

UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERIA
FACULTAD DE INGENIERIA QUIMICA Y TEXTIL



**“PRODUCCION DE ETANOL A PARTIR DE LA
FERMENTACION DEL CAMOTE”**

TESIS

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE
INGENIERO QUIMICO**

PRESENTADO POR

**SONIA LISSETT YUCRA ZELA
ALEXANDER ARMANDO BROWN QUILICHE**

LIMA – PERU

2012

Digitalizado por:

**Consortio Digital del
Conocimiento MebLatam,
Hemisferio y Dalse**

ÍNDICE

CAPÍTULO I: GENERALIDADES

1.1	Introducción.....	1
1.2	Justificación.....	2
1.3	Objetivos.....	3

CAPÍTULO II: REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1	Materia prima.....	4
2.1.1	Descripción del camote.....	4
2.1.2	Clasificación.....	5
2.1.3	Variedades.....	5
2.1.4	Estudio de sus componentes.....	7
2.1.5	Importancia económica e industrial.....	8
2.1.6	Producción de camote en el Perú.....	9
2.2	Almidón.....	10
2.2.1	Amilosa.....	11
2.2.2	Amilopectina.....	12
2.3	Enzimas y microorganismos.....	13
2.3.1	Enzimas.....	13
2.3.1.1	Enzima alfa-amilasa.....	14
2.3.1.2	Enzima amiloglucosidasa.....	14
2.3.2	Levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	15
2.3.2.1	Formas de reproducción de la <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	17
2.3.2.2	Nutrición de la levadura.....	17
2.3.2.3	Selección de levadura.....	18

2.4	Productos.....	19
2.4.1	Glucosa.....	19
2.4.2	Alcohol.....	20
2.4.2.1	Métodos de obtención del alcohol.....	20
2.4.2.2	Rendimiento del alcohol etílico.....	22
2.4.2.3	Aplicaciones y usos.....	23
2.4.2.3.1	Uso de alcohol como carburante.....	24
2.4.2.4	Producción y demanda.....	24
2.5	Operaciones básicas.....	25
2.5.1	Hidrólisis del almidón.....	25
2.5.1.1	Métodos de hidrólisis del almidón.....	25
2.5.1.2	Etapas para la conversión de almidón a azúcares fermentables.....	27
2.5.1.2.1	Gelatinización.....	27
2.5.1.2.2	Licuefacción.....	27
2.5.1.2.3	Sacarificación.....	27
2.5.1.3	Cinética de la hidrólisis.....	28
2.5.2	Fermentación alcohólica.....	28
2.5.2.1	Factores que favorecen el proceso fermentativo.....	29
2.5.2.1.1	Concentración de nutrientes.....	29
2.5.2.1.2	Concentración de azúcares (sustrato).....	30
2.5.2.1.3	Concentración de etanol resultante.....	30
2.5.2.1.4	pH.....	30
2.5.2.1.5	Temperatura.....	31
2.5.2.1.6	Contacto con el aire.....	31
2.5.3	Destilación.....	31

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

3.1	Materiales principales.....	34
3.1.1	Materia prima: camote.....	34
3.1.2	Enzimas y microorganismos.....	34

3.2	Métodos analíticos.....	35
3.2.1	Método de cultivo de la levadura.....	35
3.2.2	Método yodométrico para la determinación cualitativa del almidón en la hidrólisis.....	35
3.2.3	Método del refractómetro digital para la determinación de la concentración de azúcares reductores.....	36
3.2.3.1	Obtención de la recta de calibración del índice de refracción vs. concentración de azúcares reductores.....	37
3.2.3.2	Aplicación del método del refractómetro digital para la determinación de la concentración de azúcares reductores durante la hidrólisis.....	38
3.2.4	Método de Miller para la determinación de la concentración de azúcares reductores.....	39
3.2.4.1	Preparación del indicador DNS.....	39
3.2.4.2	Obtención de la recta de calibración de absorbancia vs. concentración de azúcares reductores.....	39
3.2.4.3	Aplicación del método de Miller para la determinación de la concentración de azúcares reductores en la fermentación.....	41
3.2.5	Método de microdifusión para la determinación de la concentración de alcohol.....	41
3.2.5.1	Preparación de los tubos de ensayo con reactivos.....	41
3.2.5.2	Obtención de la recta de calibración de absorbancia vs. concentración de etanol.....	42
3.2.5.3	Aplicación del método de microdifusión para la determinación de la concentración de alcohol en la fermentación.....	44
3.2.6	Método del refractómetro de inmersión ABBE para la determinación de la concentración de etanol en el destilado.....	44
3.2.7	Método del picnómetro para la determinación de la densidad del etanol en el destilado.....	45
3.2.8	Método de control del pH usando pH-metro digital.....	45

3.2.9	Método del espectrofotómetro para la determinación de la concentración de levadura.....	46
3.2.9.1	Obtención de la recta de calibración de absorbancia vs. concentración de levadura.....	46
3.3	Metodología de los procesos involucrados en la obtención de etanol a partir del camote.....	47
3.3.1	Pre-tratamiento del camote.....	48
3.3.2	Hidrolisis enzimática.....	49
3.3.2.1	Licuefacción.....	49
3.3.2.2	Sacarificación.....	49
3.3.3	Fermentación.....	51
3.3.4	Destilación.....	51
3.4	Estudio de las operaciones involucradas en la obtención de etanol a partir del camote.....	55
3.4.1	Estudio de hidrólisis enzimática del camote.....	55
3.4.1.1	Factores que influyen la hidrólisis.....	55
3.4.1.1.1	Influencia de la concentración de enzimas en la hidrólisis para la obtención de azúcares reductores.....	55
3.4.1.1.2	Influencia de la concentración de sustrato en la hidrólisis para la obtención de azúcares reductores.....	56
3.4.1.2	Estudio de la cinética de hidrólisis en un caso de estudio de licuefacción a baja temperatura y sacarificación a temperatura óptima.....	56
3.4.2	Estudio del crecimiento de la levadura.....	57
3.4.2.1	Recuento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> por el método de Neubauer.....	57
3.4.2.2	Determinación de la biomasa de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> con el tiempo.....	57
3.4.3	Estudio de la fermentación.....	58
3.4.3.1	Factores que Influyen la fermentación.....	58

3.4.3.2	Fermentación por lote.....	59
3.4.4	Estudio de la destilación.....	59

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1	Materia prima.....	61
4.2	Estudio de la hidrólisis enzimática del camote.....	62
4.2.1	Factores que influyen la hidrólisis	62
4.2.1.1	Influencia de la concentración de enzimas en la hidrólisis para la obtención de azúcares reductores.....	63
4.2.1.1.1	Influencia de la concentración de enzima alfa-amilasa en la licuefacción.....	63
4.2.1.1.2	Influencia de la concentración de enzima amiloglicosidasa en la sacarificación.....	66
4.2.1.2	Influencia de la concentración de sustrato en la hidrólisis para la obtención de azúcares reductores.....	69
4.2.2	Estudio de la hidrólisis en el caso de licuefacción a baja temperatura y sacarificación a temperatura óptima	73
4.2.2.1	Modelo matemático de la cinética de hidrólisis para el caso de licuefacción a baja temperatura y sacarificación a temperatura óptima.....	76
4.2.2.1.1	Modelo matemático de la cinética de licuefacción a baja temperatura.....	76
4.2.2.1.2	Modelo matemático de la cinética de a sacarificación temperatura óptima.....	78
4.3	Estudio del crecimiento de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ...	79
4.3.1	Curva de crecimiento de la levadura.....	79
4.3.2	Modelo matemático del crecimiento de la levadura.....	81
4.3.3	Ecuación cinética del crecimiento celular en la fase exponencial....	83
4.4	Estudio de la fermentación.....	84

4.4.1	Factores que influncian la fermentación.....	85
4.4.1.1	Influencia de la concentración de suspensión de camote en la fermentación.....	85
4.4.1.2	Influencia de los parámetros de operación en la fermentación	87
4.4.1.2.1	Concentración de nutrientes.....	87
4.4.1.2.2	Concentración azúcares.....	87
4.4.1.2.3	Concentración de etanol.....	88
4.4.1.2.4	pH.....	88
4.4.1.2.5	Temperatura.....	88
4.4.2	Estudio de la fermentación por lote.....	89
4.4.2.1	Control del consumo de azúcares y formación de alcohol en la fermentación.....	89
4.4.2.2	Rendimiento de fermentación.....	92
4.5	Estudio de la destilación.....	94
4.6	Balance de materia del proceso a nivel laboratorio.....	96
CAPÍTULO V: COSTO DE PROCESAMIENTO.....		98
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES.....		101
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES.....		104
CAPÍTULO VIII: BIBLIOGRAFÍA.....		105
ANEXOS.....		110
APÉNDICES.....		132

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 2.1. Composición química de 100 g de camote.....	8
Cuadro 2.2. Propiedades físicoquímicas del almidón de camote.....	11
Cuadro 2.3. Composición de la levadura según Belohoubek.....	18
Cuadro 2.4. Rendimiento experimental de etanol por 100 kg de algunas materias amiláceas y azucaradas.....	23
Cuadro 3.1. Índice de refracción de la soluciones de glucosa medida en el refractómetro digital.....	37
Cuadro 3.2. Absorbancia de la soluciones glucosa medida en el espectrofotómetro.....	40
Cuadro 3.3. Absorbancia de las soluciones de etanol medidas en el espectrofotómetro.....	43
Cuadro 3.4. Absorbancia vs. concentración de levadura.....	47
Cuadro 4.1. Composición química de la variedad de camote usado en la investigación.....	61
Cuadro 4.2. Influencia de la variación de la concentración de enzima alfa-amilasa en la licuefacción para la obtención de azúcares reductores a 33% (w/v) de concentración de sustrato.....	64
Cuadro 4.3. Influencia de la concentración de enzima amiloglucosidasa en la sacarificación para la obtención de azúcares reductores a 33% (w/v) de concentración de sustrato.....	67
Cuadro 4.4. Influencia de la concentración de sustrato en la hidrólisis para la obtención de azúcares.....	70
Cuadro 4.5. Datos experimentales de la hidrólisis con variación en la concentración de sustrato.....	72
Cuadro 4.6. Determinación del porcentaje de conversión a azúcares en la hidrólisis con variación en la concentración de sustrato....	73
Cuadro 4.7. Resultados experimentales de la hidrólisis de una suspensión de camote al 71.4 % (w/v) con licuefacción a baja temperatura y sacarificación a temperatura óptima.....	75
Cuadro 4.8. Concentración de azúcares vs. tiempo según modelo cinético de licuefacción a baja temperatura.....	77

Cuadro 4.9.	Concentración de azúcares vs. tiempo según modelo cinético de sacarificación a temperatura óptima.....	78
Cuadro 4.10.	Lecturas de absorbancia y concentración de levadura en función del tiempo.....	80
Cuadro 4.11.	Concentración de levadura según modelo matemático y concentración celular de levadura en función del tiempo...	82
Cuadro 4.12.	Datos experimentales de la fermentación en matraces con variación en la concentración de suspensión de camote.....	85
Cuadro 4.13.	Determinación del porcentaje de consumo de azúcares en la fermentación con variación en la concentración de suspensión de camote.....	86
Cuadro 4.14.	Control del proceso de fermentación alcohólica por lote.....	90
Cuadro 4.15.	Datos experimentales en la fermentación para el cálculo de rendimiento fermentativo.....	93
Cuadro 4.16.	Cálculos para determinar el rendimiento en la fermentación.....	93
Cuadro 4.17.	Concentración alcohólica de los destilados obtenidos.....	96
Cuadro 5.1.	Balance de masa para 1 kg de camote morado.....	98
Cuadro 5.2.	Requerimiento de agua y tiempos de operación para 1 kg de camote morado	99
Cuadro 5.3.	Consumo de energía para procesar 1 kg de camote morado.....	100
Cuadro 5.4.	Estimado de costo total para el procesamiento de 1 kg de camote morado.....	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 2.1.	Raíces de camote “Jahuayano” o morado.....	5
Figura 2.2.	Producción nacional de camote en el Perú (1980 – 2010).....	10
Figura 2.3.	Estructura de la amilosa (enlaces α -(1,4)).....	12
Figura 2.4.	Estructura de la amilopectina (enlaces α -(1,4) y α -(1,6)).....	13
Figura 2.5.	Fotografía de barrido electrónico de <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16
Figura 2.6.	Crecimiento de <i>Saccharomyces cerevisiae</i> en placa con agar Sabouraud.....	16
Figura 2.7.	Producción de alcohol etílico (litros) por año a nivel nacional.....	25
Figura 3.1.	Camote “Jahuayano” de piel morada con pulpa naranja	33
Figura 3.2.	Identificación cualitativa del almidón a través de la coloración de la reacción.....	36
Figura 3.3.	Recta de calibración para la determinación de azúcares reductores usando refractómetro digital.....	37
Figura 3.4.	Recta de calibración para determinación de azúcar reductores por el método de Miller.....	40
Figura 3.5.	Preparación de los tubos de ensayo con reactivos para el método de microdifusión.....	42
Figura 3.6.	Recta de calibración para la determinación de etanol por el método de microdifusión.....	43
Figura 3.7.	Recta de calibración de absorbancia vs. concentración de levadura (g/L).....	47
Figura 3.8.	Hidrólisis enzimática a nivel laboratorio y aplicación del método yodométrico.....	50
Figura 3.9.	Hidrólisis enzimática por lote.....	50
Figura 3.10.	Sistema de destilación fraccionada para obtención del alcohol de camote.....	52
Figura 3.11.	Hervidor del sistema de destilación fraccionada.....	53
Figura 3.12.	Condensador del sistema de destilación.....	53

Figura 3.13. Diagrama de bloque para la obtención de etanol a partir del camote.....	54
Figura 4.1. Influencia de la variación de la concentración de enzima alfa-amilasa en la licuefacción para la obtención de reductores azúcares a 33% (w/v) de concentración de sustrato.....	65
Figura 4.2. Influencia de la concentración de enzima en la sacarificación para la obtención de azúcares reductores a 33% (w/v) de concentración de sustrato.....	68
Figura 4.3. Influencia de la concentración de sustrato en la hidrólisis para la obtención de azúcares a concentraciones de enzimas fijas.....	71
Figura 4.4. Cinética de hidrólisis de una suspensión de camote al 71.4 % (w/v) con licuefacción a baja temperatura y sacarificación a temperatura óptima.....	75
Figura 4.5. Concentración de azúcares vs. tiempo según modelo cinético de licuefacción a baja temperatura.....	77
Figura 4.6. Concentración de azúcares vs. tiempo según modelo cinético de sacarificación a temperatura óptima.....	79
Figura 4.7. Curva de crecimiento de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	80
Figura 4.8. Curva de crecimiento celular de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	90
Figura 4.9. Curvas de consumo de azúcares y formación de alcohol.....	91

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

caballo fuerza: Hp

centímetro: cm

centímetro cuadrado: cm²

gramos: g

gramos por litros: g/L

hectáreas: ha

Hertz: Hz

hora: h

joules: J

kilocalorías: Kcal

kilogramo: Kg

kilogramo fuerzas: kgf

kilogramos por centímetro cuadrado: kg cm⁻²

kilowatt-hora: kWh

litros: L

metro: m

metro cubico: m³

miligramos: mg

mililitro: mL

milímetro: mm

minuto: min

mol gramo: mol-g

nanómetro: nm

partes por millón: ppm

punto de ebullición: p.e

revolución por minuto: rpm

tonelada métricas: t

voltio: V

watt: W

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

1.1 INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han desarrollado alternativas de fuentes de origen renovable para la producción de alcohol frente al uso del petróleo que presenta una creciente escasez y alto costo, por lo tanto, la presente investigación plantea el uso del camote por tratarse de una fuente rica en almidón y azúcares y por ser materia prima renovable y barata.

El camote es un cultivo oriundo del Perú y de gran abastecimiento en el mercado peruano por la razón de que se cultiva todo el año y presenta bajo costo. En el país el camote se siembra en la costa, selva y valles interandinos ubicados entre 20 y 2 000 m.s.n.m. con un rendimiento promedio nacional de 16 t/ha, en la costa central en los valles de Cañete, Huaral y Barranca se concentra el 70% del área cultivada con camote.

La mayor parte de la producción de camote en el país se vende como producto fresco sin valor agregado destinado al consumo interno; sin embargo, en los últimos años se ha iniciado la transformación de camote en harina y almidón, además se destina camote fresco para la exportación; por tratarse de un producto que presenta muchas ventajas como: disponibilidad de cultivos existentes y áreas a sembrar, productividad, alto rendimiento en la conversión a almidón y etanol, bajos costos de materia prima, debe tomarse en cuenta esta potencialidad para aprovecharla en la producción de alcohol etílico.

El alcohol etílico es uno de los insumos más importantes en la industria química y en los últimos años se utiliza en la producción de combustibles, para ello se vienen desarrollando nuevas tecnologías para la producción de alcohol como alternativa a su obtención industrial a partir de la caña de azúcar, utilizando otros materiales vegetales ya sea amiláceos como es el caso del maíz, papa, yuca o de material celulósico como el bagazo de la caña de azúcar.

La metodología empleada consiste en realizar primero la hidrólisis enzimática, seguida de la fermentación con levadura y finalmente la destilación, procesos que se llevaron a cabo a nivel laboratorio con el fin de determinar los parámetros de operación que conlleve una mejor producción de alcohol.

1.2 JUSTIFICACIÓN

En el Perú la industrialización del camote es baja, a pesar de ser un cultivo poco exigente y bien adaptado a los climas y regiones del país. Se ha venido desarrollando el procesamiento de harina y almidón de camote; sin embargo, quedan muchas más aplicaciones por desarrollar tales como la producción de jarabe de glucosa y alcohol, incidiendo en la última aplicación mencionada se pone a consideración la opción de industrialización del camote a través de los procesos planteados en este estudio para convertirlo a un producto de valor agregado.

Los resultados de la investigación para la obtención del alcohol a partir del camote fueron obtenidos a nivel de laboratorio; pero estos resultados deben servir de base para la producción a gran escala del alcohol de camote el cual puede ser utilizado tanto para la industria química como para la producción de alcohol carburante y de esta manera, darle un mayor valor agregado a la producción agrícola, lo cual impulsará el desarrollo agro-industrial con la aplicación de tecnologías que permitan desarrollar cultivares con resistencia genética a las enfermedades virales, dicho desarrollo tecnológico incidirá en un aumento de la productividad y mejor conservación, también se impulsará el desarrollo socio-económico con la creación de nuevas fuentes de trabajo en los sectores rurales.

1.3 OBJETIVOS

- **Objetivo general**

Aplicar una tecnología para la obtención de alcohol etílico a partir del camote como materia prima amilácea, mediante los procesos de hidrólisis enzimática, fermentación y destilación.

- **Objetivos específicos**

- ✓ Estudiar la cinética de hidrólisis y determinar las condiciones que favorezcan la mejor producción de azúcares.
- ✓ Estudiar la cinética de fermentación y determinar las condiciones que favorezcan la mejor producción de alcohol.
- ✓ Efectuar una correcta destilación de manera que se logre obtener un alcohol con alto grado de concentración.

CAPÍTULO II

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1 Materia Prima

2.1.1 Descripción del camote

El camote cuyo nombre científico es *Ipomoea batatas*, es una planta de fácil cultivo y muy rica en almidón; las variedades: Nemañete, Japonés o Tresmesino y Paramonguino, se utilizan como recurso agrícola industrial por su alto porcentaje de carbohidratos, como materia prima para la obtención de harina y almidón. La harina de camote es una de las formas de uso corriente en el mercado interno, como ingrediente adicionado a la harina de trigo destinada a la panificación.

Entre las características se puede señalar que sus tallos son cilíndricos, rastreros y erizados, que alcanzan 2,5 m o más de longitud y tienden a enredar y cubrir el terreno, sus raíces son tuberosas, abundantes y muy ramificadas, producen unos tubérculos más o menos redondos y alargados, según las variedades, su pulpa es tierna, harinosa, azucarada y en la mayoría de los casos perfumada.

Se produce con facilidad en los países cálidos, pues siendo originario de las tierras tropicales, crece en los terrenos cuando la temperatura llega a 12,5 °C y requiere 30 °C para dar raíces con tubérculos bien constituidos. Así el camote puede ser sembrado durante todo el año en la costa y es posible extraer hasta tres cosechas anuales, representando un elevado potencial de producción para la industria, adquiriéndose un alto valor económico que supere el de otras tuberosas. Su capacidad de rotar con otros cultivos, su bajo costo económico de producción, su versatilidad respecto a suelos y exigencias de agua, su rusticidad, en general, son factores importantes que la complementan ventajosamente [11]. En la figura 2.1 se observa una variedad de las raíces de camote.



Figura 2.1. Raíces de camote “Jahuayano” o morado

2.1.2 Clasificación

A pesar de que la traducción literal de su nombre en inglés como “papa dulce”, el camote no es pariente de la papa, a diferencia de este que es un tubérculo o esqueje engrosado, el camote es una raíz reservante. Las papas pertenecen a la familia de las solanáceas, que incluyen también al tomate, pimiento y berenjena, mientras que el camote pertenece a la familia de convolvuláceas, como se indica a continuación:

Familia: Convolvulácea.

Especie: *Convolvulus batatas* L. - *Batata edulis*, Choisy, *Ipomoea batatas*.

Sinonimias: kumara (Perú), boniato (Cuba), cara o jetica (Brasil), moniato o camote (México), papa dulce o batata azucarada (Europa y Asia).

Origen: Zona tropical americana.

Planta: Planta de consistencia herbácea, porte rastroso y vivaz o perenne, aunque se cultiva como anual. [24]

2.1.3 Variedades

Nuestro país conserva en el Centro Internacional de la Papa (C.I.P.) la colección más grande de germoplasma de camote, con un total 3 096 clones

provenientes de 18 países latinoamericanos y del Caribe, de los cuales el Perú cuenta con 2 016 especies.

Las principales variedades de camote que se desarrollan en el Perú son la blanca, rosada, amarilla, anaranjada y morada, cada una de ellas con diferentes ciclos vegetativos.

- **Camote morado:** Variedad introducida en el Valle de Cañete en 1950, llamado también Jahuayano, de tipo “morado”, de amplia difusión en los valles costeros del país, color de piel morado, color de pulpa naranja clara, de superficie ligeramente uniforme y raíces tuberosas redondas ovaladas. En el Valle de Cañete, esta variedad representa entre el 30 y 40% del área cultivada de Cañete.

En el caso de Perú, los camotes del tipo morado han producido la sustitución total de una variedad nativa llamada “yema de huevo” por otras mejoradas, especialmente el “trujillano mejorado”, “canchari” y “María Angola”, conocidos por los productores como “morado legítimo” y “morado bambeado”, respectivamente.

La variedad de camote morado denominado Jahuayano se utilizó en los experimentos de la presente investigación.

- **Conchuco Cascafal:** Raíz de piel amarilla y pulpa crema, presenta un alto rendimiento en sembrío (promedio de 24 700 kg/ha), precoz, rico en almidón. [1]
- **Chanclata de Chilca:** Raíz de piel blanca, pulpa blanca cremosa, presenta regular rendimiento (22 000 kg/ha), elevada riqueza en almidón, presenta resistencia a nematodos. [1]
- **Nemañete:** Raíz de piel anaranjada oscura y pulpa anaranjada, alto rendimiento (23 799 kg/ha), precoz, rico en almidón. [1]
- **Buen Pobre:** Raíz de piel y pulpa amarilla, alto rendimiento (29 000 kg/ha), tolerante a nematodos, elevada riqueza en almidón, este cultivar es también usado para consumo de mesa. [1]

- **Maleño:** Raíz de piel amarilla y pulpa crema, rica en almidón, alto contenido en materia seca, alto rendimiento (29 000 kg/ha), tolerante al nematodo. [1]
- **Japonés o tresmesino:** Raíz de piel anaranjada y pulpa anaranjada intensa, alto rendimiento (20 521 kg/ha), elevada riqueza en glucosa, precoz. [1]
- **Imperial:** Es un camote tipo “kumara” (no dulce), fue originada por policruzamiento en Yurimaguas por el Centro Internacional de la Papa (C.I.P.) en el año 1989. Esta variedad se caracteriza por su color crema de piel y pulpa, alto contenido de materia seca 28% y almidón 19%, alto rendimiento, mayor a 30 t/ha; fue utilizada en la actividad de producción de almidón por ALMIDE S.A., fue sembrada hasta 1997 debido a la quiebra de la industria nacional por el almidón importado a menor precio. [7]
- **INIA 100:** Camote amarillo tipo “apichu”, color de piel y pulpa naranja intenso, 100 gramos de camote fresco contiene 3 880 microgramos de betacaroteno siendo un aporte considerable de vitamina A, contenido de materia seca 23%, buena soportabilidad en la comercialización, amplio rango de adaptación en los valles de la costa central y norte, cuenta actualmente con 5 000 ha de superficie cultivada. [1]

2.1.4 Estudio de sus componentes

El camote tiene un alto contenido de almidón, por lo tanto, puede servir como un buen sustrato para la fermentación; la composición de almidón en el camote es: 12 - 25 % de masa fresca o 40 - 55 % de masa seca. Además, las raíces del camote son ricas en azúcares, vitamina C, pro-vitamina A, hierro y algunos minerales [22], [28]. (Véase cuadro 2.1).

