Mostos**", Edición experimental Agraria. Editorial Acribia, Zaragoza España.
6. PERRY, R. GREEN D. Y MALONEY. (1992): J. "**Manual del Ingeniero Químico**". Editorial McGraw-Hill, 6° Edición, Vol. III, México.
7. SCOTT FOGLER, H. (2001): "**Elementos de ingeniería de las reacciones químicas**", Editorial Pearson Educación. México.
8. VÁSQUEZ, H.J. (2007): "**Fermentación alcohólica: Una opción para la producción de energía renovable a partir de desechos agrícolas**", INGENIERÍA Investigación y Tecnología VIII. México.
9. URDANETA, J (2005): "**Producción de una bebida alcohólica fermentada a partir de desechos del procesamiento de la pulpa de níspero**". Edición experimental Agraria. Editorial Acribia, Zaragoza, España

ANEXO

ANEXO N°01

Variación de los Grados Brix con respecto al Tiempo (horas) de las muestras M1, M2 y M3

CUADRO N° 05: Variación de Grados Brix versus Tiempo (**muestra M1**)

Tiempo (h)	°Brix
0	18.5
1	18
2	16
3	14
4	12
6	10
8	8
9	6
11	4
12	2.5
14	1.9
16	1.9

Fuente: Grupo de Trabajo

CUADRO N° 06: Variación de Grados Brix versus Tiempo (**muestra M2**)

Tiempo (h)	°Brix
0	18.4
1	17.6
2	15.9
3	14
4	13.5
6	9.9
8	8
9	6
11	4
12	2.7
14	2.1
16	2.1

Fuente: Grupo de Trabajo

CUADRO N° 07: Variación de Grados Brix versus Tiempo (**muestra M3**)

Tiempo (h)	°Brix
0	18.46
1	17.4
2	15.9
3	14
4	13.3
6	9
8	7.9
9	6
11	4
12	2.7
14	2
16	2

Fuente: Grupo de Trabajo

ANEXO N° 02

Variación de la concentración de alcohol con respecto al tiempo (horas) de las Muestras M1, M2 y M3

CUADRO N° 08: Variación de Concentración de Alcohol versus Tiempo (**muestra M1**)

Tiempo (h)	%Alcohol
0	0
1	2.2
2	3
3	4
4	4.5
6	5.4
8	6.1
9	6.7
11	6.8
12	6.9
14	6.9
16	6.9

Fuente: Grupo de Trabajo.

CUADRO N° 09: Variación de Concentración de Alcohol versus Tiempo (**muestra M2**)

Tiempo (h)	%Alcohol
0	0
1	2.2
2	3.1
3	4.1
4	4.5
6	5.4
8	6.3
9	6.7
11	7.2
12	7.3
14	7.39
16	7.4

Fuente: Grupo de Trabajo

CUADRO N° 10: Variación de Concentración de Alcohol versus Tiempo (**muestra M3**)

Tiempo (h)	%Alcohol
0	0
1	2.3
2	3.1
3	4.1
4	4.4
6	5.4
8	6.3
9	6.7
11	6.8
12	6.9
14	7.1
16	7.1

Fuente: Grupo de Trabajo

ANEXO N° 03

Variación del pH con respecto al tiempo (horas) de las Muestras M1, M2 y M3

CUADRO N° 11: Variación de pH versus Tiempo (**muestra M1**)

Tiempo (h)	pH
0	4.80
2	4.6
4	4.4
6	4.3
8	4.2
10	4.1
12	4.0
14	3.9
16	3.8

Fuente: Grupo de Trabajo

CUADRO N° 12: Variación de pH versus Tiempo (**muestra M2**)

Tiempo (h)	pH
0	4.78
2	4.6
4	4.4
6	4.3
8	4.22
10	4.1
12	4.0
14	3.9
16	3.8

Fuente: Grupo de Trabajo

CUADRO N° 13: Variación de pH versus Tiempo (**muestra M3**)

Tiempo (h)	pH
0	4.78
2	4.6
4	4.5
6	4.42
8	4.3
10	4.2
12	4.0
14	3.9
16	3.8

Fuente: Grupo de Trabajo

OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL JUGO DE CAÑA PARA OBTENER BIOETANOL EN LA PLANTA PILOTO DE ALCOHOL DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA-UNAP



Foto N° 01: Equipos utilizados: Brixómetro, cocina eléctrica, refractómetro, pHmetro, microscopio.



Foto N° 02: Malla metálica utilizada para filtración

OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL JUGO DE CAÑA PARA OBTENER BIOETANOL EN LA PLANTA PILOTO DE ALCOHOL DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA-UNAP



Foto N° 03: Levadura Fleischman utilizada para la fermentación



Foto N° 04: Jugo de caña, en el laboratorio de alcohol

OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL JUGO DE CAÑA PARA OBTENER BIOETANOL EN LA PLANTA PILOTO DE ALCOHOL DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA-UNAP



Foto N° 05: Jugo de caña, en la tina de fermentación



Foto N° 06: Tesista realizando control de °Brix, con el refractómetro

OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL JUGO DE CAÑA PARA OBTENER BIOETANOL EN LA PLANTA PILOTO DE ALCOHOL DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA-UNAP

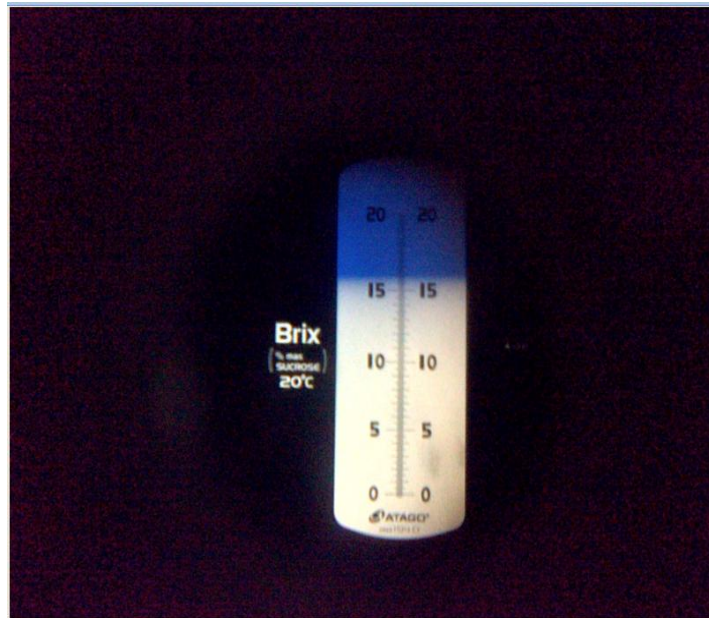


Foto N° 07: Tesista realizando control de °Brix, con el Brixómetro



Foto N° 08: Tesista realizando control del crecimiento de los microorganismos.

OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL JUGO DE CAÑA PARA OBTENER BIOETANOL EN LA PLANTA PILOTO DE ALCOHOL DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA-UNAP



Foto N° 09: Tesista realizando control del crecimiento de los microorganismos



Foto N°10: Tesista realizando control del pH y temperatura.

OPTIMIZACIÓN DE LOS PARÁMETROS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN DEL JUGO DE CAÑA PARA OBTENER BIOETANOL EN LA PLANTA PILOTO DE ALCOHOL DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA-UNAP



Foto N°11: Proceso de fermentación en condiciones anaeróbicas.



Foto N°12: Medición del grado alcohólico del mosto (en °G.L).