Cuadro 2.1. Composición química de 100 g de camote

CAMOTE	COMPOSICIÓN
ENERGÉTICOS	
Agua (g)	70,0
Proteínas (g)	1,8
Grasa total (g)	0,6
Carbohidratos (g)	21,5
Azúcar (g)	9,7
Fibra (g)	2,5
Almidón y dextrina (g)	11,8
VALOR ENERGÉTICO	
Kcal	91,0
Kj	386,0
VITAMINAS	
Caroteno y Pro-vitamina A (mg)	4,0
Triptófano (mg)	0,4
Ácido fólico (mg)	52,0
Tiamina (mg)	0,1
Riboflavina B2 (mg)	0,06
Niacina (mg)	0,8
Vitamina B3 (mg)	0,94
Vitamina B5 (mg)	0,22
Vitamina C (mg)	25,0
MINERALES	
Sodio (mg)	19,0
Potasio (mg)	320,0
Calcio (mg)	28,0
Magnesio (mg)	13,0
Fósforo (mg)	47,0
Hierro (mg)	0,7
Cobre (mg)	0,10
Zinc (mg)	0,2
Cloro (mg)	64,0

Fuente: <http://www.lamolina.edu.pe/Investigacion/programa/camote/#composicion>

2.1.5 Importancia económica e industrial

El camote se ubica en el sexto lugar, después del trigo, arroz, papa, cebada y yuca, de los cultivos más importantes del mundo [22].

El camote no requiere de una gran inversión económica por unidad de superficie, siendo por esta razón su costo de producción bastante bajo. No es muy exigente en suelo y además no le afectan hasta ahora serios problemas sanitarios.

En los países industrializados, del camote se obtienen diversos productos de uso industrial y doméstico, entre ellos el camote deshidratado, camotes enlatados, sustitutos de chocolate, material para decorar en repostería, golosinas y fabricación de helados, harinas de almidón para la industria textil y lavandería, tan buenos o mejores que los obtenidos de papa o yuca, y otras aplicaciones como tintes, jarabes deshidratados para confituras, adhesivos para estampillas, recubrimientos en baterías secas, alcohol, glucosa, etc. [8]

2.1.6 Producción de camote en el Perú

Según registro de estadísticas, la mayor zona de producción de camote en el país es el departamento de Lima, en donde se concentra el 70% de la superficie cultivada; siendo las principales zonas productoras de camote las provincias de Huaral (800 ha) y Cañete (3 500 ha), las cuales ofertan al mercado capitalino 120 000 TM/año. Los valles del norte chico: Huacho, Barranca y Pativilca, poseen menor superficie de siembra (700 ha) y aportan alrededor de 12 000 TM/año para los mercados de Lima.

Los valles costeros de Ancash, cultivan aproximadamente 1 500 ha que aportan al mercado capitalino 24 000 TM/año. En cambio, los valles costeros de los departamentos de Lambayeque y la Libertad registran una superficie de siembra de 2 300 ha las cuales aportan 25 000 TM/año al mercado regional del norte. En los valles de Ica y Arequipa cultivan 1 000 ha las cuales producen 16 000 TM/año. En el Apéndice I se indican las zonas de mayor volumen de producción de camote en el Perú. [34]

En la figura 2.2 se muestra la producción nacional de camote entre los años 1980 al 2010.

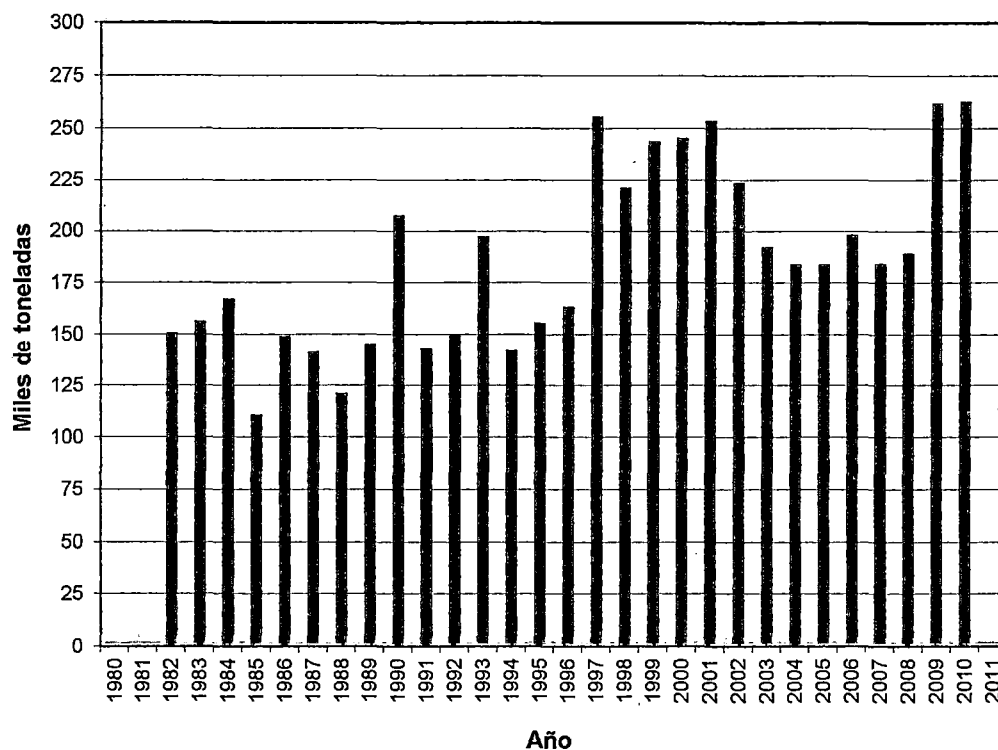


Figura 2.2. Producción nacional de camote en el Perú (1980 – 2010)

Fuente: (<http://www.inia.gob.pe/camote/zonas.htm>). Elaborado por los tesisistas

2.2 Almidón

El almidón es la sustancia de reserva alimenticia predominante en las plantas, en las que se le encuentra en distintas concentraciones: 75 % en el arroz, 50 % en el trigo, 20 % en la papa, etc.

El almidón se presenta como complejas partículas discretas denominadas “gránulos”, los cuales son densos e insolubles (se hidratan muy mal en agua fría). La capacidad de formar soluciones viscosas es alcanzada sólo cuando la suspensión de los gránulos de almidón es sometida a la acción de calor.

Otra característica del almidón es que esta constituido de una mezcla de dos polímeros: un polisacárido lineal denominado amilosa y otro muy

ramificado llamado amilopectina. La mayoría de los almidones contiene alrededor de 25% de amilosa. La mayor parte de la amilosa es una cadena lineal de unidades de α -D-glucopiranosilo unidas por enlaces α (1-4), aunque también existen moléculas que poseen unas pocas ramificaciones en posición (1,6) [3].

Las propiedades fisicoquímicas del almidón de camote [12], son mostradas en el cuadro 2.2.

Cuadro 2.2. Propiedades fisicoquímicas del almidón de camote

Propiedades Físicoquímicas	Unidades	Valores
Tamaño promedio de los gránulos	μm	12,41
Forma que adopta el gránulo	Esférica	
Temperatura de gelatinización	$^{\circ}\text{C}$	61,3
Entalpía de gelatinización	J/g	9,2
Poder de hinchamiento, a 85°C	g agua / g almidón	24,5 - 27,4
Claridad	% transmitancia	24,6
Firmeza de los geles	kgf	0,04
Amilosa	%	19,6
Amilopectina	%	80,4

Fuente: Las Propiedades Físicoquímicas del Almidón de Camote
(Hernández y col. 2007).

Cuando el almidón procede de granos se denomina tal cual, por ejemplo, almidón de trigo, de cebada, de arroz, etc.; cuando procede de tubérculos se llama féculas, y se dice así, fécula de patata, fécula de batata (camote), etc.

2.2.1 Amilosa

La amilosa es un polímero consistente de 250 a 300 moléculas de D-glucosa, ligados por enlaces α -(1,4); el tamaño molecular de la amilosa es

muy variable; así en los cereales presenta un grado de polimerización entre 1 000 y 2 000, mientras que en la patata puede alcanzar los 4 500. [8].

La hidrólisis parcial de la amilosa da lugar a maltosa como único disacárido, la hidrólisis completa origina únicamente D-glucosa unidas por enlaces α -(1,4) (véase figura 2.3); de ello se desprende que la amilosa es un polímero lineal. [25].

En la cuantificación analítica con yodo, aparece una coloración azul intensa. Esta coloración es la base del ensayo de yodo para el almidón [23]. Esta capacidad de fijación del yodo es la cuantificación analítica del almidón, de la caracterización de la amilosa y de la determinación de su proporción en el almidón en relación a la amilopectina. [18]

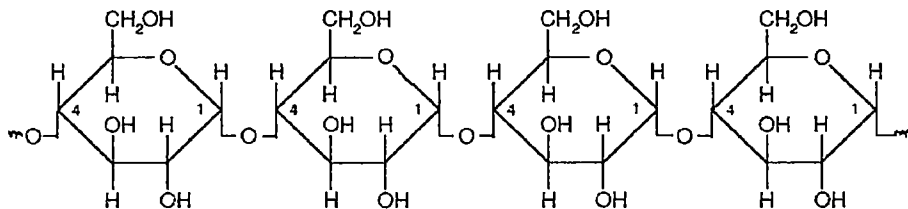


Figura 2.3. Estructura de la amilosa (enlaces α -(1,4))

2.2.2 Amilopectina

La amilopectina es la fracción insoluble del almidón [33], un polisacárido mucho mayor que la amilosa, contiene 1 000 o más unidades de glucosa por moléculas [25], es el polímero mayoritario del almidón, ya que supone entre el 70 y el 80% en masa. Se trata de una macromolécula ramificada en la que las unidades de glucosa anhidra (D-glucosa) están principalmente unidas por enlaces α -(1,4) cuando forman parte de cadenas lineales y por enlaces α -(1,6) cuando actúan como nexo de unión entre dos cadenas para formar ramificaciones (véase figura 2.4). Produce un color rojizo con la solución de yodo [18].

La hidrólisis parcial de la amilopeptina origina como productos: dextrinas, isomaltosa y maltosa; la hidrólisis completa origina únicamente D-Glucosa [25].

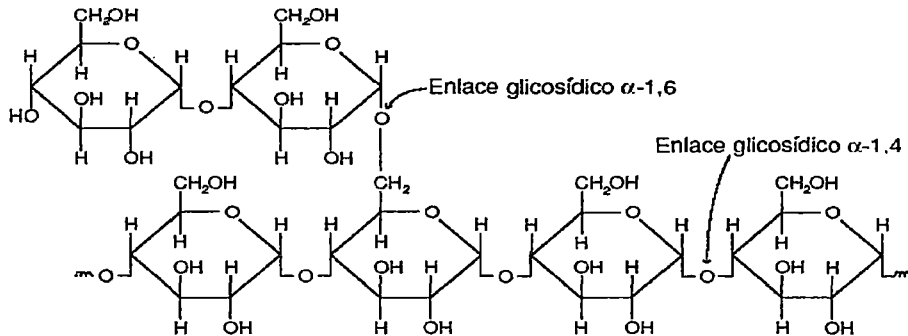


Figura 2.4. Estructura de la amilopeptina (enlaces α -(1,4) y α -(1,6))

2.3 Enzimas y Microorganismos

2.3.1 Enzimas

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

Se forman dentro de células vivas (vegetales o animales), capaces de actuar también en el exterior de las células, sin conexión alguna con ellas. Las enzimas permiten también la selectividad de los reactivos y el control sobre la velocidad de la reacción, sin recurrir a condiciones extremas de pH, temperatura y concentración que no pueden obtenerse con otra clase de catalizadores. Todas las enzimas son proteínas que favorecen reacciones específicas o grupos de reacciones relacionadas, y tienen dos propiedades fundamentales: catálisis y especificidad. Los organismos vivos contienen y producen muchísimas variedades de enzimas. [25], [35].

2.3.1.1 Enzima alfa-amilasa

Son enzimas específicas del enlace α -(1,4). La alfa-amilasa es la más utilizada a escala industrial y su origen puede ser vegetal, animal o microbiana (bacterias, mohos y levaduras). La alfa-amilasa ataca al almidón al azar y nunca por los extremos, por lo que se clasifican como endoenzimas, la alfa-amilasa con un ataque endo hidroliza los enlaces glucosídicos α -(1,4) haciendo que la amilosa se desdoble a glucosa y maltosa pero a la amilopectina la desdobla a dextrinas porque no puede hidrolizar los enlaces glucosídicos α -(1,6). [18]. Este ataque sobre regiones interiores del sustrato causa un rápido descenso en la viscosidad de los almidones hinchados y también un cambio en la coloración del complejo yodo-almidón.

La utilización de enzimas termoestables presenta muchas ventajas, entre ellas se eliminan los riesgos de contaminación por microorganismos y disminuye la viscosidad del medio ya que actúan a altas temperaturas; sin embargo, las alfa-amilasas fúngicas son más eficaces cuando no es necesario gelatinizar previamente el almidón además de que ofrecen la posibilidad de trabajar a bajas temperaturas.

Entre sus numerosas aplicaciones industriales y biotecnológicas de las alfa-amilasas, está la producción de azúcares y alcohol. El papel de la alfa-amilasa es la aceleración de la velocidad de formación de glucosa suministrando, al hidrolizar el almidón, nuevas moléculas que sirven de sustrato a la amiloglucosidasa. [18]

En el presente trabajo de investigación se utilizó la enzima alfa-amilasa de *Bacillus licheniformis* por ser una enzima termoestable. En el Apéndice 3.1 se presenta el certificado de análisis de la misma.

2.3.1.2 Enzima glucoamilasa o amiloglucosidasa

La amiloglucosidasa reacciona sobre el almidón completamente gelatinizado como una exoenzima; es decir, actúa a partir de los extremos no reductores, hidroliza los enlaces α -(1,4) de la amilosa y la amilopectina, también hidroliza a los enlaces glucosídicos α -(1,6) de la amilopectina

desdoblado por completo el almidón a glucosa [18]. Por su forma de actuar parecen, que tienen más facilidad para unirse a las cadenas largas que a las cortas e hidrolizan antes a los enlaces α -(1,4) que a los enlace α -(1,6).

Si se utiliza la alfa-amilasa junto con la amiloglucosidasa se presenta un efecto sinérgico, donde el papel de la alfa-amilasa es la despolimerización del almidón produciendo nuevas moléculas que sirven de sustrato a la amiloglucosidasa con lo cual se logra la aceleración de la velocidad de formación de glucosa. [18]

Se utiliza comercialmente la amiloglucosidasa en combinación con la alfa-amilasa para producir jarabes de D-glucosa.

En el presente trabajo de investigación se utilizó la enzima amiloglucosidasa de *Aspergillus Níger*. En el Apéndice 3.2 se presenta el certificado de análisis de la misma.

2.3.2 Levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Las levaduras son microorganismos de origen vegetal cuya función principal es la producción de zimasa necesaria para originar la fermentación alcohólica, al igual que los seres vivos, las levaduras nacen, multiplican y mueren.

Desde el punto de vista químico su componente predominante es el agua, con un contenido de 75% y más aún. Un análisis de las cenizas de las levaduras, revela que ellas son ricas en sales potásicas, magnésicas y cálcicas, conteniendo también cantidades más pequeñas de sílice, sodio, hierro, etc. [34]

Se distinguen dos tipos bien definidos de levaduras cultivadas según su acción sobre el medio a fermentar: las levaduras altas, que son las más usadas y que trabajan a temperaturas altas, y las levaduras bajas, especialmente usadas en las cervecerías; al primero de los tipos mencionados pertenece la *Saccharomyces Cerevisiae* [34], la cual fue la levadura utilizada en la presente investigación y cuyo certificado de análisis

se muestra en el Apéndice 3.3. Las figuras 2.5 y 2.6 muestran las fotografías de la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*.



Figura 2.5. Fotografía de barrido electrónico de *Saccharomyces Cerevisiae*

Fuente: <http://www.ejpau.media.pl/articles/volume9/issue4/art-48.html>

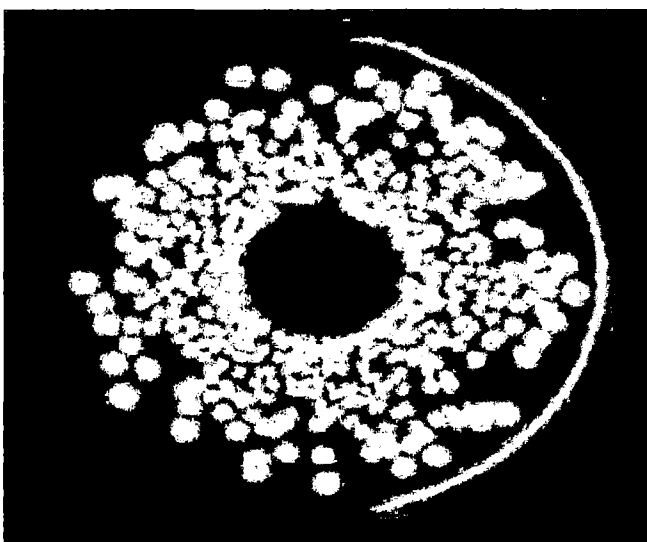


Figura 2.6. Crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* en placa con agar Sabouraud

Fuente: http://85.238.144.18/analytics/Micro_Manual/TEDISdata/prods/1_05398_0500.html

Existen leyes biológicas que rigen la fermentación por levaduras, que fueron establecidas por Kluver-Windisch-Dekker, éstas son las siguientes:

- ✓ Si una levadura no fermenta glucosa (dextrosa), no fermenta ningún otro azúcar.
- ✓ Si fermenta glucosa, puede fermentar fructuosa (levulosa).

Ninguna levadura puede fermentar a la vez maltosa y lactosa. [35]

2.3.2.1 Formas de reproducción de la *Saccharomyces cerevisiae*

- **Reproducción por gemación:** Cuando la levadura se encuentra en un medio favorable, la célula se hincha en un punto de su superficie y aparece una pequeña prominencia que va engrandeciéndose hasta adquirir el grosor de la célula madre, la célula hija desprendida empieza a su vez a iniciar otra gemación, esta multiplicación no tarda más de 10 a 50 min y una sola levadura puede dar muchos millones de individuos en 24 h [1]. (Véase el Apéndice 2.1).
- **Reproducción por esporas:** Cuando el medio no es favorable a la vida de la levadura (temperatura baja o elevada, ausencia de azúcares, porcentaje de agua insuficiente, etc.), su protoplasma se divide en 2 ó 4 masas esféricas que se revisten en una membrana y constituyen entonces los cuerpos reproductores llamados esporas, el momento de aparición de las esporas es muy variado, de 1 a 24 h, según las razas de levaduras. La reproducción por esporas es el proceso normal de conservación de las especies [1]. (Véase el Apéndice 2.2).

2.3.2.2 Nutrición de la levadura

Como todos los seres vivos en general, y como todos los vegetales en particular, las levaduras respiran y se nutren. En el cuadro 2.3 se presenta la composición de la levadura según análisis de Belohoubek.

Para que la multiplicación se haga rápidamente y en buenas condiciones es preciso administrarle aire (por el oxígeno que contiene) y nutrientes. [1]

Cuadro 2.3. Composición de la levadura según Belohoubek

ELEMENTO	Porcentaje (%)
Agua	68,00
Materias hidrocarbonadas	14,10
Materias nitrogenadas	13,10
Materias minerales	1,77
Materias diversas	3,03
Total	100,00

2.3.2.3 Selección de la levadura

Para aislar una raza de levadura es necesario recurrir a los métodos clásicos de la bacteriología, los cuidados a tener en la selección y mantenimiento de una cepa pura puede variar grandemente en las diversas industrias en que se utilizan las levaduras.

Las levaduras puras aisladas son caracterizadas por su resistencia al calor, al anhídrido sulfuroso, al alcohol, a la acidez, por su poder fermentativo (cantidad de azúcar descompuesta por gramo de levadura producidas) su rendimiento en alcohol (cantidad de azúcar transformada para dar un grado de alcohol), por la regularidad y rapidez de la fermentación, como también por su baja formación de congenéricos (son compuestos químicos formados principalmente durante los procesos de fermentación y añejamiento por la interacción química entre algunos ácidos orgánicos con el alcohol etílico para formar ésteres, aldehídos, ácidos orgánicos, alcoholes superiores y furfural), por la estabilidad en conservar sus características individuales a través de múltiples generaciones. [35]

Las levaduras para la producción de alcohol industrial deben presentar las siguientes características mínimas:

- ✓ Producción de alcohol etílico : 7,7 %
- ✓ Eficiencia fermentativa teórica: 84,0 %
- ✓ Azúcar residual: 1,5 %
- ✓ Alcoholes superiores: 30,0 mg/100 mL

2.4 Productos

2.4.1 Glucosa

La glucosa es la unidad de base de los polisacáridos; almidón, glucógeno y celulosa, se le conoce con el nombre de dextrosa o azúcar de uva, es el azúcar que se encuentra normalmente en la sangre.

La masa molecular de la glucosa, $C_6H_{12}O_6$, es 180,16 g/mol. Por debajo de los 50 °C la α -D-glucosa es un cristal de forma estable, por encima del 50 °C se obtiene la forma anhidra, y a temperaturas más altas se forma la β -D-glucosa.

La glucosa es altamente reductora, se oxida dando origen a productos como, el ácido fórmico, oxálico, tartárico, etc., o se escinde dando CO_2 y agua.

La glucosa interviene directamente en las actividades metabólicas de la mayor parte de los organismos vivos; al obtenerse por hidrólisis de la sacarosa y el almidón, constituye la principal fuente de energía de la dieta de la mayor parte de los seres humanos.

El principal uso de la glucosa es, como alimento humano, ya sea directamente como alimento energético; o en la fabricación de confituras, caramelos, helados, conservas, etc. Se utiliza para disminuir la solubilidad de la sacarosa y también para regular el grado relativo de dulzura, en iguales concentraciones es menos viscosa, determina así, una cristalización más lenta. En medicina se usa en el tratamiento y profilaxis de la deshidratación humana. Se emplea como materia prima, en la obtención de ciertos productos químicos por fermentación, como alcohol, ácido láctico, ácido cítrico, etc. [35]

2.4.2 Alcohol

Es uno de los compuestos orgánicos, conocido desde los tiempos antiguos, pues se forma en la fermentación de los zumos de fruta por la acción de las levaduras naturales.

Muchas son las materias primas de las cuales se puede partir para obtener alcohol etílico; generalmente cada país emplea las que posee en mayor escala, y por lo común los subproductos de otras industrias.

Entre los métodos para obtener alcohol etílico se pueden indicar los siguientes:

2.4.2.1 Métodos de obtención del alcohol

- **Por conversión de biomasa en azúcares fermentables**

La fermentación de azúcares con levadura, el proceso de síntesis química más antiguo empleado por el hombre, todavía es de enorme importancia para la preparación de alcohol etílico y otros alcoholes.

Los azúcares proceden de varias fuentes, sobre todo de las melazas de la caña de azúcar o del almidón que se obtiene de diversos granos por esto, al alcohol etílico se le ha dado el nombre de "alcohol de granos".

Cuando la materia prima es el almidón, se obtiene, además de alcohol etílico, una cantidad menor de aceite de fúsel, que es una mezcla de alcoholes primarios: alcohol isopentílico con cantidades menores de alcohol n-propílico y 2-metil-1-butanol, denominado alcohol amílico activo. [21]

Cualquiera que sea el método de preparación, primero se obtiene alcohol etílico mezclado con agua y otras impurezas, luego se concentra esta mezcla por destilación fraccionada; pero sucede que el componente de punto de ebullición más bajo no es

alcohol etílico (p.e. 78,5 °C), sino un azeótropo binario que contiene 95 % de alcohol en volumen (p.e. 78,2 °C). Por ser un azeótropo su vapor tiene la misma composición que el líquido, por lo que no puede ser concentrado por destilación, cualquiera que sea la columna de destilación que se emplee [21]. El alcohol absoluto es el alcohol etílico libre de impurezas y humedad, para obtenerlo desde el alcohol rectificado, existen dos métodos de purificación: el primero, trata el alcohol con desecantes sólidos y líquidos; el segundo, hace uso del comportamiento azeotrópico de mezclas de alcohol acuoso con hidrocarburos en líquidos, este método se denomina destilación azeotrópica [15]. El alcohol etílico absoluto (etanol), C_2H_5OH , de masa molecular 46,07 g/mol, es un líquido inodoro, muy móvil, liviano, de olor característico y absorbe rápidamente agua del aire. Es miscible con agua y con muchos compuestos orgánicos líquidos, hierve a 78,5 °C, su densidad a 15,56 °C es de 0,79 g/mL [34]. El alcohol de 95%, contiene 92,3 % en masa o 94,8 % en volumen de alcohol etílico a 15,56 °C, con una densidad de 0,816 g/mL (alcohol obtenido desde las columnas de rectificación).

- **Por el proceso de esterificación-hidrólisis**

Esta reacción se verifica en dos etapas: la primera etapa se lleva a cabo entre el ácido sulfúrico y el etileno a unos 75 °C en una columna de platos, en la segunda etapa la mezcla resultante se diluye en un hidrolizador para producir el etanol. El rendimiento total es de aproximadamente 90 % de etanol y 5 - 10 % de éter dietílico. [13]

- **Por el proceso de hidratación catalítica directa**

Se basa en una reacción de agua y etileno sobre un catalizador de ácido fosfórico a unos 400 °C y 70 kg/cm², este método tiene la ventaja de formar menor proporción del

subproducto éter dietílico. Se ha reportado que el rendimiento total de etanol es del orden de 97 % o más. [13]

2.4.2.2 Rendimiento del alcohol etílico

La densidad del alcohol etílico a 15 °C es 794,225 g/L, considerando como base estos datos se calculan los siguientes rendimientos teóricos. [31]

- ✓ 100 kg de almidón rinde 71,54 L de alcohol etílico.
- ✓ 100 kg de sacarosa o maltosa rinde 67,77 L de alcohol etílico.
- ✓ 100 kg de glucosa o fructuosa rinde 64,39 L de alcohol etílico

En la práctica no se obtienen estos rendimientos debido a las siguientes razones:

- ✓ El almidón nunca se transforma completamente en azúcar fermentable cuando se utilizan materias primas amiláceas.
- ✓ Determinadas cantidades de hidratos de carbono quedan sin fermentar; y otras se pierden debido a la formación de ácidos por acción microbiana.
- ✓ Parte del alcohol etílico se transforma en ácido acético o acetaldehído o se pierde por evaporación.

En el cuadro 2.4 se puede observar los rendimientos por 100 kg de alcohol obtenido a partir de diferentes materias primas

Cuadro 2.4. Rendimiento experimental de etanol por 100 kg de algunas materias primas amiláceas y azucaradas

MATERIA PRIMA	ALMIDÓN %	ALCOHOL %	ALCOHOL DE 100°
Almidón puro	100	-	60,0 - 67,0
Arroz	70	-	42,0 - 46,9
Trigo	62	-	37,2 - 41,5
Maíz	60	-	36,0 - 40,2
Cebada	50	-	30,0 - 33,5
Papa fresca	22	-	13,2 - 14,7
Azúcar pura	-	100	58,0 - 64,0
Melaza de caña	-	55	31,9 - 35,2
Remolacha de azúcar	-	18	10,4 - 11,5

Fuente: Ullman, F. "ENCICLOPEDIA DE QUIMICA INDUSTRIAL", Editorial Gustavo Gili S.A. Barcelona, 1958. Tomo IV

2.4.2.3 Aplicaciones y usos

Considerable cantidad de alcohol fabricado se consume en la bebida (aguardientes compuestos y licores). Grandes cantidades se emplean como combustible en la economía doméstica, para el alumbrado (incandescencia por el alcohol) y como carburante para motores. Mucho alcohol se consume además en la industria de la nitrocelulosa y de la seda artificial. También se emplea alcohol en grandes proporciones para la fabricación de lacas, tinturas, artículos de perfumería, cosméticos, jabones, preparados farmacéuticos y medicinales, etc., y para la recristalización de numerosos productos de importancia industrial. [31]

El alcohol es la primera materia prima para la fabricación de valiosos productos industriales, y principalmente vinagres, éter, etileno y sus derivados. Se fabrican con los ésteres etílicos de los ácidos fórmicos, butíricos, lácticos, benzoicos y ftálico, que se utiliza para la preparación de éteres de fruta y artículos de perfumería así como en la industria de las lacas. Para la obtención del cloral, cloroformo, yodoformo y fulminato de mercurio también se utiliza alcohol. [31]

2.4.2.3.1 Uso del alcohol como carburante

El etanol debe ser sometido a un proceso que lo libere de agua, sólo entonces el producto está listo para ser mezclado con la gasolina común, que además de oxigenarla permite aprovechar el alto nivel de octano que posee [2]. El alcohol anhidro puede usarse como aditivo en la gasolina, sustituyendo al tetraetil plomo $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{Pb}$ y al metil ter-butil éter (MTBE) que son sumamente tóxicos. En Brasil, la gasolina para automóviles tiene entre un 20 % y un 25 % de alcohol anhidro en su composición. [17]

Un motor de ignición a compresión que funciona con etanol requiere de inyectores especiales y realizadores de ignición para hacer que el etanol se quemé. El etanol también se presta para ser mezclado con gasolina para su uso en motores de ignición por chispa [16]. El 65,45 % de producción mundial de etanol se usa como combustible. [2]

2.4.2.4 Producción y demanda

En el Perú la producción de etanol se destina principalmente a la elaboración de bebidas. Las destilerías peruanas no elaboran alcohol anhidro (etanol combustible) cuya utilización es como carburante en la mezcla de gasolina con alcohol. Cabe destacar que con la actual capacidad de producción de las destilerías locales no se podría abastecer en el corto plazo la demanda externa de etanol, ante ello se requiere de nuevas inversiones para abastecer en el largo plazo el mercado exterior [2]. En la figura 2.7 se representa la producción de alcohol etílico (en L) por año a nivel nacional.

La demanda mundial de etanol está creciendo por el mayor uso que se le está dando a este biocombustible, entre los principales demandantes o importadores se encuentran la Unión Europea y los Estados Unidos de Norteamérica además de Brasil, el cual es uno de los mayores productores y consumidores de este biocombustible. [2]

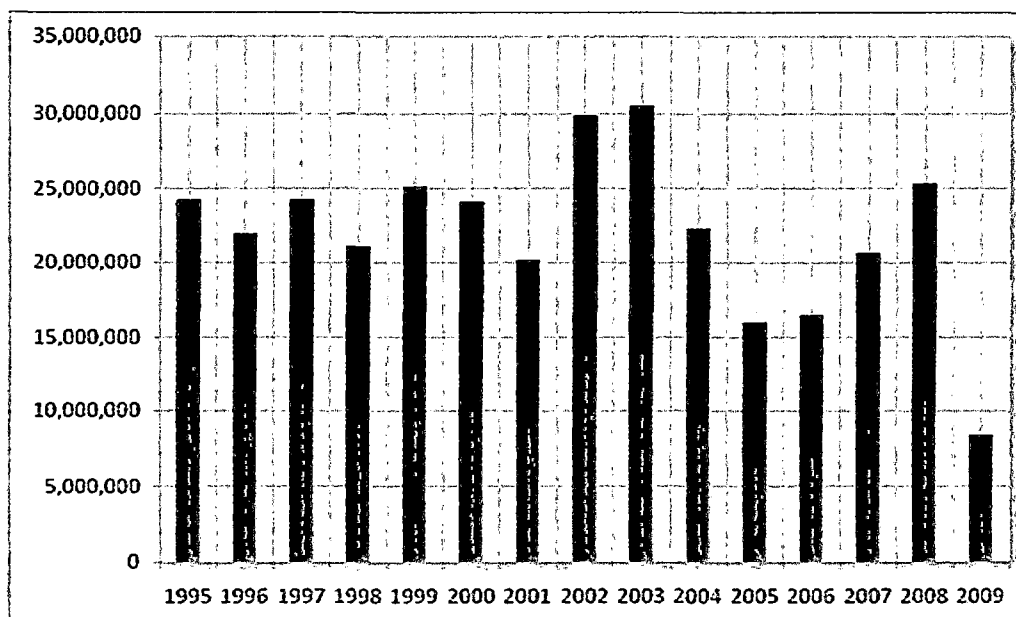


Figura 2.7 Producción de alcohol etílico (litros) por año a nivel nacional

Fuente: Ministerio de la Producción - Viceministerio de Industria.

2.5 Operaciones básicas

2.5.1 Hidrólisis del almidón

La hidrólisis es una reacción química que consiste en el desdoblamiento de moléculas estructurales de gran tamaño (proteínas, almidón, celulosa, grasa, etc.), en sus partes constituyentes por la introducción de una molécula de agua en los enlaces adecuados [6], [36].

La hidrólisis del almidón tanto con ácido como con enzimas, produce maltodextrinas y se puede transformar hasta dextrosa (D-glucosa casi pura). [6], [36]

2.5.1.1 Métodos de hidrólisis del almidón

Se puede hidrolizar por tres diferentes métodos:

- **Hidrólisis con soluciones diluidas de ácidos fuertes**

El químico alemán Kirchhoff descubrió que hirviendo almidón en medio ácido (en estos casos se usan HCl o H₂SO₄) y neutralizándolo posteriormente aquel podría ser convertido en azúcar. Sin embargo, la acción catalítica no específica del ácido daba lugar a la formación de productos de sabor y olor indeseables. [18]

- **Hidrólisis con ácido-enzima**

El primer paso consiste en hidrolizar el almidón con una solución diluida de un ácido fuerte, luego se añade una enzima sacarificante, tal como alfa-amilasas, beta-amilasas o glucoamilasas. [13]

- **Hidrólisis catalizadas enzimáticamente**

Para la hidrólisis enzimática industrial del almidón se utilizan enzimas provenientes de diversas fuentes (vegetales, animales y microbiales). Durante la hidrólisis enzimática se rompen los enlaces α -(1,4) y α -(1,6) presentes en el almidón para liberar cadenas más cortas: dextrinas, maltosa y glucosa; las enzimas actúan específicamente sobre un tipo de los enlaces mencionados o en algunos casos sobre los dos de modo que se logra obtener glucosa pura. [18], [25]

La principal ventaja del proceso enzimático, comparado con la hidrólisis ácida, es que no hay formación de subproductos y hay una reducción en la demanda energética del proceso (pues no se requiere el uso de grandes presiones ni elevadas temperaturas). [6], [36]

En la presente investigación se utilizaron enzimas de origen microbial del grupo de las hidrolasas, estas enzimas son alfa-amilasa de *Bacillus licheniformis* y la amiloglucosidasa de *Aspergillus Níger*.

En base a la información sobre como actúa cada enzima mencionada se utilizaron en el proceso ambas enzimas con la finalidad de lograr la hidrólisis total en menor tiempo, para lo cual se planteó realizar 2 etapas sucesivas:

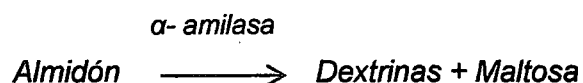
- 1°. Hidrólisis parcial o de licuefacción, utilizando sobre el almidón la enzima alfa-amilasa se consigue romper las cadenas complejas de almidón obteniéndose como productos principales: dextrina, maltosa y glucosa.
- 2°. Hidrólisis total o de sacarificación, usando la enzima amiloglicosidasa sobre los productos de la hidrólisis parcial se consigue desdoblarlos hasta glucosa.

2.5.1.2 Etapas para la conversión de almidón a azúcares fermentables

Existen tres etapas en la conversión de almidón a azúcares susceptibles de fermentar:

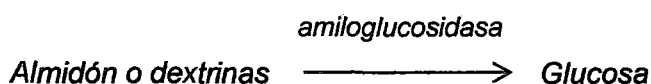
2.5.1.2.1 Gelatinización: Operación física que consiste en la disolución de los gránulos del almidón por medio del calor para formar una suspensión viscosa.

2.5.1.2.2 Licuefacción: Es la etapa de hidrólisis parcial del almidón, en donde la acción de la enzima alfa-amilasa hidroliza a los enlaces glucosídicos α -(1,4) en el interior de la molécula de almidón para dar lugar a la formación progresiva de pequeñas cadenas formadas por varias unidades de glucosa, entre estos polímeros están incluidos en mayor proporción las dextrinas. La reacción es la siguiente:



2.5.1.2.3 Sacarificación: Etapa de hidrólisis total, que involucra la producción de la glucosa como único producto por hidrólisis adicional efectuado en el producto de la etapa anterior, en donde se utiliza la enzima amiloglicosidasa, esto es debido a que al utilizar dicha enzima luego de que el almidón ha sido

previamente despolimerizado con α -amilasa (para generar más extremos no reductores) se logra la aceleración de la velocidad de formación de la glucosa. La reacción del proceso es la siguiente:



2.5.1.3 Cinética de la Hidrólisis

Los principios generales de la cinética de las reacciones químicas son aplicables a las reacciones catalizadas por las enzimas, en los seres vivos. No obstante, éstas muestran un rasgo característico que no se observa en los catalizadores no enzimáticos, se trata de la saturación por el sustrato, entendida en términos de ocupación de los centros activos de todas las moléculas de la enzima.

Estudiar el efecto de la concentración del sustrato sobre la actividad de una enzima no es sencillo, puesto que la concentración del sustrato disminuye según avanza la reacción. Las reacciones enzimáticas se ajustan a dos tipos de cinéticas, que son:

- Hipérbolas rectangulares: enzimas que siguen la cinética de Michaelis-Menten
- Sigmoidales: enzimas alostéricas que muestran fenómenos de cooperatividad.

2.5.2 Fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico que además de generar etanol libera grandes cantidades de dióxido de carbono (CO_2), además de energía para el metabolismo de las bacterias anaeróbicas y levaduras.

La fermentación alcohólica (denominada también fermentación del etanol o fermentación etílica) es un proceso biológico en ausencia de aire

(oxígeno), originado por la actividad de algunos microorganismos que procesan los hidratos de carbono (por regla general, azúcares: como por ejemplo la glucosa, la fructosa, la sacarosa, el almidón, etc.) para obtener como productos finales: etanol, $\text{CH}_3\text{-CH}_2\text{-OH}$, dióxido de carbono, CO_2 (g) , y unas moléculas de ATP que consumen los propios microorganismos en su metabolismo celular energético anaeróbico.

La fermentación alcohólica tiene como finalidad biológica proporcionar energía anaeróbica a los microorganismos unicelulares (levaduras) en ausencia de oxígeno para ello disocian las moléculas de glucosa y obtienen la energía necesaria para sobrevivir, produciendo etanol y CO_2 (g) como desechos consecuencia de la fermentación. Las levaduras y bacterias causantes de este fenómeno son microorganismos muy habituales en las frutas y cereales y contribuyen en gran medida al sabor de los productos fermentados. Una de las principales características de estos microorganismos es que viven en ambientes completamente carentes de oxígeno, O_2 (g), durante la reacción química, por esta razón se dice que la fermentación alcohólica es un proceso anaeróbico.

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

2.5.2.1 Factores que favorecen el proceso fermentativo

La determinación de los factores que limitan la glicólisis fermentativa del etanol son complejos debido a la interrelación existente y a la naturaleza de los parámetros intervinientes durante el proceso de fermentación. Algunos de ellos se deben tener en cuenta en la fermentación alcohólica industrial. En las limitaciones que surgen durante el proceso se pueden enumerar como las más importantes las siguientes:

2.5.2.1.1 Concentración de nutrientes: La presencia de sustancias nutritivas adecuadas es una condición necesaria para el crecimiento y desarrollo de la

levadura, siendo su concentración un factor primordial en la actividad vital de la levadura. Las principales sustancias nutritivas y las más influyentes son magnesio, manganeso, zinc, potasio, nitrógeno, fósforo, azufre, vitaminas y trazas de otros elementos. [33]

2.5.2.1.2 Concentración de azúcares (sustrato): El carbono es suministrado por los azúcares contenidos en la materia prima, siendo la concentración de azúcar un valor que se debe considerar ya que afecta la velocidad de la fermentación, el comportamiento y el desarrollo de las células de la levadura. La concentración excesiva de hidratos de carbono en forma de monosacáridos y disacáridos puede frenar la actividad bacteriana; de la misma forma, la baja concentración puede frenar el proceso. Las concentraciones límite dependen del tipo de azúcar así como de la levadura responsable de la fermentación.

Suele ser satisfactoria una concentración de azúcar de 10 al 18 %, siendo 12 % el valor más usado. Cuando se trabaja con concentraciones de azúcar muy altas, del orden de 22 %, se observa una deficiencia respiratoria en la levadura y un descenso de la velocidad de fermentación; por el contrario, al trabajar con concentraciones muy bajas, el proceso resulta antieconómico ya que requiere un mayor volumen para la fermentación. [3], [33].

2.5.2.1.3 Concentración de etanol resultante: Una de las principales limitaciones del proceso, es la resistencia de las levaduras a las concentraciones de etanol que se llegan a producir durante la fermentación. Una concentración alcohólica del 3 % ya influye sobre el crecimiento; una concentración de un 5 % influye tanto sobre el crecimiento como en la fermentación. Cuando la concentración es del 10 %, el crecimiento sufre la paralización total. Algunos microorganismos como *Saccharomyces cerevisiae* pueden llegar a soportar hasta un 20% de concentración en volumen. [13], [33]

2.5.2.1.4 pH: Este es un factor primordial en la fermentación, debido a su importancia en el control de la contaminación bacteriana como también al efecto en el crecimiento de las levaduras, en la velocidad de fermentación y en la formación de alcohol. Cuanto más bajo el pH del medio, tanto menor el peligro

de infección, pero si se trabaja con pH muy bajo la fermentación es muy lenta, ya que la levadura no se desarrolla de la forma conveniente. El crecimiento no se ve favorecido por una acidez elevada; por el contrario, las levaduras hacen fermentar mayores cantidades de azúcares en un medio neutro o poco ácido. Según los estudios realizados [33] el pH más favorable para el crecimiento de la *Saccharomyces cerevisiae* se encuentra entre 3,5 – 5,0, el más usado es el rango de 4,8 a 5 para un crecimiento óptimo. Con pH inferior a 2,8 y hacia 2,5 – 2,6, la fermentación se vuelve difícil. El crecimiento de las levaduras también se ve afectado en un medio ligeramente alcalino. [38], [33]

2.5.2.1.5 Temperatura: La temperatura es un factor elemental en la actividad de todas las levaduras; y éstas tienen un régimen de temperatura de funcionamiento en condiciones óptimas, mínimas y máximas para cada una de las diversas funciones de la célula: respiración, fermentación, crecimiento. Por debajo de los 20 °C, las levaduras no actúan, por encima de los 20 °C hasta los 32 °C, la proliferación y la actividad fermentativa crece en grandes proporciones; por encima de los 35 °C, la fermentación se detiene. [38]

2.5.2.1.6 Contacto con el aire: La presencia de una mínima cantidad de oxígeno en el proceso lo detiene por completo, este hecho se ha denominado Efecto Pasteur y es la razón por la que los recipientes fermentadores deben estar herméticamente cerrados. [14]

2.5.3 Destilación

La destilación consiste en separar los componentes de las mezclas basándose en la diferencia de los puntos de ebullición de los componentes. Es necesario aclarar que un compuesto de punto de ebullición bajo se considera "volátil" en relación con los otros componentes de puntos de ebullición mayor. Los componentes con una presión de vapor baja, tendrán puntos de ebullición altos, y los que tengan una presión de vapor alta, tendrán puntos de ebullición bajos.

Las técnicas de destilación o evaporación al vacío, están muy desarrolladas, sobre todo para la recuperación o re-enriquecimiento de fracciones de disolventes.

A presión atmosférica todas estas sustancias poseen una temperatura a la cual cambia la fase, pasando de líquido a vapor. Esta temperatura disminuye en aquellos sistemas que trabajan a una presión inferior a la atmosférica.

Mediante la destilación, se separan las sustancias debido a que hierven (cambia de fase) a diferentes temperaturas. El sistema de refrigeración permite volver a la fase líquida la fracción evaporada. Este sistema es muy efectivo para la recuperación de disolventes que no estén mezclados pero que contengan impurezas. Cuando una mezcla de dos disolventes se somete a un proceso de destilación, el margen de temperaturas entre la ebullición del más volátil y la del menos volátil, supone menos grados progresivos de enriquecimiento de cada fase, la líquida y la gaseosa.

Sin embargo, para sistemas donde haya habido una mezcla de disolventes (de ahí la importancia de la segregación), suele presentarse un problema: la aparición de un azeótropo, que puede presentar un cambio en el punto de ebullición al realizar la destilación. El azeótropo es una mezcla de disolventes que, al llegar a la temperatura azeotrópica, hace que el enriquecimiento de las fases no progrese ya que los diferentes componentes de la mezcla cambian de fase simultáneamente. En otras palabras, la mezcla azeotrópica es una disolución que contiene la misma proporción de componentes químicos antes y después de la destilación. El ejemplo más común es una disolución de 4,43 % de agua y 95,57 % de etanol. Los componentes de dichas mezclas no pueden separarse por destilación ordinaria, pero la adición de otro componente químico puede hacer posible la separación, por ejemplo la adición de benceno a la disolución anterior de alcohol/agua. La aparición de azeótropos es el principal problema en la aplicación de las técnicas de valoración mediante destilación.

Los tipos de destilación más comunes son la destilación simple, la destilación fraccionada y la destilación con arrastre de vapor.

En la destilación simple, el proceso se lleva a cabo por medio de una sola etapa, es decir, que se evapora el líquido de punto de ebullición más bajo (con mayor presión de vapor) y se condensa por medio de un refrigerante.

En la destilación fraccionada, el proceso se realiza en multi-etapas por medio de una columna de destilación en la que se llevan a cabo numerosas evaporaciones y condensaciones. Al ir avanzando a lo largo de la columna, la composición del vapor es más concentrada en el componente más volátil y la concentración del líquido que condensa es más rica en el componente menos volátil. Cabe mencionar que este tipo de destilación es mucho más eficiente que una destilación simple y que mientras más etapas involucre, mejor separación se obtiene de los componentes.

En la destilación con arrastre de vapor, se hace pasar una corriente de vapor a través de la mezcla de reacción, y los componentes que son solubles en el vapor son separados. Entre las sustancias que se pueden separar por esta técnica se pueden citar los aceites esenciales de vegetales, como por ejemplo de limón, manzanilla, menta, etc.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Materiales principales

3.1.1 Materia prima: camote

Como fuente de almidón y azúcares se utilizó las raíces frescas de camote (*Ipomoea batatas*) de la variedad de piel morada con pulpa naranja conocido como Limeño o Jahuayano proveniente de los valles de Cañete, como se muestra en la fotografía de la figura 3.1.

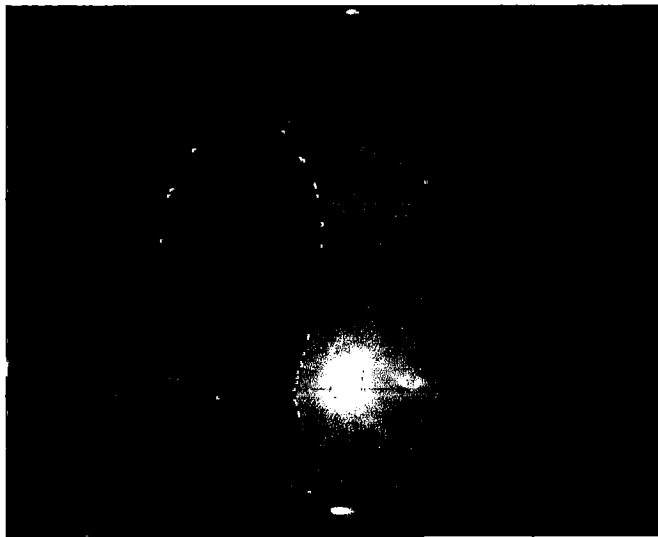


Figura 3.1 Camote “Jahuayano” de piel morada con pulpa naranja

Fuente: Archivo fotográfico de los tesisistas

3.1.2 Enzimas y Microorganismos

- ✓ Enzima Alfa-amilasa de *Bacillus licheniformis*. Tipo XII-A, solución salina, 500-1 000 unidades/mg proteína. Nombre comercial Termayl 120. Producida por Novozymes Corp. y distribuida por Sigma – Aldrich. (Véase Apéndice 3.1)

- ✓ Amiloglucosidasa de *Aspergillus Níger*, solución acuosa, ≥ 300 unidades/mL proteína. Nombre comercial AMG 300L. Producida por Novozymes Corp. y distribuida por Sigma – Aldrich. (Véase Apéndice 3.2)
- ✓ Levadura *Saccharomyces cerevisiae*, Tipo II, sólido granulado. Sinónimo: levadura de panadería. Producida y distribuida por Sigma – Aldrich. (Véase Apéndice 3.3).

3.2 Métodos analíticos

3.2.1 Método de cultivo de la levadura

El cultivo de levaduras se lleva a cabo usando Agar Sabouraud, el cual se prepara en un matraz mezclando: peptona 10 g, glucosa anhidra 40 g, agar-agar 16 g, agua destilada 1 000 mL, regulado a pH 5,6; luego se coloca en una autoclave a 120 °C por 15 min. El material de vidrio como pipetas y placas Petri se esterilizan en el horno a 180 °C por 2 h.

La preparación anterior se coloca en la cámara aséptica la cual ha sido descontaminada previamente con luz ultravioleta y a la cual se mantiene cerrada durante 10 min. Teniendo el agar temperado es dispuesto en placas Petri, en un volumen aproximado de 15 - 20 mL. Una vez solidificado el agar, las levaduras son inoculadas con la ayuda de una asa de siembra. Luego, es incubada a 30 °C por un período de 24 h para que se reproduzca la levadura y luego sea utilizada posteriormente en el proceso de fermentación inoculando el cultivo de levadura en un volumen de 5 % respecto del volumen del mosto a fermentar.

3.2.2 Método yodométrico para la determinación cualitativa del almidón en la hidrólisis

Para identificar al almidón y dextrinas se realiza la prueba del yodo o método yodométrico usando una disolución de yodo molecular (I_2) y yoduro de potasio (KI) en agua destilada denominada solución de lugol.

El lugol reacciona con almidón produciendo un color púrpura profundo, pero no reacciona con los azúcares simples como la glucosa, esta propiedad sirve para medir cualitativamente el avance de la hidrólisis mediante una disminución de la coloración hasta llegar al final de la hidrólisis en donde ya no hay cambio de color.

El experimento se ha realizado mediante el siguiente procedimiento: se coloca en una luna de reloj (seca y limpia), 3 gotas de la solución que se está hidrolizando y se añade 2 gotas del reactivo lugol, si se observa una coloración púrpura (véase la figura 3.2) indica la presencia de almidón en la solución, conforme avanza la hidrólisis (en licuefacción y sacarificación) la coloración de la reacción lugol-almidón es menos intensa, cuando ya no hay coloración indica la finalización de la sacarificación; es decir, la transformación completa de almidón en azúcares reductores.



Figura 3.2. Identificación cualitativa del almidón a través de la coloración de la reacción

Fuente: Archivo fotográfico de los tesisistas

3.2.3 Método del refractómetro digital para la determinación de la concentración de azúcares reductores

La determinación de la concentración de azúcares reductores (glucosa) se efectúa utilizando el equipo refractómetro digital Pocket PAL-RI que mide el índice de refracción de la luz al pasar a través de una solución

azucarada. Las especificaciones técnicas y modo de uso del equipo se muestran en el Apéndice 4.1

3.2.3.1 Obtención de la recta de calibración del índice de refracción vs. concentración de azúcares reductores.

Diluyendo glucosa anhidra en agua, se prepararon por triplicado 06 soluciones patrón de 0, 5, 10, 15, 18 y 20 (g/100 mL), a las cuales se les midió el índice de refracción usando un refractómetro digital. Los datos de índice de refracción vs. concentración de glucosa se muestran en el cuadro 3.1 y se grafican en la figura 3.3 con lo cual se obtiene una correlación lineal.

Los datos obtenidos en el cuadro 3.1 se ajustaron a una correlación lineal cuya ecuación y coeficiente de correlación están dados por las relaciones:

$$Y = 0,0012 X + 1,3333 \quad \text{y} \quad R^2 = 0,9915$$

Donde:

Y = índice de refracción

X = concentración de glucosa de la muestra (g/100 mL)

R = coeficiente de correlación

Cuadro 3.1. Índice de refracción de la soluciones de glucosa medida en el refractómetro digital

Concentración de glucosa (g/100 mL)	Índice de refracción 1	Índice de refracción 2	Índice de refracción 3	Índice de refracción Promedio
0,00	1,3324	1,3327	1,3325	1,3325
5,00	1,3392	1,3397	1,3395	1,3395
10,00	1,3461	1,3465	1,3465	1,3464
15,00	1,3526	1,3527	1,3526	1,3526
18,00	1,3545	1,3547	1,3547	1,3546
20,00	1,3566	1,3568	1,3566	1,3567

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisas

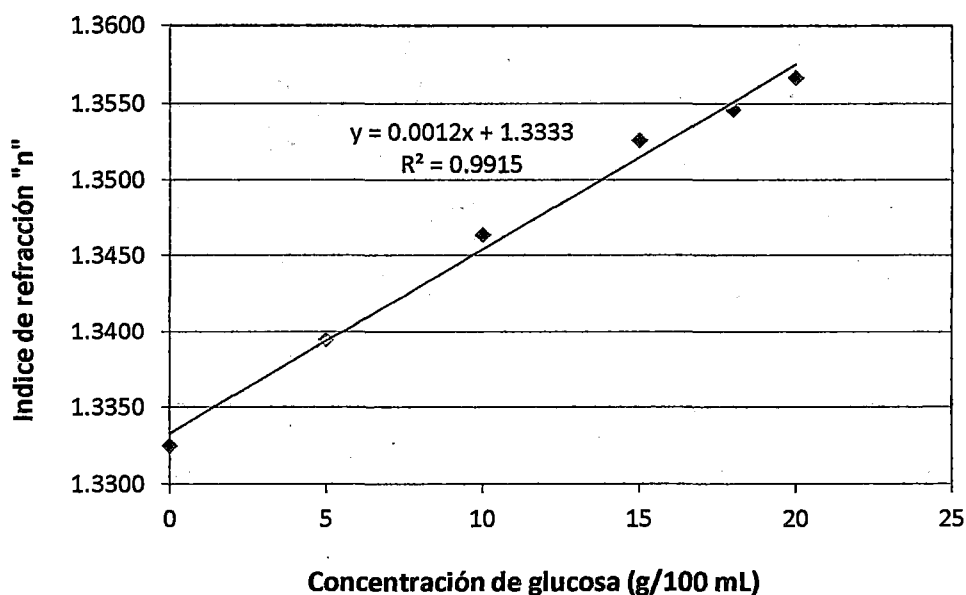


Figura 3.3. Recta de calibración para la determinación de azúcares reductores usando refractómetro digital.

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

3.2.3.2 Aplicación del método del refractómetro digital para la determinación de la concentración de azúcares reductores durante la hidrólisis

Como en el proceso se tiene una solución agua-azúcar, es necesario usar el método del refractómetro, puesto que la refracción en el lente óptico será provocada solamente por el azúcar presente en la solución.

Para medir la concentración de los azúcares reductores en la solución durante la hidrólisis, se saca una muestra de aproximadamente 1 mL y se filtra o centrifuga para separar los sólidos presentes en la solución ya que éstos distorsionarían el grado de refracción en el lente del equipo, se dejan caer 03 gotas del líquido claro en el refractómetro digital y se procede a medir el índice de refracción "n" y mediante la curva de calibración se obtiene la correspondiente concentración de azúcares.

3.2.4 Método de Miller para la determinación de la concentración de azúcares reductores.

3.2.4.1 Preparación del indicador DNS

Se debe preparar una solución de DNS, adicionando 1 416 mL agua, 10,6 g de ácido 3,5-dinitrosalicílico, 19,8 g de NaOH y 306 g de tartrato sódico potásico (Sal de Rochelle).

La solución de DNS preparada se coloca en un frasco oscuro etiquetado para evitar que se degrade por acción de la luz.

3.2.4.2 Obtención de la recta de calibración de absorbancia vs. concentración de azúcares reductores.

Se prepara una solución patrón de glucosa con una concentración de 1 g/L, para lo cual se disolvió 0,1 g de glucosa en 90 mL de agua destilada, una vez disuelta la glucosa se completa la solución a 100 mL. A partir de la solución anterior y usando agua destilada para la dilución se preparan nuevas soluciones con diferentes concentraciones de glucosa: 0,2; 0,4; 0,6 y 0,8 g/L.

De cada solución de glucosa de 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 y 1,0 g/L se preparan por triplicado muestras en tubos de ensayos conteniendo cada una 1 mL de la solución de glucosa y 3 mL de la solución de DNS, se agita y se coloca en baño maría a 100 °C durante 5 min y se dejan enfriar.

Utilizando como blanco una solución de agua con el reactivo DNS, se determina la absorbancia para cada tubo usando el espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm (véase cuadro 3.2) y se grafica la Absorbancia vs. Concentración de glucosa con lo cual se obtiene una correlación lineal (véase figura 3.4).

Los datos obtenidos en el cuadro 3.2 se ajustaron a una correlación lineal cuya ecuación y coeficiente de correlación están dados por las relaciones:

$$Y = 9,58 X - 0,0575 \quad \text{y} \quad R^2 = 0,9972$$

Donde:

Y = absorbancia

X = concentración de glucosa de la muestra (g/100 mL)

R = coeficiente de correlación

Cuadro 3.2. Absorbancia de la soluciones glucosa medida en el espectrofotómetro

Concentración de glucosa (g/L)	Concentración de glucosa (g/100 mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Absorbancia promedio (a 540 nm)
0,2	0,02	0,086	0,168	0,134	0,129
0,4	0,04	0,338	0,358	0,344	0,347
0,6	0,06	0,508	0,484	0,516	0,503
0,8	0,08	0,648	0,736	0,700	0,695
1,0	0,10	0,846	0,994	0,900	0,913

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisas

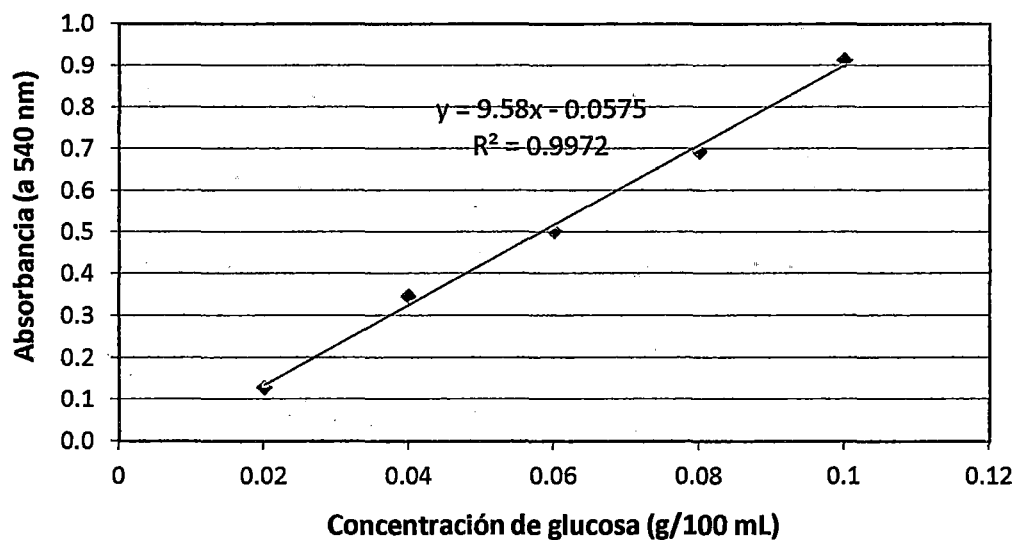


Figura 3.4. Recta de calibración para determinación de azúcares reductores por el método de Miller

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisas

3.2.4.3 Aplicación del método de Miller para la determinación de la concentración de azúcares reductores en la fermentación

Se utiliza este método porque en la fermentación se encuentran presentes 3 sustancias en la solución: agua – etanol – azúcar, al medir la refracción en el refractómetro digital, el equipo medirá un índice de refracción causada por el azúcar y el alcohol, lo cual no es lo que se quiere, por lo tanto, se usa el Método de Miller en el cual la solución de DNS reacciona solamente con los azúcares formando un complejo cuya coloración es medible espectrofotométricamente.

Se mide 1 mL de muestra de solución azucarada en fermentación, como la concentración que se tiene es muy alta, no es posible la lectura de absorbancia, por lo que se debe diluir en 100 mL de agua, luego mezclar la solución de DNS con la muestra diluida en relación 3 a 1, colocar en baño maría la muestra a temperatura de 100 °C por 5 min y enfriar a temperatura ambiente.

Se determina la absorbancia de la muestra en el espectrofotómetro y usando la curva de correlación se obtiene la concentración de azúcares presente en la solución, dicho valor se debe multiplicar por el factor (100) usado en la dilución.

3.2.5 Método de microdifusión para la determinación de la concentración de alcohol

3.2.5.1 Preparación de los tubos de ensayo con reactivos

Para la determinación de etanol se usan 2 tubos de ensayo, uno ancho para el compartimiento exterior y otro tubo angosto para el compartimiento interior.

En el tubo ancho se coloca 0,5 mL de solución saturada de carbonato de potasio (4 g en 10,6 mL de agua destilada) mientras que en el tubo angosto se coloca 1 mL de solución de bicromato de potasio al 0,145 %

en ácido sulfúrico 10 N. Luego el tubo angosto se introduce dentro del tubo ancho con ayuda de una pinza, como se muestra en la figura 3.5

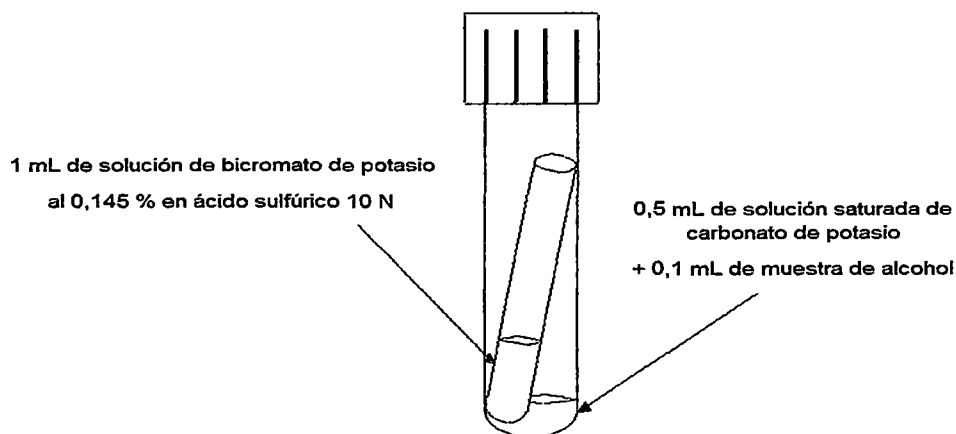


Figura 3.5. Preparación de los tubos de ensayo con reactivos para el método de microdifusión.

Una vez que está preparado el dispositivo anterior se agrega al compartimiento exterior 0,1 mL de solución patrón de alcohol o muestra de la solución en fermentación y se cierra herméticamente el tubo ancho. Se incuba a 45 °C por 60 min, luego se saca el tubo angosto y se le agrega 2 mL de agua destilada y se mide la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 450 nm.

3.2.5.2 Obtención de la curva de correlación de absorbancia vs. concentración de etanol

Las soluciones patrón a preparar por triplicado serán de los siguientes porcentajes en volumen: 0; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0 y 2,5 % (v/v). Las concentraciones de alcohol de porcentaje en volumen se expresan en porcentaje masa/volumen es decir, en g/100 mL, multiplicándolo por la densidad del etanol a 20 °C (0,789 g/mL).

Los resultados de absorbancia para las soluciones de etanol se muestran en el cuadro 3.3 y su gráfica correspondiente se muestra en la figura 3.5, con estos datos se obtiene la correlación lineal.

Los datos obtenidos en el cuadro 3.3 se ajustaron a una correlación lineal cuya ecuación y coeficiente de correlación están dados por las relaciones:

$$Y = -0,1775 X + 0,5938 \quad \text{y} \quad R^2 = 0,999$$

Donde:

Y = absorbancia

X = concentración de etanol de la muestra (g/100 mL)

R = coeficiente de correlación

Cuadro 3.3. Absorbancia de las soluciones de etanol medidas en el espectrofotómetro

Concentración de etanol % vol	Concentración de etanol (g/100 mL)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	Absorbancia promedio (a 450 nm)
0,00	0,00	0,592	0,592	0,592	0,592
0,50	0,39	0,520	0,522	0,521	0,521
0,75	0,59	0,487	0,491	0,489	0,489
1,00	0,79	0,461	0,449	0,455	0,455
1,50	1,18	0,390	0,392	0,391	0,391
2,00	1,58	0,314	0,315	0,315	0,315
2,50	1,97	0,239	0,238	0,239	0,239

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los testistas

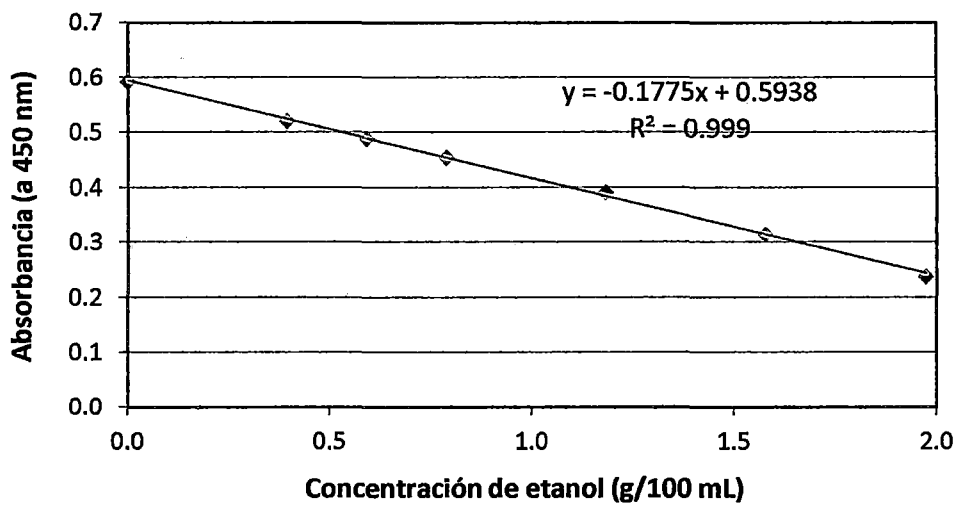


Figura 3.6. Recta de calibración para la determinación de etanol por el método de microdifusión

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los testistas

3.2.5.3 Aplicación del método de microdifusión para la determinación de la concentración de alcohol en la fermentación

Debido a la presencia de 3 sustancias en la solución: agua – etanol – azúcar durante la fermentación, se utiliza el método de microdifusión que implica solamente a la reacción del bicromato sobre el etanol de la muestra para poder determinar su concentración.

Para determinar la concentración de etanol, se mide una muestra de solución en fermentación y se realiza el procedimiento descrito en la sección método de microdifusión, como la concentración de etanol a medir es alta no se debe leer directamente su absorbancia si no que se debe diluir en 100 mL de agua.

Se determina la absorbancia de la muestra en el espectrofotómetro y usando la curva de correlación se obtiene la concentración de etanol presente en la solución pero este valor se debe multiplicar por el factor (100) usado en la dilución.

3.2.6 Método del refractómetro de inmersión ABBE para la determinación de la concentración de etanol en el destilado

Este método se usa cuando se tiene una mezcla agua-etanol porque mide la refracción de la luz debido a la presencia de etanol.

Se determina el grado alcohólico del destilado mediante los pasos siguientes:

Se mide el índice de refracción en el refractómetro de inmersión ABBE, el modo de uso se encuentra descrito en el Apéndice 4.2

Con el valor del índice de refracción observado se determina su correspondiente división de escala utilizando la tabla de "Conversión de Divisiones de Escala del Refractómetro de Inmersión a Índice de Refracción" descrito en el Apéndice 5.1.

Luego utilizamos el valor de la escala obtenida de la tabla mencionada anteriormente como dato de entrada en la tabla de "Lectura de Escala vs.

Concentración de Etanol en Agua” descrito en el Apéndice 5.2 y finalmente se determina el valor de porcentaje de alcohol en volumen o en masa.

3.2.7 Método del picnómetro para la determinación de la densidad del etanol en el destilado

Un picnómetro es un pequeño recipiente de vidrio con tapón (también de vidrio) esmerilado y perforado, cuya particularidad es que puede llenarse siempre con el mismo volumen de líquido y se utiliza para determinar densidades tanto de líquidos como de sólidos.

Para medir la densidad del líquido se utiliza un picnómetro de volumen conocido el cual se debe lavar y secar bien, se pesa el picnómetro vacío y luego se llena completamente incluyendo al capilar, al colocarle el tapón esmerilado el líquido asciende por el interior del capilar e incluso puede rebosar, en ese caso se debe secar bien por fuera y pesar el picnómetro lleno.

Se calcula la densidad del líquido por medio de la ecuación (1):

$$\rho_l = \frac{M_{pll} - M_p}{V_p} \quad \dots\dots\dots(1)$$

Donde:

- ρ_l = densidad del líquido
- M_{pll} = masa del picnómetro lleno
- M_p = masa del picnómetro vacío
- V_p = volumen del picnómetro

Es necesario tener en cuenta que la temperatura influye en el valor de la densidad por eso se debe anotar este dato junto con la densidad.

3.2.8 Método de control del pH usando pH-metro digital

Las mediciones de pH se efectuaron mediante un pH-metro tipo lapicero, la descripción y características técnicas del equipo se describen en el Apéndice 4.3

El ajuste del pH para los experimentos de hidrólisis y fermentación se realizó con los siguientes reactivos: HCl 0,1N y NaOH 0,1N.

En la etapa de licuefacción se ajusta el pH al rango de 6 - 6,5, en la sacarificación de 3,5 - 4,5 y en la fermentación de 3,5 - 5, siendo el pH de trabajo 4,5.

3.2.9 Método del espectrofotómetro para la determinación de la concentración de levadura

3.2.9.1 Obtención de la recta de calibración de absorbancia vs. concentración de levadura.

Se prepararon varias muestras con diferentes concentraciones de levadura y se les midió su absorbancia utilizando el espectrofotómetro a una longitud de onda de 600 nm, los resultados experimentales obtenidos se muestra en el cuadro 3.4 y se grafican en la figura 3.6 con lo cual se obtiene una correlación lineal.

Los datos obtenidos en el cuadro 3.4 se ajustaron a una correlación lineal cuya ecuación y coeficiente de correlación están dados por las relaciones:

$$Y = 0,304 X + 0,0006 \quad R^2 = 1,0$$

Donde:

Y = concentración de levadura (g/L)

X= absorbancia

R = coeficiente de correlación

Cuadro 3.4. Absorbancia vs. concentración de levadura

Concentración de la levadura (g/L)	Absorbancia
0,02	0,0065
0,06	0,0185
0,13	0,0405
0,31	0,0950
0,60	0,1825
1,47	0,4480
2,92	0,8880

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

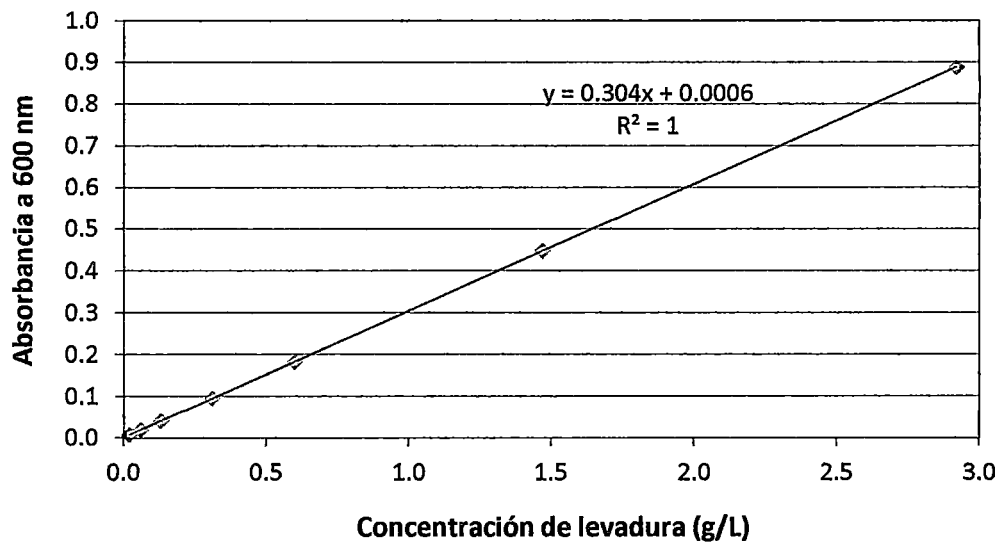


Figura 3.7. Recta de calibración de absorbancia vs. concentración de levadura (g/L)

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

3.3 Metodología de los procesos para la obtención de etanol a partir del camote

Los procesos involucrados en la obtención del camote son:

- ✓ Pre-tratamiento del camote

- ✓ Hidrólisis enzimática por medio de 2 etapas sucesivas que son:
 - Licuefacción
 - Sacarificación
- ✓ Fermentación
- ✓ Destilación

La metodología realizada en los procesos se describe a continuación:

3.3.1. Pre-tratamiento del camote

Recepción: Se recepciona el camote de piel morada con pulpa naranja proveniente de los valles de Cañete.

Selección: Se seleccionan los camotes que estén sanos y no presenten putrefacción.

Lavado: El lavado del camote se realiza con el fin de retirarle las impurezas y tierra adherida.

Pelado: Implica extraer las capas superficiales de la raíz usando un cuchillo.

Pesado: Se pesa la cantidad exacta de camote a procesar que depende del % m/v del ensayo y del nivel de estudio que se va a realizar ya sea a nivel laboratorio (volumen de 300 mL de suspensión) o por lote (volumen de 3 a 5 L de suspensión).

Cortado: Se corta el camote en rodajas delgadas para facilitar el triturado posterior.

Triturado: Utilizando una licuadora doméstica se licúan las rodajas de camote añadiéndole una cantidad de agua que depende de la relación % m/v de la suspensión que se requiere analizar. Véase características del equipo en el Apéndice 4.4.

Extracción de almidón y azúcares solubles (paso final alternativo):

Al realizar las pruebas experimentales se tuvo que filtrar o centrifugar la suspensión para proceder con los métodos analíticos debido a que contenía fibra (lo que distorsionaría la medición) así como también se tuvo inconvenientes en visualizar el consumo de almidón porque la fibra obstruyó la visibilidad.

Por ello, se realizó una prueba de separación de la fibra y fue planteada como paso alternativo al final del pre-tratamiento recomendable solo a nivel de laboratorio.

3.3.2 Hidrolisis Enzimática

3.3.2.1 Licuefacción

A la suspensión de camote se le dieron las condiciones necesarias para que actúe la enzima y proceda la licuefacción:

Se añadió 100 ppm de CaCO_3 (o en su defecto 40 ppm de CaCl_2) como activador de la enzima, se ajustó el pH a 6,5 (rango recomendado de pH 6 - 6.5) y se agregó la enzima alfa-amilasa.

Se calentó la suspensión a 100 °C por 10 min, luego se estabilizó a 90 °C y se mantuvo en agitación constante.

Se controló la concentración de azúcares reductores y al llegar a una concentración constante se da por finalizada la licuefacción.

3.3.2.2 Sacarificación

Para que la sacarificación sea completa se requieren dar las siguientes condiciones a la suspensión licuefactada:

Enfriar la suspensión a 60°C, ajustar el pH a 4,5 (rango recomendado de pH 3,5 - 4,5) y agregar la enzima amiloglucosidasa, mantener la temperatura y pH a agitación constante.

Se controló la concentración de azúcares reductores y una vez que ya no hay aumento de ésta se da por finalizada la sacarificación.

Otra manera de determinar que ha concluido la hidrólisis es aplicando el método yodométrico pero este método es solo cualitativo.

En la figura 3.7 se muestra el proceso de hidrólisis enzimática y aplicación del método yodométrico en el laboratorio.

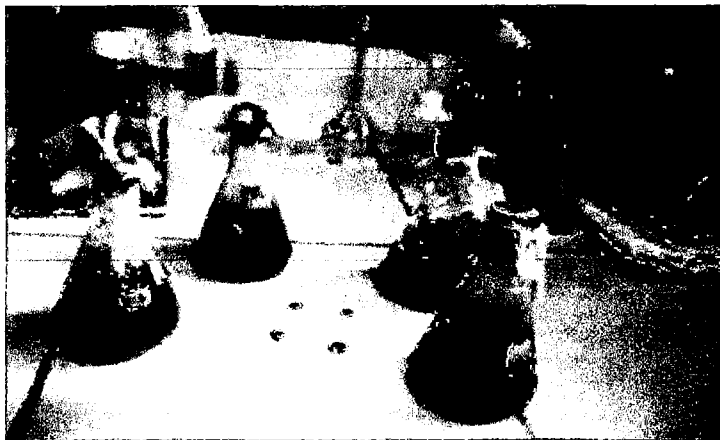


Figura 3.8. Hidrólisis enzimática a nivel laboratorio y aplicación del método yodométrico

Fuente: Archivo fotográfico de los tesisas

En la figura 3.8 se puede observar una fotografía de la hidrólisis por lote realizada a nivel laboratorio.

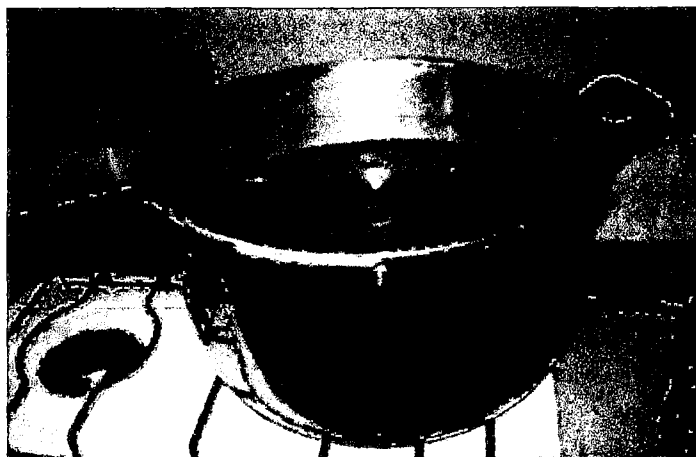


Figura 3.9 Hidrólisis enzimática por lote

Fuente: Archivo fotográfico de los tesisas

3.3.3 Fermentación

Se enfría a 30°C y se filtra la suspensión hidrolizada para separar los sólidos presentes, luego se dan las siguientes condiciones para la fermentación:

Añadir 0,2 g de fosfato de amonio dibásico por litro de solución y ajustar el pH a 4.5 (rango recomendado de pH 4,5 - 5). Inocular el cultivo de levadura a la solución en una concentración del 5% en volumen respecto del volumen total a fermentar, cerrar herméticamente el recipiente para evitar el ingreso de aire y la salida de CO₂, mantener la temperatura constante a 30°C. Los recipientes de vidrio usados en los experimentos fueron matraces con tapón de jebe y botellas de vidrio (tipo damajuanas) con tapa rosca.

Se controló la concentración de azúcares reductores (sustrato) y la concentración de alcohol (producto) y cuando éstos se mantienen constantes se considera que la fermentación ha concluido.

El mosto fermentado se filtra para separar los sólidos y la masa microbiana. La solución alcohólica obtenida se conserva en refrigeración a 4 °C hasta el siguiente proceso.

3.3.4 Destilación

A fin de obtener un alcohol concentrado y libre de impurezas se realiza la destilación fraccionada de la solución fermentada usando un equipo de vidrio que consta de columna empacada, con condensador y válvula para controlar manualmente el reflujo.

Tener en cuenta que las primeras gotas no son consideradas parte del producto y deben descartarse, se van recogiendo destilados por intervalos de temperatura (de 5 °C) y se mide la concentración alcohólica usando el método del refractómetro de inmersión ABBE (sección 3.2.6) o el método del picnómetro (sección 3.2.7).

En la fotografía de la figura 3.9 se muestra el equipo utilizado para la destilación se encuentra en los ambientes del Laboratorio N° 21 de la Facultad de Ingeniería Química de la UNI.

En la fotografía de la Figura 3.10 se muestra el hervidor del sistema de destilación fraccionada.

En la fotografía de la Figura 3.11 se muestra el condensador del sistema de destilación fraccionada.

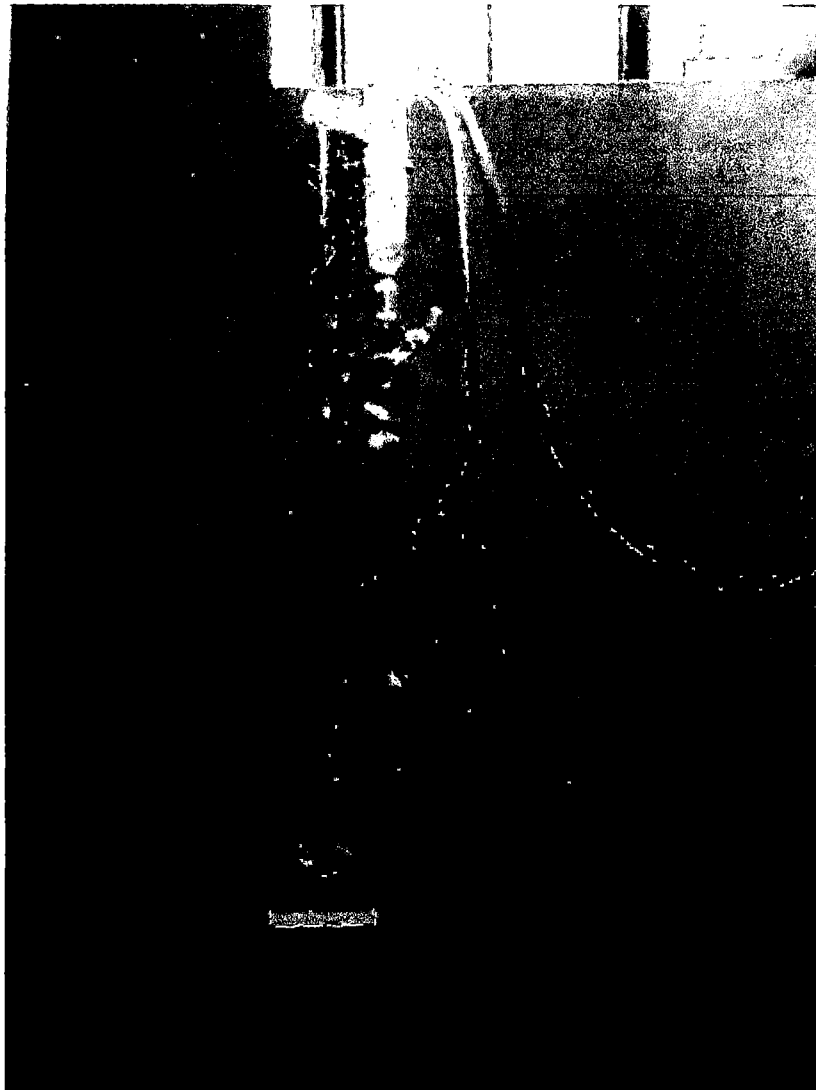


Figura 3.10. Sistema de destilación fraccionada para obtención del alcohol de camote

Fuente: Laboratorio N° 23. Archivo fotográfico de los tesis

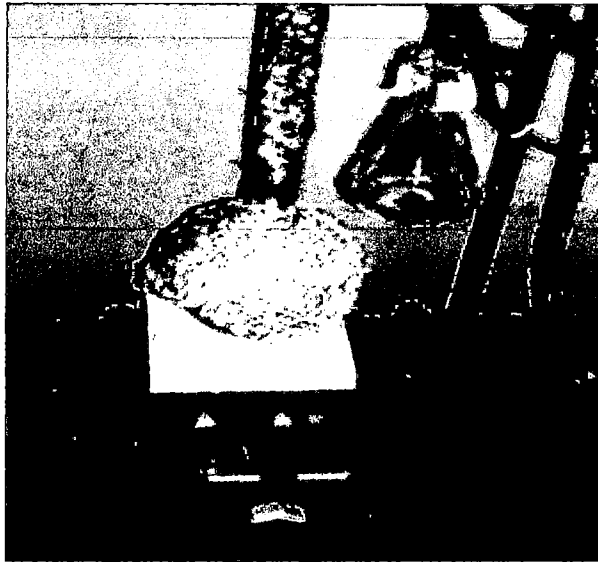


Figura 3.11. Hervidor del sistema de destilación fraccionada

Fuente: Archivo fotográfico de los tesisas

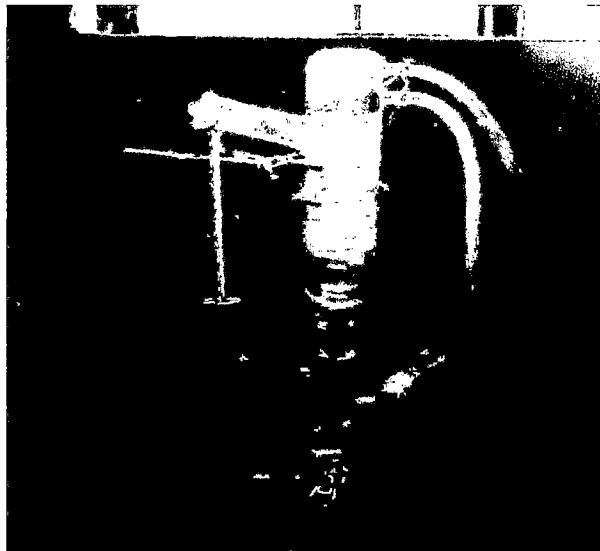
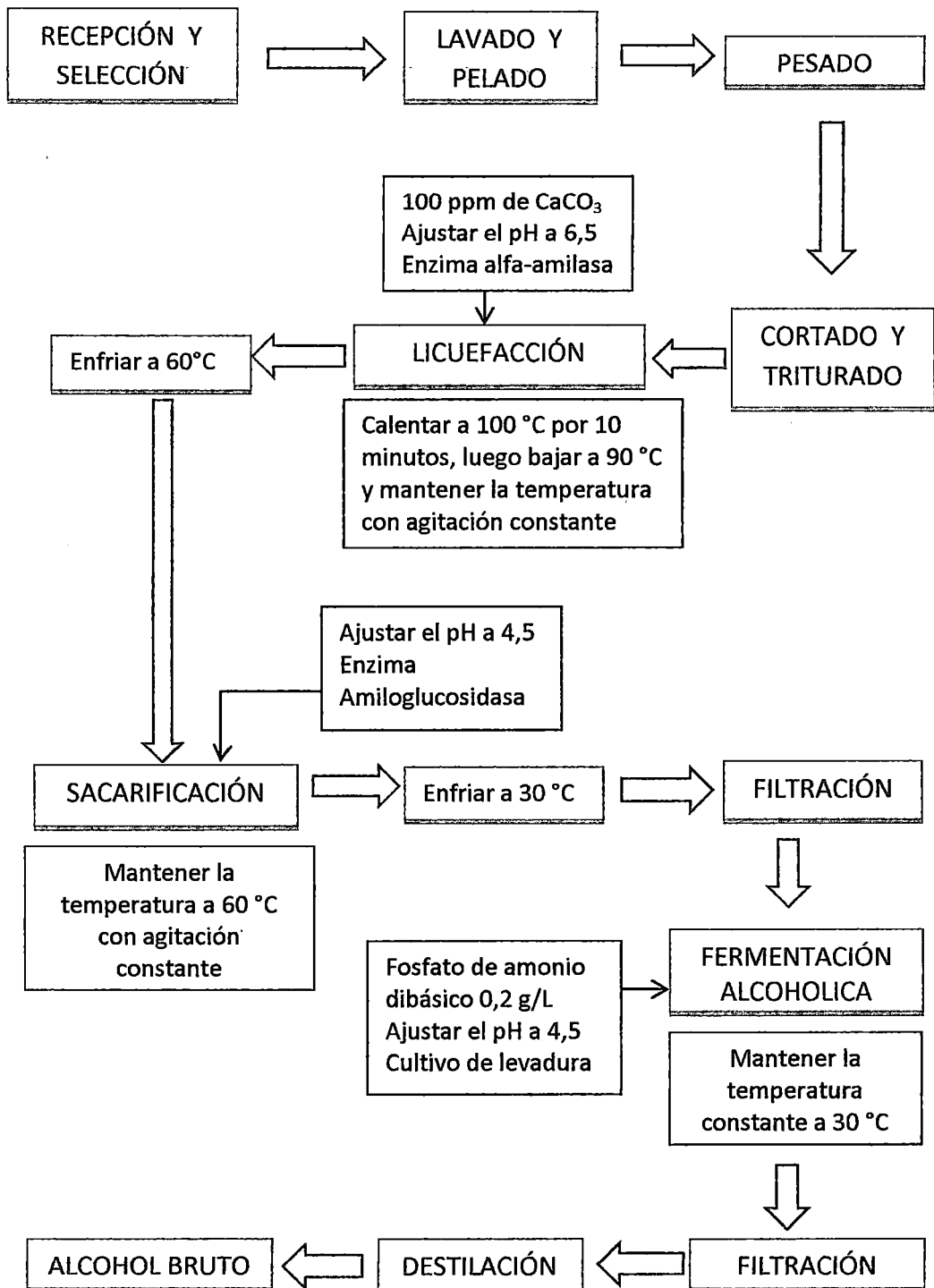


Figura 3.12. Condensador del sistema de destilación

Fuente: Archivo fotográfico de los tesisas

El diagrama de bloque para la obtención de alcohol etílico a partir del camote que se ha descrito en la sección 3.3 se muestra en la figura 3.12.

Figura 3.13. Diagrama de bloques para la obtención de etanol a partir del camote



3.4 Estudio de las operaciones involucradas en la obtención de etanol a partir del camote

Para medir como influyen los diversos factores o parámetros en el comportamiento de un proceso se efectúan ensayos previos donde se varió uno de los parámetros manteniendo fijos los demás, el avance del proceso se midió a través de controles de la concentración del producto utilizando los métodos analíticos descritos en la sección 3.2.

3.4.1 Estudio de Hidrólisis Enzimática

3.4.1.1 Factores que influyen la hidrólisis

Para establecer las condiciones del proceso de hidrólisis se realizó un estudio preliminar con el fin de determinar la concentración de enzima y concentración de sustrato óptimas para una mejor producción de azúcares reductores.

Las condiciones de pH y temperatura adecuadas para la operatividad de las enzimas están dadas por el fabricante y también se obtienen de estudios similares y de la revisión bibliográfica.

Los experimentos se realizaron en matraces Erlenmeyer de 300 mL de capacidad, donde se controló la concentración de azúcares formados durante la hidrólisis.

3.4.1.1.1 Influencia de la concentración de enzimas en la hidrólisis para la obtención de azúcares reductores

El estudio se realizó en 3 matraces, la concentración de la suspensión de camote se mantuvo fija a un valor de 33 % m/v y se realizó la licuefacción variando la concentración de alfa-amilasa en: 0,45; 2,0 y 5,0 mL/kg de camote y entre estos se determinó el mejor valor analizando la curva de formación de azúcares reductores.

Se preparó otra corrida con 3 matraces manteniendo fija la concentración de suspensión de camote al 33 % m/v y la concentración de α -amilasa óptima hallada según la corrida anterior, pero se prosiguió con la sacarificación variando la concentración de amiloglicosidasa: 0,35; 0,9 y 1,5 mL/kg de solución para determinar que valor arroja una mejor producción de azúcares.

3.4.1.1.2 Influencia de la concentración de sustrato en la hidrólisis para la obtención de azúcares reductores

Se mantuvieron fijos los parámetros de concentración de enzimas α -amilasa y amiloglicosidasa determinadas en los experimentos de la sección 3.4.1.1.1 Influencia de la concentración de enzimas en hidrólisis y se varió la concentración de la suspensión de camote: 25, 40 y 50 % m/v.

3.4.1.2 Estudio de la cinética de hidrólisis en un caso de estudio de licuefacción a baja temperatura y sacarificación a temperatura óptima

Para el estudio de la cinética de las reacciones de hidrólisis se preparó una suspensión 2,5 kg de camote con 1L de agua, se emplearon las concentraciones de enzimas para hidrólisis que se determinaron en la sección 3.4.1.1.1 Influencia de la concentración de enzimas en la hidrólisis para la obtención de glucosa y se procedió con la hidrólisis pero efectuando un cambio en la metodología del proceso descrito en la sección 3.3.2.1.

El cambio se realizó en la temperatura de licuefacción el cual se efectuó a 60 °C para ver el efecto de la disminución de la temperatura sobre el avance de la reacción, por conocimientos previos de cinética de reacción se tiene la hipótesis que a menor temperatura la velocidad de la reacción disminuirá con lo cual se tendrá un proceso más lento pero se quiere demostrar si se cumple dicha hipótesis y constatar cuanto tiempo dura la hidrólisis bajo esta condición.

Una vez que finalizó la licuefacción se prosiguió con la sacarificación pero en este proceso no se efectuó ningún cambio a la metodología 3.3.2.2.

3.4.2 Estudio del crecimiento de la levadura

El crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae* se realiza en matraces de 500 mL conteniendo 150 mL de caldo Sabouraud, al cual se le adicionó 5 pellets de *Saccharomyces cerevisiae*, manteniendo en cultivo en réplica con agitación, por un período de 24 h, el cual se empleó para determinar la biomasa. Los períodos de muestreo se realizaron en los tiempos: 0, 2, 4, 6, 8, 10 y 12 h.

3.4.2.1 Recuento de *Saccharomyces cerevisiae* por el método de Neubauer

Para saber el número de células de *Saccharomyces cerevisiae* en función al tiempo se realizó el recuento en una celda de Neubauer. La celda de Neubauer tiene divisiones siendo 25 cuadrículas en las que se realizó el recuento de organismos en los tiempos anteriormente señalados; pero este monitoreo se realiza para ir verificando los resultados que se obtienen en la determinación de la biomasa por que tiene mayor precisión.

3.4.2.2 Determinación de la biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* con el tiempo

La determinación de la biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* se realizó midiendo la turbidez del cultivo. Aunque dicha turbidez no es una medida directa del número de células, su incremento es una indicación del crecimiento.

Para estas determinaciones se utiliza un espectrofotómetro, en el cual la luz pasa a través del cultivo hasta alcanzar una célula fotoeléctrica conectada a un galvanómetro. A medida que la concentración celular aumenta, el cultivo se hace más turbio, y se reduce la cantidad de luz transmitida que alcanza la célula fotoeléctrica, como consecuencia de la difracción de la luz por parte de las células.

El cambio de luz se registra en el espectrofotómetro como porcentaje de transmisión (cantidad de luz transmitida) y absorbancia o densidad óptica, valor derivado del porcentaje de transmisión, correspondiente al logaritmo del cociente entre la intensidad de luz incidente sobre la suspensión (I_0) y la de la luz transmitida por la suspensión (I), expresada en la ecuación (2).

$$A = \log I_0/I. \dots\dots(2)$$

Cuando se inocula una pequeña población de *Saccharomyces cerevisiae* en un medio de cultivo líquido adecuado, el crecimiento no comienza inmediatamente, sino que hay un período de latencia. Una vez que empieza el crecimiento, se observa un incremento exponencial en la densidad celular, que corresponde a la fase exponencial de crecimiento. Esta fase es la más significativa en el ciclo de crecimiento de los microorganismos y se caracteriza porque los parámetros cinéticos del crecimiento (μ , q) se mantienen constantes. A medida que el crecimiento avanza, la concentración de los nutrientes esenciales disminuye, y se acumulan los productos finales del metabolismo, hasta que el crecimiento llega a detenerse, de modo que el cultivo entra en fase estacionaria.

Después las células lentamente se mueren, lisándose en algunos casos, en una última fase de muerte celular.

Las técnicas de Recuento de *Saccharomyces cerevisiae* por el método de Neubauer, y determinación de la biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* con el tiempo, se realizan en conjunto para complementar y verificar el resultado, definiendo las fases de crecimiento a diferentes tiempos de incubación.

3.4.3 Estudio de la fermentación

3.4.3.1 Factores que Influencian la fermentación

Como factor principal de estudio se analizó la influencia de la concentración de la suspensión de camote en la producción de alcohol, para lo cual se realizaron pruebas utilizando los matraces con concentración de suspensión al 20, 33, 40 y 50 % m/v que provienen del estudio de la

Influencia de la concentración de sustrato en la hidrólisis y se procedió luego con la fermentación, las muestras se introdujeron a una incubadora y se fijó la temperatura a 30 °C.

Otros factores que influyen en la fermentación analizados en el presente estudio son:

- Concentración de sustrato
- Concentración de etanol
- Concentración de nutrientes
- pH
- Temperatura

3.4.3.2 Fermentación por lote

El experimento por lote se realizó en botellas de vidrio de 3 L, se preparó una suspensión de camote al 50 % m/v el cual se hidrolizó según las condiciones óptimas determinadas en los experimentos a nivel laboratorio que están descritas en la sección 5.4.1.1 Factores que influyen la hidrólisis, después se fermentó dando a la solución el tratamiento descrito en la sección 3.3.3 Fermentación.

Este experimento se realizó con la finalidad de estudiar el avance de la fermentación en el tiempo controlando el consumo de azúcares y la producción de alcohol, también para determinar el rendimiento de fermentación.

3.4.4 Estudio de la destilación

La destilación se llevó a cabo en un equipo de destilación fraccionada que consta de una columna empacada y reflujo, con un balón de destilación de 1 L de capacidad. El grado alcohólico del destilado obtenido se determinó según la sección 3.2.6 (método del refractómetro de inmersión ABBE) y sección 3.2.7 (método del picnómetro).

La tabla del refractómetro de inmersión ABBE está construida para valores de concentración de alcohol de hasta 50 % en volumen, por lo cual los destilados de alto grado deben diluirse para ser utilizados en el refractómetro, ésto produce un ligero error en el valor final de la concentración alcohólica; por ello se utilizó como alternativa un método más confiable que es el método del picnómetro basado en la densidad de la mezcla alcohólica.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Materia prima

Se utilizaron raíces frescas de camote de la variedad de piel morada con pulpa naranja, se optó por usar esta variedad tras una investigación del contenido de carbohidratos de todas las variedades y porque se tiene fácil disponibilidad en el mercado.

Luego de recepcionar y seleccionar el camote, se envió una muestra al Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos de la Universidad Nacional Agraria La Molina para que realicen el respectivo análisis de la composición química. (Véase Apéndice 3.4 y el cuadro 4.1).

El resultado del análisis de la composición química de la variedad de camote usado en nuestra investigación arrojó un resultado similar a la composición química de diversas variedades de camote que fue reportado en la "Tabla peruana de composición de alimentos 2009" del Instituto Nacional de Salud. (Véase Apéndice 3.5)

Cuadro 4.1. Composición química de la variedad de camote usado en la investigación

Componentes	Porcentaje (%)
Humedad	70,05
Proteína	1,45
Grasa	0,31
Fibra cruda	0,98
Ceniza	1,07
ELN	26,14

Fuente: Laboratorio de Evaluación Nutricional de Alimentos de la Universidad Nacional Agraria La Molina

Donde ELN son los carbohidratos presentes en la muestra, se refiere a almidón, dextrinas y azúcares.

4.2 Estudio de la hidrólisis enzimática del camote

El proceso de hidrólisis realizado permitió transformar el almidón en azúcares reductores que es el sustrato necesario para el proceso de fermentación alcohólica, para que ocurra la hidrólisis se calentó la suspensión (mezcla de camote y agua), lo que provoca que los gránulos de almidón absorban agua y se hinchen, luego se solubilizan formando una suspensión viscosa, es decir, ocurre la gelatinización del almidón. Aprovechando la alta estabilidad térmica de la enzima α -amilasa (temperatura de operación de alrededor de 90 °C) se añadió ésta previamente a la suspensión antes de someterla a calentamiento para que actúe sobre el almidón gelatinizado y ocurra la licuefacción, luego se utilizó la enzima amiloglucosidasa que opera a temperatura bajas (temperatura de operación de alrededor de 60 °C) y ocurre la sacarificación.

En el presente capítulo, cada vez que se mencione efectuar los procesos de licuefacción y sacarificación se refiere a seguir la metodología descrita en la sección 3.3.2.1 y 3.3.2.2 respectivamente.

El control cuantitativo durante las etapas de licuefacción y sacarificación se realizó aplicando el método del refractómetro digital (véase sección 3.2.3.2) y se determinó el final de cada etapa al observar que ya no había aumento de azúcares reductores.

Cualitativamente también se siguió el curso de la hidrólisis y se determinó el fin de ésta mediante el indicador "lugol" el cual al no virar la coloración de la solución a púrpura indica la transformación total del almidón en azúcares reductores. (Véase sección 3.2.2)

4.2.1 Factores que influyen la hidrólisis

En el proceso de hidrólisis se estudió la influencia de la concentración de enzima y la concentración de sustrato, manteniendo fijo uno de los parámetros y variando el otro, con el propósito de determinar entre las variantes realizadas el valor adecuado que dé mejor producción de azúcares.

4.2.1.1 Influencia de la concentración de enzimas en la hidrólisis para la obtención de azúcares reductores

La hidrólisis consta de 2 sub-etapas: licuefacción y sacarificación, cada una de las cuales trabaja a condiciones diferentes tanto por el tipo de enzima a emplearse como por la temperatura de operación que conlleva cada enzima, por lo tanto, se planteó realizar este estudio por etapas:

4.2.1.1.1 Influencia de la concentración de enzima alfa-amilasa en la licuefacción

Para este estudio se utilizó suspensión de camote de 33% m/v y se efectuó la licuefacción variando la concentración de la enzima α -amilasa de la siguiente manera: 0,45; 2,0 y 5,25 mL/kg de camote y entre estos valores se determinó la concentración que produzca la mayor concentración de azúcares reductores.

Al efectuar el control se obtiene un valor inicial de concentración de azúcar en la suspensión cuyo valor es de 33 g/100 mL (valor experimental) antes de comenzar la hidrólisis, esto fue debido a los azúcares solubles presentes en el camote.

Condiciones de Operación:

- ✓ Concentración de sustrato: 33% (m/v)
- ✓ 100 ppm de CaCO_3 , pH = 6,5 y t = 90 °C
- ✓ Concentración de enzima α -amilasa variable: 0,45; 2,0 y 5,25 mL/kg de camote

Los resultados experimentales se muestran en el cuadro 4.2 y se grafican en la figura 4.1.

De las pruebas realizadas determinamos que la mejor concentración de enzima alfa-amilasa es de 2,0 mL/kg de camote ya que con este valor se alcanzó la máxima concentración de azúcares: 12,6 g/100 mL en un tiempo de licuefacción de 4 h. Después de dicho tiempo la producción de azúcares

reductores permanece constante, por lo tanto, en ese instante se debe dar por concluida la licuefacción y comenzar la sacarificación.

En la gráfica de la figura 4.1 se puede apreciar 3 etapas bien marcadas en la licuefacción, la primera es la etapa de latencia donde la enzima se adapta al medio sin efectuar la conversión a azúcares, en la segunda etapa se presenta una velocidad de conversión máxima y la tercera es la fase estacionaria de baja velocidad de conversión donde tiende a ser constante.

Cuadro 4.2. Influencia de la concentración de enzima alfa-amilasa en la licuefacción para la obtención de azúcares reductores al 33% (m/v) de concentración de sustrato.

Tiempo (h)	Concentración de α -amilasa (mL/kg camote)		
	0,45	2,0	5,25
	Concentración de azúcares % (m/v) (g/100 mL)		
0,0	3,3	3,3	3,3
0,5	3,3	3,3	3,3
1,0	3,3	3,3	3,3
1,5	6,8	7,6	9,8
2,0	8,7	10,6	11,0
3,0	10,5	12,2	11,5
3,5	11,3	12,5	11,7
4,0	11,4	12,6	11,9
5,0	11,4	12,6	11,9
6,0	11,4	12,6	11,9

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisas

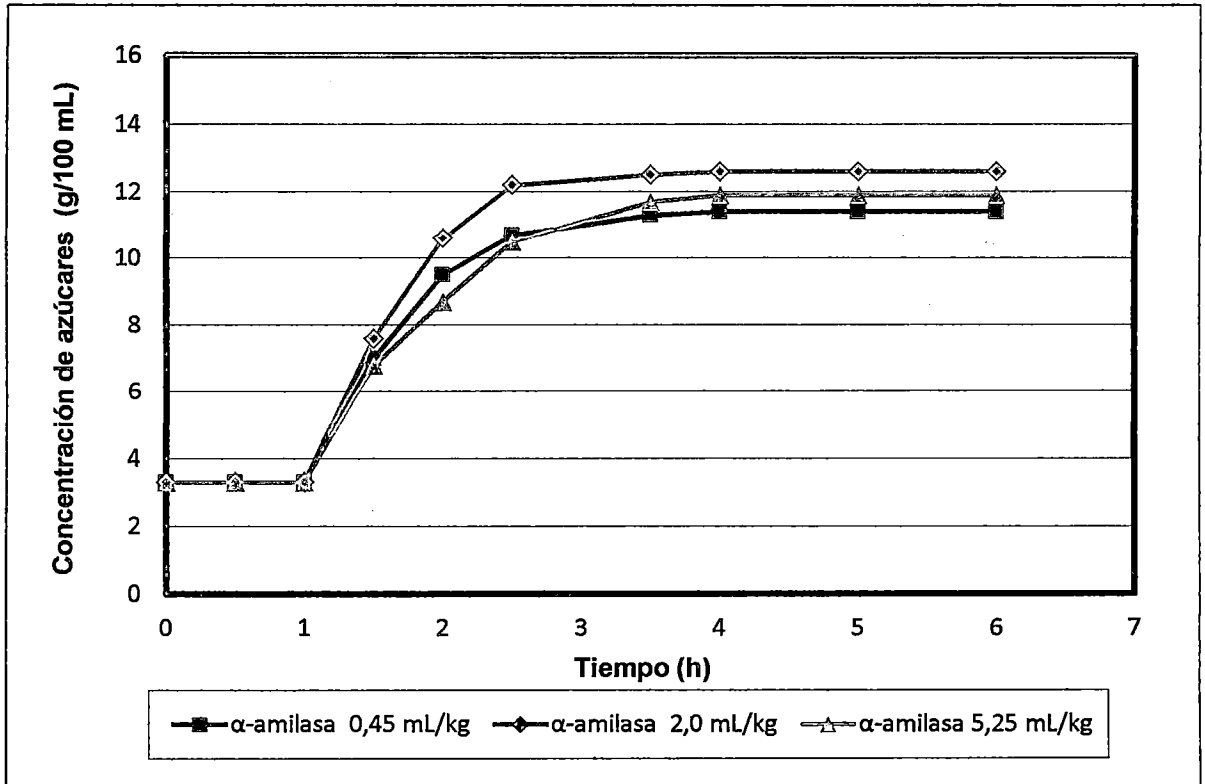


Figura 4.1. Influencia de la concentración de enzima alfa-amilasa en la licuefacción para la obtención de azúcares reductores a 33% (m/v) de concentración de sustrato.

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

De las curvas de formación de azúcares (figura 4.1) cuya concentración de alfa-amilasa es 0,45 y 2,0 mL/kg de camote se observa que a mayor concentración de enzima hay mayor grado de conversión a azúcares, por lo que se esperaría que a la concentración de alfa-amilasa de 5,25 mL/kg de camote se continúe con esa tendencia y se obtenga un grado de conversión más alto que en los dos casos anteriores, pero resulta que es menor, lo cual se debe a que se ha sobrepasado la saturación de enzima en el sustrato y ocurre una resíntesis de maltosa e isomaltosa a partir de la glucosa, dicha reacción es catalizada por los propios componentes de la enzima (4), un fundamento similar se muestra en [17] donde se sostiene que durante el proceso de hidrólisis pueden producirse reacciones de reversión.

4.2.1.1.2 Influencia de la concentración de enzima amiloglicosidasa en la sacarificación

Para el presente estudio se preparó una suspensión de camote de 33% m/v y se realizó la licuefacción con enzima α -amilasa en la mejor concentración determinada en la sección 4.2.1.1.1, se prosiguió con la sacarificación variando la concentración de enzima amiloglicosidasa a: 0,35; 0,9 y 1,5 mL/kg de solución hidrolizada para determinar mediante el análisis de las curvas de formación de azúcares aquella concentración de enzima que produzca mayor concentración de azúcares reductores.

Condiciones de Operación:

- ✓ Concentración de sustrato = 33% (m/v)
- ✓ Condición de operación de la licuefacción
 - 100 ppm de CaCO_3 , pH = 6.5, t = 90 °C, t = 4 h
 - Concentración de α -amilasa 2,0 mL/kg de camote
- ✓ Condición de operación de la sacarificación
 - pH = 4,5 y t = 60 °C
 - Concentración enzima amiloglicosidasa variable: 0,35; 0,9 y 1,5 mL/kg de solución hidrolizada

Los resultados experimentales se muestran en el cuadro 4.3 y se grafican en la figura 4.2.

De las pruebas realizadas determinamos que la mejor concentración de enzima amiloglicosidasa es de 0,9 mL/kg de hidrolizado ya que con este valor se obtuvo la máxima concentración de azúcares: 14,4 g/100 mL, este valor se obtuvo a las 8 h de hidrólisis y a partir de este instante permanece constante, tomando en cuenta que la sacarificación comenzó a las 4 h, se obtiene que el tiempo de sacarificación es de 4 h.

Cuadro 4.3. Influencia de la concentración de enzima amiloglucosidasa en la sacarificación para la obtención de azúcares reductores a 33% (w/v) de concentración de sustrato.

Licuefacción	Tiempo (h)	Concentración de α -amilasa 2,0 mL/kg		
		Concentración de azúcares % (m/v) (g/100 mL)		
	0,0	3,3	3,3	3,3
	0,5	3,3	3,3	3,3
	1,0	3,3	3,3	3,3
	1,5	7,0	7,6	7,4
	2,0	10,3	10,6	10,5
	2,5	11,8	12,2	12,3
	3,0	12,2	12,5	12,3
	4,0	12,4	12,7	12,6
Sacarificación	Tiempo (h)	Concentración de amiloglucosidasa (mL/kg)		
		0,35	0,9	1,5
	Concentración de azúcares % (m/v) (g/100 mL)			
	5,0	12,4	12,7	12,6
	6,0	12,4	12,7	12,6
	6,5	13,0	13,3	13,2
	7,0	13,7	14,0	13,9
	7,5	13,8	14,2	14,0
	8,0	13,8	14,4	14,2
	9,0	13,8	14,4	14,2
10,0	13,8	14,4	14,2	

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

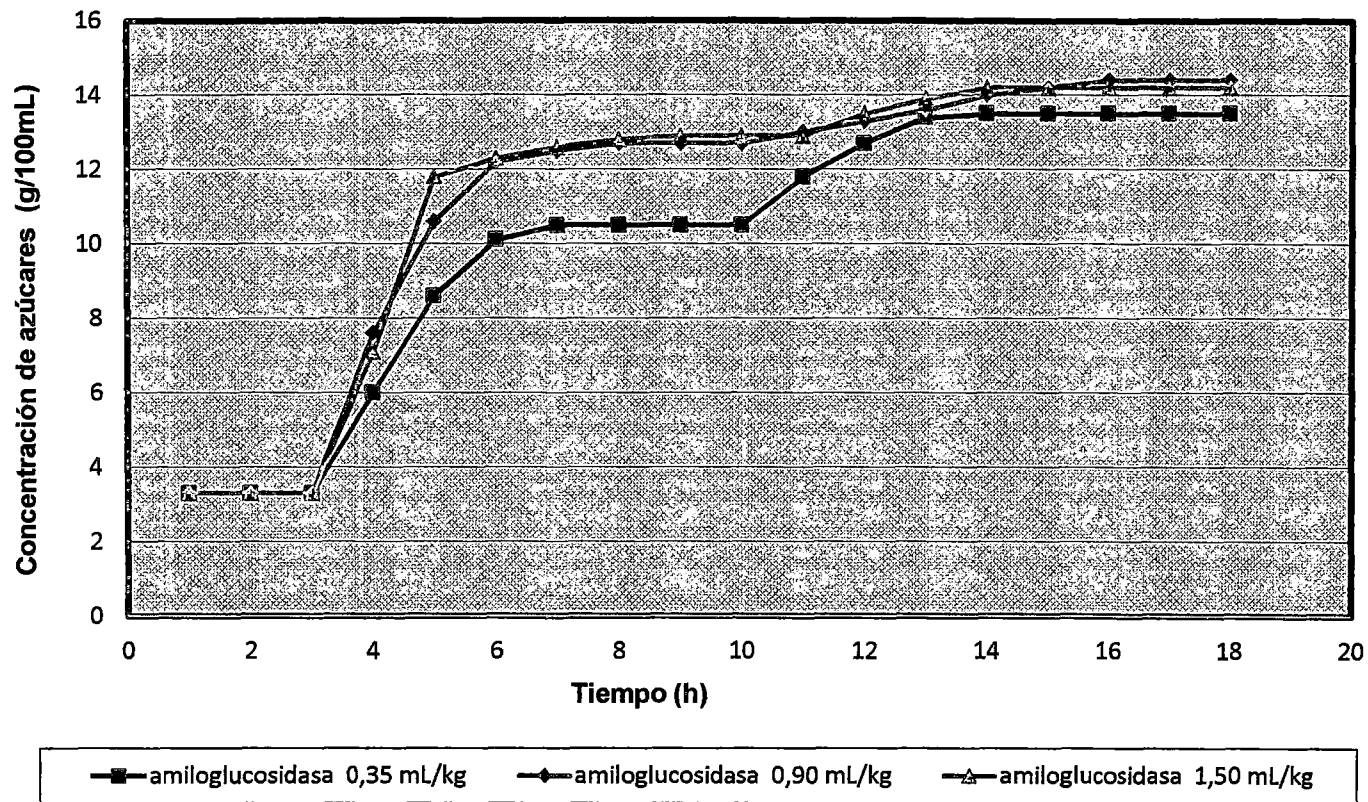


Figura 4.2. Influencia de la concentración de enzima en la sacarificación para la obtención de azúcares reductores a 33 % (m/v) de concentración de sustrato.

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

En la gráfica de la figura 4.2 en la región de sacarificación que comienza a las 4 h se puede apreciar 3 etapas bien marcadas, la primera es la etapa de latencia donde la enzima se adapta al medio sin efectuar la conversión a azúcares, en la segunda etapa hay una velocidad de conversión media (de menor pendiente que la segunda etapa en licuefacción) y la tercera etapa es la fase estacionaria que comienza con una baja velocidad de conversión que luego tiende a ser constante.

De las curvas de formación de azúcares (figura 4.2) de concentración de amiloglicosidasa 0,35 y 0,9 mL/kg de hidrolizado se observa que a mayor concentración de enzima hay mayor grado de conversión a azúcares, por lo que se esperaría que a la concentración de 1,5 mL/kg se tenga el más alto grado de conversión, sin embargo resulta que es muy similar a la curva de concentración de 0,9 mL/kg, esto podría ocurrir porque el medio se ha saturado de la enzima y un aumento adicional de esta última no produce más azúcares.

4.2.1.2 Influencia de la concentración de sustrato en la hidrólisis para la obtención de azúcares reductores

Para este estudio se realizaron experimentos con distintas concentraciones de sustrato: 25, 33, 40 y 50 % m/v, a los cuales se realizó la licuefacción y sacarificación manteniendo fijas la concentración de enzima α -amilasa y amiloglicosidasa (concentraciones recomendables determinadas en la sección 4.2.1.1), con el fin de determinar la concentración recomendable de sustrato que permita la mejor producción de azúcares.

Condiciones de Operación:

- ✓ Concentración de sustrato variable: 25, 33, 40 y 50 % m/v
- ✓ Condición de operación de la licuefacción
 - 100 ppm de CaCO_3 , pH = 6.5, t = 90 °C, t = 4 h
 - Concentración de enzima α -amilasa 2,0 mL/kg de camote
- ✓ Condición de operación de la sacarificación
 - pH = 4,5 y t = 60 °C

- Concentración enzima amiloglucosidasa 0,9 mL/kg de solución hidrolizada

Los resultados experimentales se muestran en el cuadro 4.4 y se grafican en la figura 4.3.

Cuadro 4.4. Influencia de la concentración de sustrato en la hidrólisis para la obtención de azúcares

	Tiempo (h)	Concentración de sustrato % (m/v) (g/100 mL)			
		25	33	40	50
		Concentración de azúcares % (m/v) (g/100 mL)			
Licuefacción con α -amilasa 2.0 mL/kg	0,0	3,3	3,3	3,4	4,1
	0,5	3,3	3,3	3,4	4,1
	1,0	3,3	3,3	3,4	4,1
	1,5	6,0	7,0	7,6	8,9
	2,0	8,0	10,0	10,6	13,6
	2,5	9,5	11,5	12,7	17,8
	3,0	9,7	12,5	14,7	20,0
	4,0	9,7	12,5	15,0	20,0
Sacarificación con amiloglucosidasa 0.9 mL/kg	5,0	9,7	12,5	15,0	20,0
	6,0	9,7	12,5	15,0	20,9
	7,0	11,2	13,1	16,0	23,0
	8,0	11,6	14,3	16,8	23,6
	9,0	11,6	14,3	16,8	23,6
	10,0	11,6	14,3	16,8	23,6

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisas

En la figura 4.3 se observa que la sacarificación termina a las 8 h, es decir, cuando se alcanza la máxima concentración de azúcares y tiende a ser constante; tomando en cuenta que se inició la sacarificación a las 4 h, entonces se obtiene que el tiempo de sacarificación es 4 h.

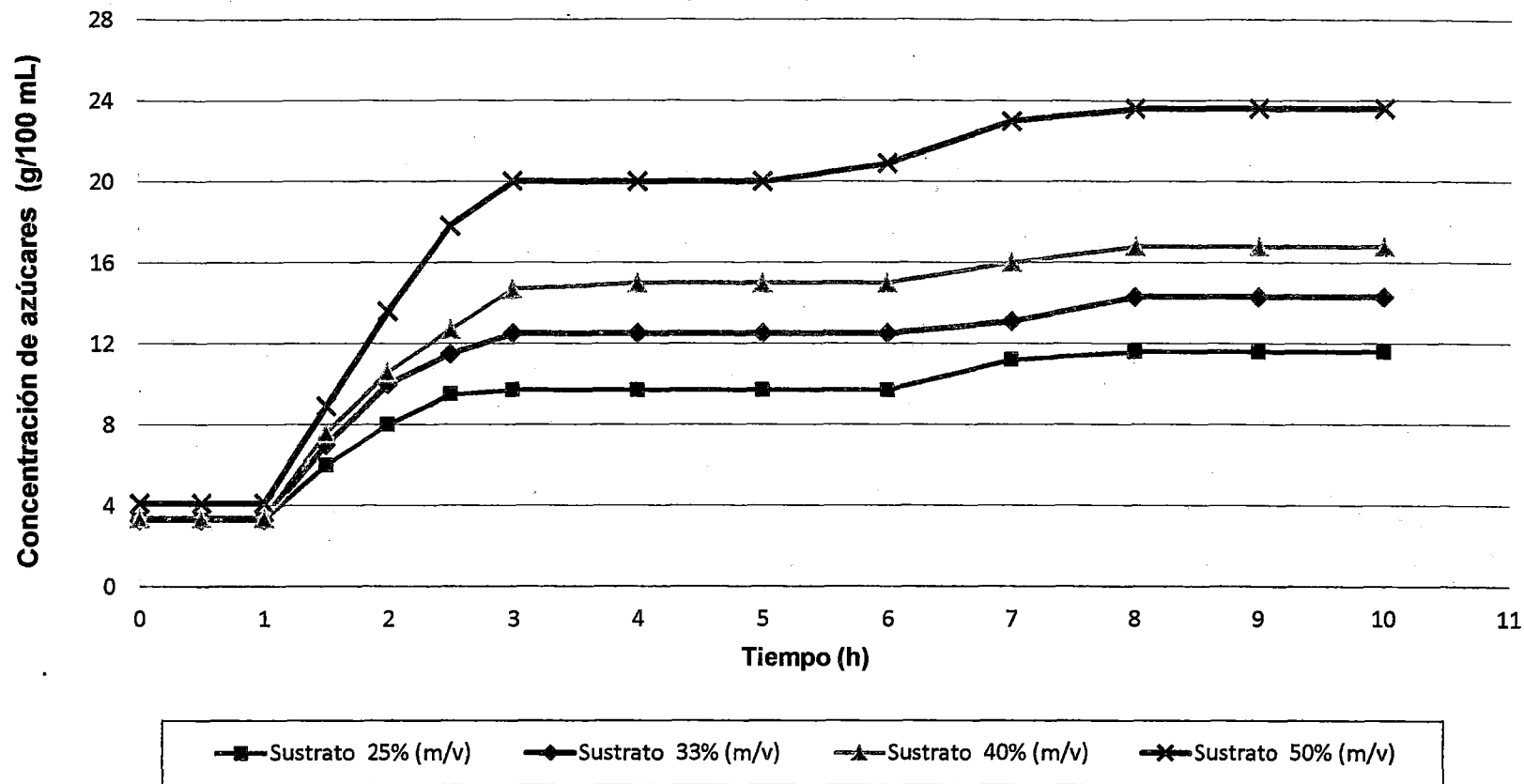


Figura 4.3. Influencia de la concentración de sustrato en la hidrólisis para la obtención de azúcares a concentraciones de enzimas fijas.

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

En la gráfica de la figura 4.3 observamos que a mayor concentración de sustrato se obtiene mayor concentración de azúcares, esto debido a que el almidón y azúcares libres se encuentran más concentrados, a la concentración de sustrato de 50 % (m/v) se logra obtener la máxima concentración de azúcares reductores: 23,6 g/100 mL.

La concentración óptima de sustrato no se obtiene con el valor más alto de concentración de azúcares formados sino que se determina con el porcentaje de conversión a azúcares.

Cálculo del porcentaje de conversión a azúcares reductores en la hidrólisis

Con los valores del cuadro 4.4 en la fase estacionaria de la sacarificación se obtiene la concentración de azúcares de la solución. Terminado el proceso de sacarificación se procede a filtrar toda la suspensión contenida en los matraces para separar los sólidos y obtener solamente solución agua-azúcar, luego se mide el volumen de la solución filtrada y también se tiene cuenta el peso del camote utilizado en la hidrólisis. Los datos experimentales antes mencionados se reportan en el cuadro 4.5.

Con los datos experimentales del cuadro 4.5 se efectúan los siguientes cálculos: la masa experimental y la masa teórica de azúcares reductores en la solución y con estos valores de masa se calculó el porcentaje de conversión a azúcares en la hidrólisis (las fórmulas usadas en los cálculos se muestran en el Apéndice 6.1). Los resultados obtenidos se reportan en el cuadro 4.6.

Cuadro 4.5. Datos experimentales de la hidrólisis con variación en la concentración de sustrato

Concentración de suspensión de camote % (g/100 mL)	Peso de camote utilizado (g)	Concentración de azúcares en la solución (g/100 mL)	Volumen de la solución filtrada (mL)
25	80	11,6	125,12
33	80	14,3	116,43
40	80	16,8	101,40
50	80	23,6	80,00

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

Cuadro 4.6. Determinación del porcentaje de conversión a azúcares en la hidrólisis con variación en la concentración de sustrato

Concentración de suspensión de camote % (g/100mL)	Peso experimental de azúcares (g)	Peso teórico de azúcares (g)	Porcentaje de conversión a azúcares en la hidrólisis (%)
25	14,51	20,91	69,41
33	16,65	20,91	79,63
40	17,24	20,91	82,44
50	18,88	20,91	90,30

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

De los resultados reportados en el cuadro 4.6 se demuestra que a la concentración de sustrato de 50 % (m/v) se obtuvo la máxima conversión a azúcares 90,3 %.

4.2.2 Estudio de la hidrólisis en el caso de licuefacción a baja temperatura y sacarificación a temperatura óptima

Para este estudio se utilizó una suspensión de camote al 71,4 % (m/v), se realizó la licuefacción a la temperatura de 60 °C (temperatura menor que la óptima recomendada por el fabricante que es 90 °C) para analizar como influye la baja temperatura en la velocidad de reacción y una vez que se llegó a tener la concentración de azúcares constante se dio por finalizada la licuefacción y se prosiguió con la sacarificación (a la temperatura óptima recomendada por el fabricante que es 60 °C), las concentraciones de las enzimas que se usaron para ambas etapas son las concentraciones que producen la máxima concentración de azúcares, las cuales se determinaron en la sección 4.2.1.1.

Condiciones de Operación:

- ✓ Concentración de sustrato: 71,4 % (m/v)
- ✓ Condición de operación de la licuefacción
 - 100 ppm de CaCO₃, pH = 6,5 t = 60 °C
 - Concentración de enzima alfa-amilasa 2,0 mL/kg de camote

- ✓ Condición de operación de la sacarificación
 - pH = 4,5 y t = 60 °C
 - Concentración de enzima amiloglucosidasa 0,9 mL/kg de solución hidrolizada

Los resultados obtenidos se presentan en el cuadro 4.7 y se grafican en la figura 4.4.

El tiempo de licuefacción a la temperatura de 60 °C es en promedio 27 h, al compararlo con los resultados obtenidos en la sección 4.2.1.2 en la cual la licuefacción fue realizada a 90 °C en un tiempo de 4 h, se puede deducir que a menor temperatura de licuefacción hay mayor viscosidad de la solución lo que ocasiona que el ataque enzimático resulte muy lento, esto coincide con lo expuesto por Thénard [4] quien demostró mediante pruebas experimentales que en soluciones más viscosas la velocidad de hidrólisis resulta menor; en conclusión, a menor temperatura de hidrólisis menor velocidad de formación de azúcares reductores y el tiempo se retarda.

Con este experimento se comprobó que la temperatura de trabajo de la enzima α -amilasa de *Bacillus licheniformis* no se debe variar de 90°C porque es la temperatura óptima recomendada por el fabricante, por ser una enzima termoestable fabricada para trabajar a altas temperaturas y que presenta ventajas como la eliminación de riesgos de contaminación por microorganismos y disminución de la viscosidad del medio. [17]

En esta prueba experimental se utilizó 742,8 g de camote a la temperatura de 60 °C y el tiempo de sacarificación fue de 5 h, comparando este valor con los resultados obtenidos en la sección 4.2.1.2 en el cual se utilizó como materia prima 80 g de camote a una temperatura de sacarificación de 60 °C se obtuvo un tiempo de sacarificación de 4 h, por lo cual se deduce que el tiempo de 5 h se debe a que se utilizó mayor cantidad de materia prima en la cual hay más cantidad de almidón para convertir a azúcares, sin embargo, el tiempo de sacarificación en ambos casos fue similar ya que la temperatura de operación fue la misma.

Cuadro 4.7. Resultados experimentales de la hidrólisis de una suspensión de camote al 71,4 % (m/v) con licuefacción a baja temperatura y sacarificación a temperatura óptima.

	Licuefacción														Sacarificación					
Tiempo (h)	0	2	4	6	10	12	14	16	20	24	27	28	29	30	31	32	34	35	36	37
Concentración de azúcares (g/100 mL)	5	5	5	5,8	8	10	12	13,7	15	16,3	17,2	17,2	17,2	17,2	19,1	21	22,3	23,6	23,6	23,6

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

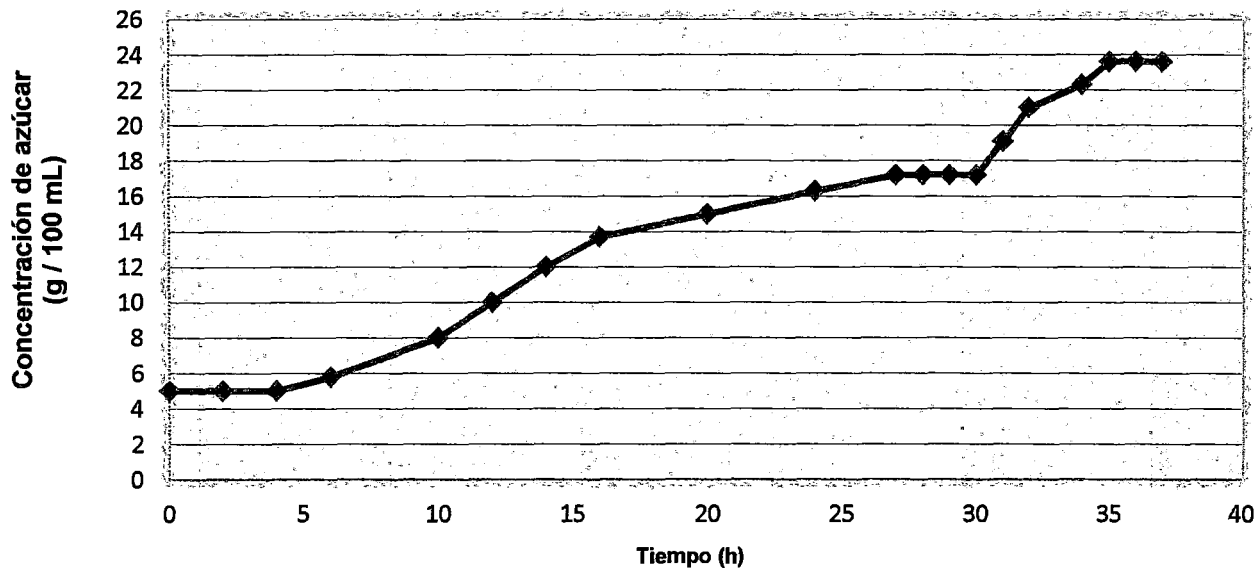


Figura 4.4. Cinética de hidrólisis de una suspensión de camote al 71,4 % con licuefacción a baja temperatura y sacarificación a temperatura óptima.

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

4.2.2.1 Modelo matemático de la cinética de hidrólisis para el caso de licuefacción a baja temperatura y sacarificación a temperatura óptima

4.2.2.1.1 Modelo matemático de la cinética de licuefacción a baja temperatura

En la figura 4.4 se observa que la curva de licuefacción para una suspensión de camote al 71,4 % (m/v) a la temperatura de 60 °C usando α -amilasa en la concentración de 2,0 mL/kg de camote presenta un comportamiento cinético de producción de azúcares reductores que se puede ajustar a la ecuación (3):

$$y = \frac{a}{(1 + e^{b-cx})^{1/d}} \quad \dots\dots\dots(3)$$

Donde:

y = concentración de azúcares reductores (g/100 mL)

x = tiempo en horas

Los valores de los coeficientes del modelo a considerar son los siguientes:

a = 17,267

b = 5,880

c = 0,322

d = 4,058

Según el gráfico de la figura 4.4 en la región de licuefacción se observa que en el tiempo de 30 h se tiene la máxima concentración de azúcares reductores en la licuefacción, tabulando desde 0 a 30 h según el modelo cinético se completa el cuadro 4.8 y se presenta su correspondiente gráfico en la figura 4.5.

Cuadro 4.8. Concentración de azúcares vs. tiempo según modelo cinético de licuefacción a baja temperatura.

Tiempo (h)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20	22	24	26	28	30
Concentración de azúcares (g/100 mL)	4,052	4,746	5,555	6,496	7,582	8,817	10,188	11,646	13,096	14,403	15,448	16,186	16,656	16,932	17,087	17,171

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisas

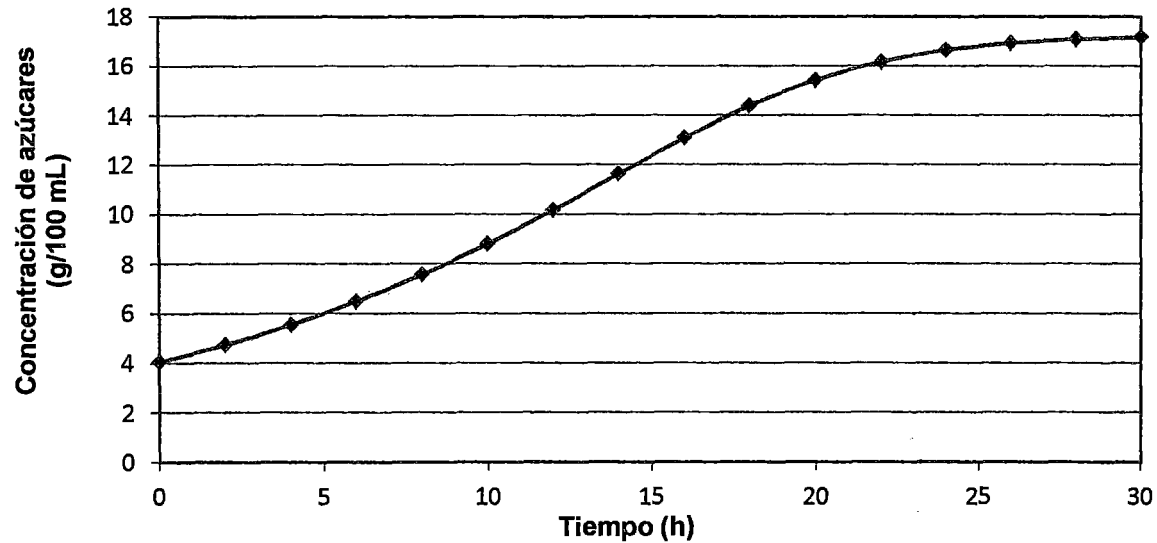


Figura 4.5. Concentración de azúcares vs. tiempo según modelo cinético de licuefacción a baja temperatura

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisas

4.2.2.1.2 Modelo matemático de la cinética de sacarificación a temperatura óptima

Similarmente a la sección anterior se puede observar en la figura 4.4 que la curva de sacarificación para una suspensión de camote al 71,4 % (m/v) a temperatura óptima de 60 °C usando amiloglucosidasa en la concentración de 0,9 mL/kg de solución hidrolizada presenta un comportamiento cinético de producción de azúcares reductores que se puede ajustar a la siguiente ecuación (4):

$$y = ae^{-e^{b-cx}} \dots\dots\dots(4)$$

Donde:

y = concentración de azúcares reductores (g/100 mL)

x = tiempo en horas

Los valores de los coeficientes del modelo son los siguientes:

a = 25,574

b = -0,779

c = 0,250

En el gráfico de la figura 4.4 se observa que a las 27 h se obtiene la concentración inicial de azúcares para la etapa de sacarificación y llega a su máximo 5 h después, por lo tanto para fines de graficar la cinética de sacarificación se tabuló desde 0 a 20 h según el modelo cinético correspondiente, con estos datos tabulados se completa el cuadro 4.9 y se presenta su correspondiente gráfico en la figura 4.6.

Cuadro 4.9. Concentración de azúcares vs. tiempo según modelo cinético de sacarificación a temperatura óptima

Tiempo (h)	0	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
Concentración de azúcares (g/100 mL)	16,163	19,361	21,602	23,085	24,034	24,629	24,996	25,222	25,360	25,444	25,495

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

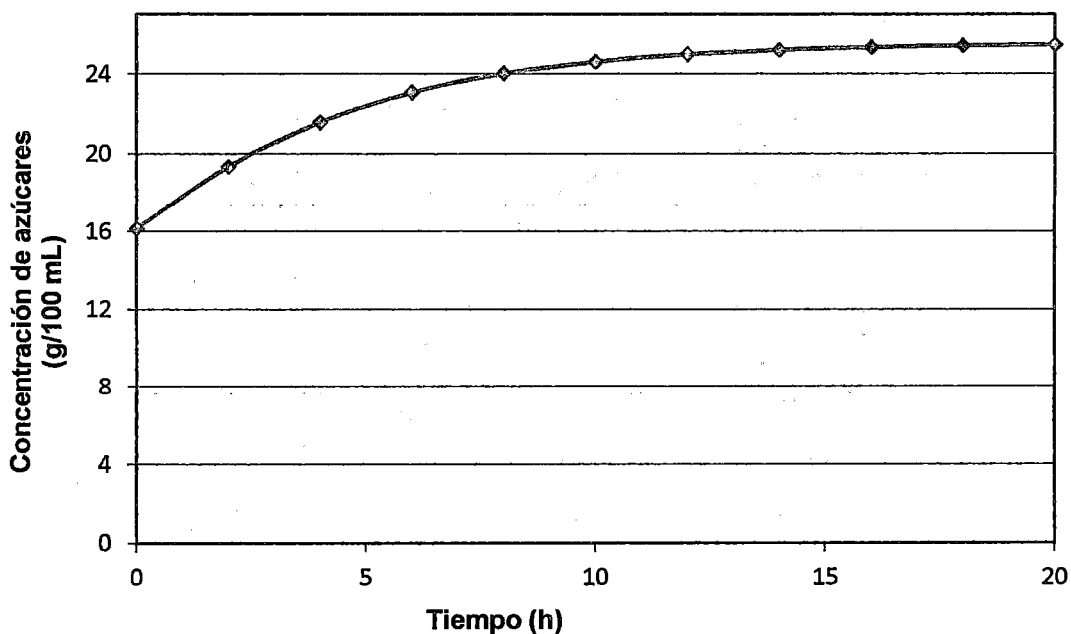


Figura 4.6. Concentración de azúcares vs. tiempo según modelo cinético de sacarificación a temperatura óptima

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

4.3 Estudio del crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Para esta etapa del estudio se analizó un cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* con el fin de ver el comportamiento de la concentración de la levadura en función del tiempo y determinar sus respectivos parámetros cinéticos.

4.3.1 Curva de crecimiento de la levadura

Se tomaron lecturas de la absorbancia del cultivo y utilizando la curva de correlación determinada en la sección 3.2.9 se obtuvo la concentración de la levadura en g/L, estos resultados experimentales se muestran en el cuadro 4.10 y se grafican en la figura 4.7.

Cuadro 4.10. Lecturas de absorbancia y concentración de levadura en función del tiempo

Tiempo (h)	0	2	4	6	8	10	12
Absorbancia a 600 nm	1,195	1,340	1,865	2,295	2,565	2,625	2,795
Concentración de levadura (g/L)	3,9228265	4,398818	6,1222355	7,5337965	8,4201255	8,6170875	9,1751465

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisas

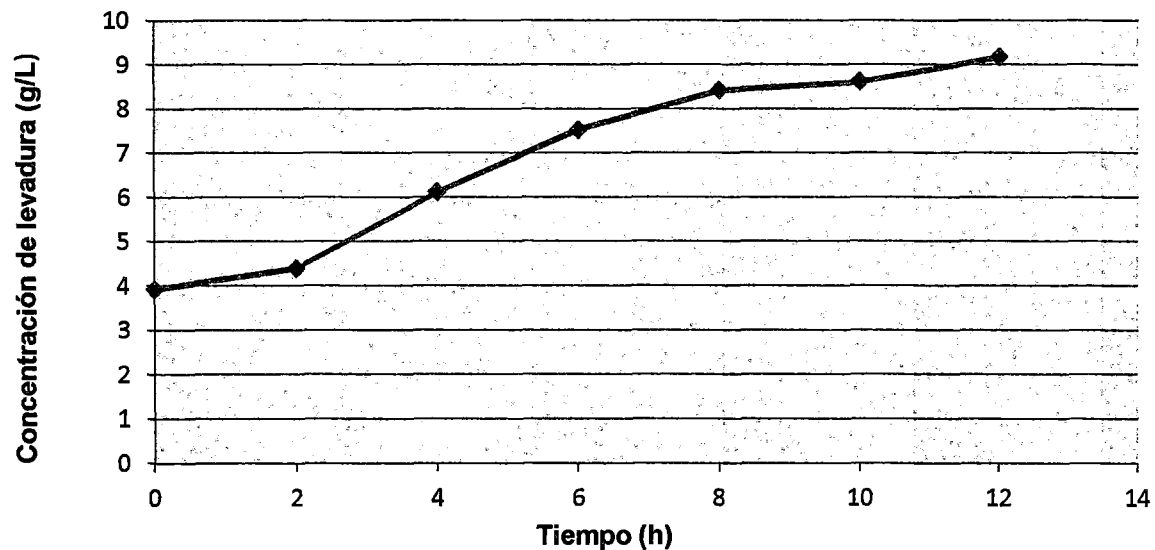


Figura 4.7. Curva de crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisas

4.3.2 Modelo matemático del crecimiento de la levadura

El crecimiento de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* presenta un modelo sigmoideo que corresponde a la siguiente ecuación (5):

$$y = \frac{ab + cx^d}{b + x^d} \dots \dots \dots (5)$$

Donde:

y = concentración de la levadura (g/L)

x = tiempo (h)

Se hallaron los coeficientes del modelo matemático que representa a la concentración de levadura en función del tiempo

a = 0,780

b = 56,691

c = 1,903

d = 2,594

Utilizando el modelo matemático se determinaron los valores de concentración de levadura (en g/L) y a partir de estos se obtiene la concentración de células de levadura (UFC/mL).

Donde:

UFC = unidad formadora de colonia o célula aislada

UFC/mL = concentración de la levadura expresado en concentración celular

Los resultados obtenidos se muestran en el cuadro 4.11 y se grafican en la figura 4.8.

Cuadro 4.11. Concentración de levadura según modelo matemático y concentración celular de levadura en función del tiempo.

Tiempo (h)	Concentración de levadura (g/L)	Concentración de células (10^6 UFC/mL)
0	3,89916	0,008140
2	4,43950	0,097443
4	6,09608	0,980959
6	7,53679	1,603712
8	8,36335	1,779591
10	8,80507	1,873582
12	9,05008	1,925716

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisas

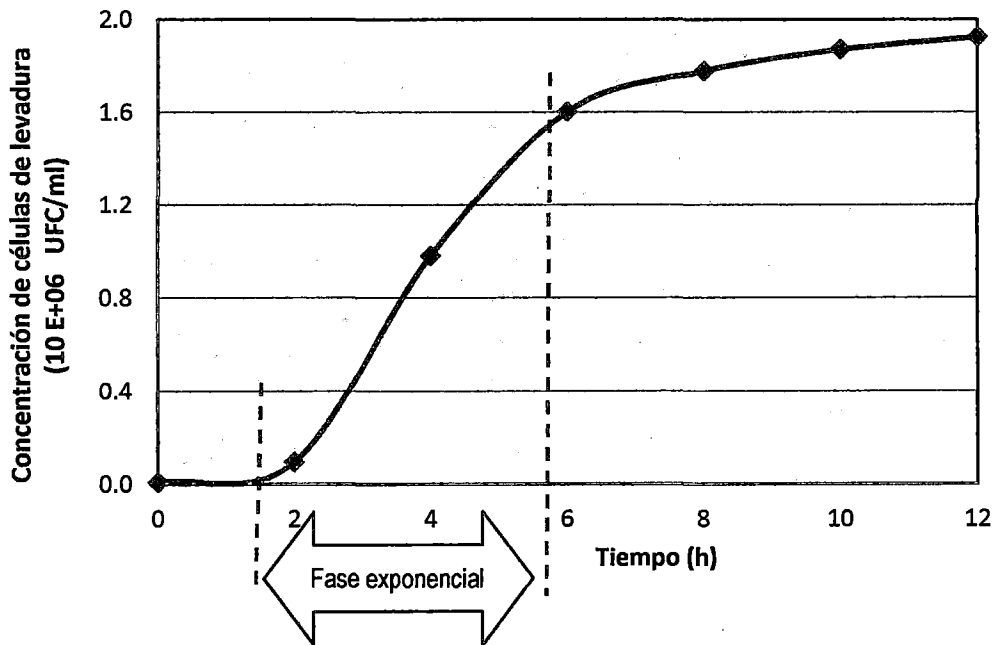


Figura 4.8. Curva de crecimiento celular de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisas

En la gráfica de la figura 4.8 se observa las siguientes fases de crecimiento celular: la fase Lag o de adaptación al medio dura aproximadamente 2 h, luego de lo cual se inicia una fase de aceleración del crecimiento de células de levadura o fase exponencial y termina a las 6 h del cultivo, luego sigue la fase donde la velocidad de crecimiento disminuye hasta las 12 h y a partir de ahí se tiene la fase estacionaria.

4.3.3 Ecuación cinética del crecimiento celular en la fase exponencial

La velocidad con que aumenta la población bacteriana depende la concentración celular y se expresa según:

$$\frac{dx}{dt} = \mu x \dots\dots\dots(6)$$

Donde:

x = concentración celular de la levadura en un tiempo t (UFC/mL)

t = tiempo (h)

μ = velocidad específica de crecimiento celular (h^{-1})

En la fase exponencial en donde la velocidad específica de crecimiento es constante se puede integrar la ecuación y obtener la expresión:

$$\ln\left(\frac{x}{x_0}\right) = \mu t \quad \text{o bien} \quad x = x_0 e^{\mu t} \dots\dots(7)$$

Si t_d el tiempo de duplicación, entonces el tiempo entre 2 duplicaciones sucesivas esta dado por la expresión:

$$t_d = \frac{\ln(2)}{\mu} \dots\dots\dots(8)$$

Remplazando la expresión (7) en la expresión (8) se obtiene la siguiente expresión:

$$t_d = \frac{\ln(2) t}{\ln\left(\frac{x}{x_0}\right)} \dots\dots(9)$$

En la figura 4.8 determinaron gráficamente los límites de la fase exponencial, inicia a las 2 h y termina a las 6 h, el cuadro 4.11 se obtiene su correspondiente valor de concentración celular de levadura para cada tiempo y reemplazando los valores en las fórmulas de los parámetros cinéticos, se determina:

- El tiempo de duplicación (t_d)

$$t_d = \frac{\ln(2) t}{\ln\left(\frac{x}{x_0}\right)} = \frac{\ln(2) * 4}{\ln\left(\frac{1,604}{0,097}\right)} = 0,9899 h \dots\dots(10)$$

- La velocidad de crecimiento específico (μ)

$$\mu = \frac{\ln(2)}{t_d} = \frac{\ln(2)}{0,9899} = 0,7 h^{-1} \dots\dots\dots(11)$$

- La ecuación cinética del crecimiento celular de la levadura en la fase exponencial:

$$x = x_0 e^{\mu t} \dots\dots\dots(12)$$

$$x = 0,097443 E + 06 e^{0,7 t} \left(\frac{UFC}{mL}\right) \dots\dots\dots (13)$$

4.4 Estudio de la fermentación

Se realizó el proceso de fermentación alcohólica con el fin de transformar los azúcares reductores a alcohol para lo cual se añadió levadura, previamente se preparó un cultivo de levadura (véase sección 3.2.1) con 2 días de anticipación en un medio aerobio para que se reproduzca consumiendo los azúcares y nutrientes, luego se inoculó el cultivo en un medio anaerobio para que la levadura realice su metabolismo disociando a

los azúcares y produciendo alcohol, dióxido de carbono y energía, es decir, para que ocurra la fermentación.

En el presente capítulo cada vez que se mencione efectuar el proceso de fermentación se refiere a seguir la metodología descrita en la sección 3.3.3.

Se controló la concentración de azúcares que se van consumiendo aplicando el método de la sección 3.2.3 y se controló la concentración de alcohol que se va produciendo aplicando el método de la sección 3.2.4.

4.4.1 Factores que influyen en la fermentación

4.4.1.1 Influencia de la concentración de suspensión de camote en la fermentación

Se realizaron pruebas en matraces de 300 mL para estudiar la influencia de la concentración de suspensión de camote en la fermentación para la producción de alcohol etílico variando la concentración de suspensión en 25, 33, 40 y 50 % (m/v).

Los resultados experimentales obtenidos se muestran en el cuadro 4.12

Cuadro 4.12. Datos experimentales de la fermentación en matraces con variación en la concentración de suspensión de camote.

Concentración de suspensión de camote % (g/100 mL)	Tiempo de fermentación (h)	Concentración de azúcares en la solución filtrada (g/100 mL)		Volumen de solución filtrada (mL)	
		Inicio	Final	Inicio	Final
25	28	11,6	3,0	170	125
33	28	14,3	3,6	132	87
40	28	17,0	3,9	94	49
50	28	23,6	5,1	83	38

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

El proceso de fermentación se dio en un tiempo corto de 28 h; es decir, la velocidad de fermentación fue alta, esto puede ser posible por las siguientes causas: que se utilizó sobre el mosto azucarado suficiente cantidad de inóculo de levadura *Saccharomyces cerevisiae* en un volumen de 5% respecto al volumen total de la solución a fermentar y también porque se utilizó la incubadora Thermolyne, la cual aseguró que la temperatura de operación óptima de 30 °C permanezca constante a lo largo de la fermentación.

Además la botella de vidrio no fue destapada hasta el final de la fermentación con lo que se evitó la contaminación de las levaduras por el aire, lo cual afectaría la actividad de la levadura.

Cálculo del porcentaje de consumo de azúcares reductores en la fermentación

Con los datos experimentales del cuadro 4.12 se realizaron los siguientes cálculos: la masa experimental de azúcares al inicio y al final de la fermentación, la masa de azúcares consumidos en la fermentación y con estos valores se calcula el porcentaje de conversión de azúcares en la fermentación (las fórmulas usadas en los cálculos se muestran en el Apéndice 6.1). Los resultados obtenidos se reportan en el cuadro 4.13.

Cuadro 4.13. Determinación del porcentaje de consumo de azúcares en la fermentación con variación en la concentración de suspensión de camote.

Concentración de suspensión de camote % (g/100 mL)	Peso experimental de azúcares reductores en la solución (g)		Azúcares consumidos (g)	Consumo de azúcares reductores en la fermentación (%)
	Inicio	Final		
25	19,6	3,8	15,8	80,8
33	18,9	3,1	15,8	83,4
40	15,8	1,9	13,9	87,9
50	19,9	1,9	18,0	90,3

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisas

De los resultados obtenidos en el cuadro 4.13, se demuestra que utilizando una concentración de suspensión de camote del 50% m/v se obtiene el mayor porcentaje de consumo de azúcares, cuyo valor es de 90,3 %, la cual se transforma en alcohol etílico, por ello se usó dicha concentración de suspensión de camote para las demás pruebas de fermentación tanto porque aprovecha la mayor cantidad de azúcares como también porque implica menor consumo de agua.

4.4.1.2 Influencia de los parámetros de operación en la fermentación

Se consideró los siguientes parámetros con el fin de obtener altos rendimientos en la fermentación alcohólica.

4.4.1.2.1 Concentración de nutrientes: Se ha señalado que las sales son necesarias para el desarrollo de las levaduras y suelen encontrarse en pocas cantidades en los mostos, por lo cual se recomienda la adición de estas sustancias, como por ejemplo, el fosfato de amonio que es un material enológico oficialmente permitido por la Organization International du Vin, con un máximo permitido de 96 g por 100 L, en el estudio realizado por [35] se adicionó 20 gr por 100 L de fosfato de amonio dibásico lo que resultó en un acortamiento del tiempo de la fermentación tumultuosa, con intenso desprendimiento de gas carbónico. Siguiendo esta recomendación en los experimentos realizados se añadió 0,2 g/L de dihidrógeno fosfato de amonio $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ y se obtuvo un corto tiempo de fermentación de 60 horas.

4.4.1.2.2 Concentración azúcares (sustrato): La concentración de azúcar afecta el comportamiento y desarrollo de la levadura y por ende a la velocidad de fermentación, una concentración recomendable está en el rango de 10 a 18%. Concentraciones muy altas generan deficiencia respiratoria a la levadura y un descenso en la velocidad de fermentación; por el contrario, al trabajar con concentraciones muy bajas, el proceso resulta antieconómico ya que requiere un mayor volumen para la fermentación [29], en el presente caso se fermentó mostos con concentraciones de azúcar que van del orden de 14 a 25 %, la concentración alta de azúcar solo provoca que la fermentación se

torne más lenta, pero mejora la producción de alcohol. En todos los casos a partir de 28 h de fermentación se mantuvo constante los azúcares reductores, lo cual indica que el proceso fue rápido.

4.4.1.2.3 Concentración de etanol: El crecimiento de la levadura es influenciada por la concentración de etanol, cuando la concentración es alta el crecimiento de algunas levaduras sufren la paralización total, según datos bibliográficos la *Saccharomyces cerevisiae* pueden llegar a soportar hasta el 20 % de concentración en volumen [9], esto lo hemos comprobado con los resultados experimentales que se han obtenido donde dicha levadura presentó una tolerancia alta al etanol ya que se llegó a obtener una concentración de hasta 14,42 % en volumen de éste.

4.4.1.2.4 pH: El pH es importante porque permite controlar la contaminación bacteriana que afecta el crecimiento de las levaduras y en consecuencia afectaría la velocidad de fermentación y la formación de alcohol, en la fermentación el pH va disminuyendo (cuanto más bajo el pH del medio, tanto menor el peligro de infección) pero se debe evitar un pH muy bajo porque la fermentación se tornaría muy lenta, según bibliografía. El pH favorable para el crecimiento de las levaduras en general se encuentra en el rango de 3,5 – 5,5 (9), para la levadura *Saccharomyces cerevisiae* el pH para su crecimiento óptimo es de 4,5 [29]. Por esta razón se trabajó en los experimentos a un pH inicial de 4,5 el cual se controló durante la fermentación llegando a un valor final promedio de 4,1 lo cual está dentro del rango y no se tuvo la necesidad de añadir NaOH para ajustar el pH.

4.4.1.2.5 Temperatura: Las levaduras a medida que se alejan de la temperatura óptima disminuyen su actividad notablemente, por debajo de la temperatura señalada como mínima y por encima de la máxima, las levaduras continúan viviendo en estado latente. Sin embargo, al exponer cualquier levadura a una temperatura de 55 °C por un tiempo de 5 min se produce su muerte. En el caso de la *Saccharomyces cerevisiae* se tiene un desarrollo óptimo entre 28 – 35 °C, recomendable 30 °C [29], siguiendo estas recomendaciones la fermentación se realizó a nivel de laboratorio en matraces fijando una temperatura constante de 30 °C dentro de una

incubadora marca Thermolyne, en tanto que la fermentación por lote se realizó a temperatura ambiente en época de verano donde la temperatura de fermentación varió de 26 a 30 °C y con fluctuaciones durante la noche.

4.4.2 Estudio de la fermentación por lote

Se realizaron pruebas para estudiar la cinética de consumo de azúcares y producción de alcohol, así como también el rendimiento de fermentación para lo cual se hidrolizó primero 5 L de suspensión de camote preparados en la concentración determinada en la sección 4.4.1.1, en la hidrólisis se utilizó las concentraciones de enzimas determinadas en la sección 4.2.1.1 y luego, se fermentó en botellas de vidrio de 3 L de capacidad bajo las condiciones de operación definidas en la sección 4.4.1.2.

4.4.2.1 Control del consumo de azúcares y formación de alcohol en la fermentación

Se preparó una suspensión de camote de concentración 50 % (m/v) (véase la sección 4.4.1.1), luego se hidrolizó y después se procedió a fermentar realizando el control respectivo de azúcares que se consumen y de alcohol en formación.

Condiciones de Operación:

- ✓ Concentración de la suspensión de camote: 50 % (m/v)
- ✓ Condición de operación en la licuefacción
 - 100 ppm de CaCO₃, pH = 6,5 t = 90°C
 - Concentración de enzima α-amilasa 2,0 mL/kg de camote
- ✓ Condición de operación en la sacarificación
 - pH = 4,5 y t = 60 °C
 - Concentración enzima amiloglucosidasa 0,9 mL/kg de solución hidrolizada
- ✓ Condición de operación en la fermentación
 - pH = 4,5 y t = 30 °C
 - Inocular 5% (m/v) de cultivo de levadura *Saccharomyces cerevisiae*

Los resultados experimentales se muestran en el cuadro 4.14 y se grafican en la figura 4.9.

Cuadro 4.14. Control del proceso de fermentación alcohólica por lote.

Tiempo (h)	Concentración de azúcares % (m/v) (g/100 mL)	Concentración de alcohol % (m/v) (g/100 mL)
0	25,3	0,0
6	24,5	0,4
10	22,1	1,6
15	19,6	2,8
17	18,0	3,7
21	14,5	5,4
24	12,9	6,2
30	9,9	7,7
36	8,5	8,4
45	6,6	9,4
48	6,0	9,6
50	5,7	9,8
55	5,0	10,2
56	5,0	10,2
60	5,0	10,2

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

La concentración inicial de azúcares al inicio de la fermentación es de 25,3 g/100 mL, esta concentración disminuye con el tiempo, como consecuencia de que se va transformando a alcohol etílico y CO₂, llegando a tener una concentración al final de la fermentación de 5,0 g/100 mL lo que indica que no se consumió la totalidad de azúcares reductores, es posible además que hubiera ocurrido el mínimo ingreso de oxígeno y que haya afectado la actividad de la levadura haciendo que detenga su función de fermentación a pesar de la existencia de una cantidad de azúcares aún por consumir.

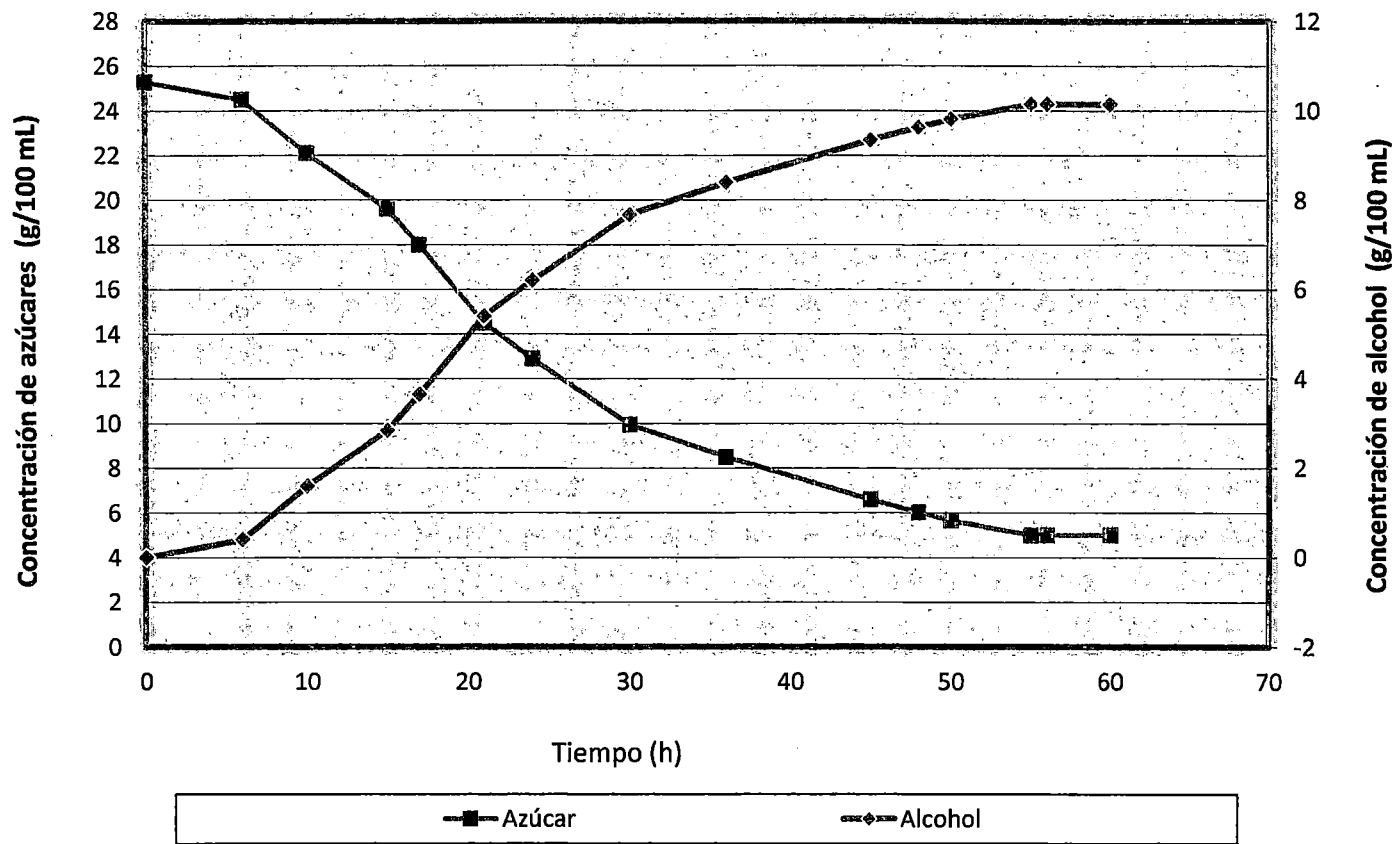


Figura 4.9. Curvas de consumo de azúcares y formación de alcohol

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

Del gráfico de la figura 4.9 se observa que la producción de etanol es baja durante las primeras horas de la fermentación, debido a que la levadura está en una fase de multiplicación y desarrollo consumiendo el sustrato, a partir de las 15 h comienza la fase donde la levadura realiza su metabolismo consumiendo el azúcar y produciendo etanol observándose que la velocidad de producción es alta, a partir de las 55 h la velocidad de producción disminuye hasta alcanzar un estado estacionario dando por finalizado el proceso de fermentación obteniéndose una concentración máxima de alcohol de 10,2 g/100 mL, se pudo haber obtenido mayor porcentaje de etanol si no se habría controlado el azúcar y etanol, aunque se tuvo cuidado para realizar el control sin dejar ingresar aire pero es posible que haya ingresado un mínimo de oxígeno lo que provocó contaminación a la levadura y reducción de su actividad.

4.4.2.2 Rendimiento de fermentación

Se prepararon 10 muestras de suspensión de camote en las que se utilizó para cada muestra 2,5 kg de camote y 2,5 L de agua lo cual resulta en una concentración de sustrato al 50 % (m/v), siendo el peso total de la suspensión de 5 kg y aproximadamente un volumen de 5 L, en la hidrólisis se consumió agua por evaporación por lo que la cantidad de solución a fermentar fue de 2,5 L el cual se introdujo en botellas de vidrio con tapa y sin salida de CO₂, finalizada la fermentación se abrió cuidadosamente la tapa para permitir una salida controlada de todo el CO₂ producido sin causar derrame de producto.

Las condiciones iniciales y finales de la fermentación se presentan en el cuadro 4.15.

Los resultados de los cálculos se muestran en el cuadro 4.16. (Véase Apéndice 6.2).

Cuadro 4.15. Datos experimentales en la fermentación para el cálculo de rendimiento fermentativo

Etapa	Datos experimentales
PREPARACIÓN DE LA SUSPENSIÓN	2,5 kg de camote 2,5 L de agua 50 % (m/v) de concentración de sustrato
INICIO DE FERMENTACIÓN	2500 mL de solución hidrolizada Concentración de azúcares 25,3 % (m/v)
FINAL DE FERMENTACIÓN	2500 mL de solución fermentada Concentración de etanol 11,67 % (m/v)

Cuadro 4.16. Cálculos para determinar el rendimiento en la fermentación

RESULTADOS AL INICIO DE LA FERMENTACION			
Concentración de azúcar (g/100 mL)	Volumen hidrolizado (mL)	Masa azúcar experimental (g)	Masa etanol teórico o esperado (g)
25,3	2500	632,5	323,21
RESULTADOS AL FINAL DE LA FERMENTACION			
Concentración de etanol (g/100 mL)	Volumen fermentado (mL)	Masa etanol experimental (g)	
11,67	2500	291,75	
RENDIMIENTO EN LA FERMENTACION			
Masa etanol experimental (g)	Masa etanol teórico o esperado (g)	Rendimiento (%)	
291,75	323,21	90,3	

En la práctica experimental hubieron factores que afectan el desarrollo de la fermentación y con ello el rendimiento, estos fueron: el

microorganismo usado, la concentración de sustrato, temperatura, pH, concentración de nutrientes. Dichos factores fueron ajustados al inicio de la fermentación con la finalidad de establecer las condiciones adecuadas para llevar a cabo el proceso; sin embargo, factores como la temperatura y el pH no permanecieron constantes a lo largo del proceso: el proceso fermentativo se realizó a temperatura ambiente (la cual osciló entre los 26 a 30° C) presentando caídas de temperatura durante la noche mientras que el pH descendió hasta un valor cercano al mínimo recomendado (3,5 - 5) porque no se realizó adiciones de NaOH para mantener el pH fijo a un valor óptimo de 4,5.

En esta prueba de fermentación se obtuvieron los valores más altos de concentración de etanol, lo cual se debe a que no se realizó controles para no alterar la actividad de la levadura y poder asegurar un alto rendimiento de fermentación, se le dio un tiempo de fermentación de 60 h durante el cual el recipiente se mantuvo sellado, dicho tiempo fue determinado analizando la sección 4.4.2.1 donde el tiempo de fermentación de dicha prueba fue de 55 h así que para las 10 pruebas de la presente sección se optó por darle un tiempo adicional de 5 h para asegurar que la fermentación haya llegado a su fase estacionaria en donde hay máxima concentración de etanol producido. La concentración de etanol obtenida de los 10 botellones fue medida y en promedio se obtuvo 11,67 % (m/v) que equivale a 14,42 % en volumen, es una concentración alta de alcohol lo que demuestra la alta tolerancia de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

El rendimiento obtenido fue de 90,3 %, no se pueden obtener rendimientos similares a nivel industrial ya que en ese caso las condiciones de fermentación se encuentran perfectamente controladas; por lo tanto, el rendimiento obtenido a nivel laboratorio resulta bastante satisfactorio.

4.5 Estudio de la destilación

Se destiló el contenido de los 10 botellones que se fermentó para el estudio del rendimiento de fermentación por lote (véase sección 4.4.2.2).

Se cargó el mosto fermentado al balón de destilación de 1 L de capacidad, se procedió a calentar el mosto contenido en el balón (proceso que dura en promedio 50 min), luego comenzó la destilación en la columna empacada de canicas y acondicionada con una válvula de reflujo, se cerró la válvula de destilado para permitir el reingreso de los vapores destilados al interior de la columna, cada cierto tiempo se abría la válvula de destilado para permitir una salida controlada de una parte del condensado a la vez que retorne la otra parte a la columna, ya que si la válvula se abría mucho se caía la concentración alcohólica del destilado, de este modo se recogió por intervalos de 30 min una porción de destilado condensado y se monitoreó su concentración alcohólica midiendo el índice de refracción con el refractómetro ABBE (véase sección 3.2.6).

Como observación importante es necesario señalar que las tablas usadas en la determinación del porcentaje en masa de alcohol (Véase Apéndice 5.1 y 5.2) no tiene un amplio rango de valores y para valores que salen fuera del rango de lectura se tiene que hacer dilución de la muestra alcohólica y medir nuevamente su índice de refracción de modo que este resultado si cae dentro de los datos reportados en la tabla de ABBE y se procede a la medición del porcentaje en masa de alcohol. Para valores superiores a 43,15 % de alcohol se midió la concentración alcohólica usando picnómetro (método descrito en la sección 3.2.7), para hallar la densidad de la mezcla alcohólica destilada y mediante la Tabla 3-114 del "Manual del Ingeniero Químico" (Véase Apéndice 5.3) se determinó el porcentaje en volumen de alcohol.

Antes de destilar se midió la concentración de alcohol del mosto fermentado en las botellas y se tiene el siguiente promedio: 11,67 porcentaje en masa ó 14,42 porcentaje en volumen.

Los resultados experimentales obtenidos se muestran en el Cuadro 4.17.

El alcohol obtenido fue analizado y validado en la Unidad de Servicios de Análisis Químicos de la Facultad de Química e Ingeniería Química de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. (Véase Apéndice 3.6).

Cuadro 4.17. Concentración alcohólica de los destilados obtenidos

N° de botella	Densidad de la mezcla alcohólica (g/mL)	Porcentaje de alcohol en volumen
1	0,88382	72,46
2	0,88333	72,65
3	0,86452	79,74
4	0,86251	80,46
5	0,83518	89,58
6	0,83159	90,67
7	0,83046	91,01
8	0,83001	91,14
9	0,82602	92,29
10	0,81801	94,48

Fuente: Valores experimentales obtenidos por los tesisistas

4.6 Balance de materia del proceso a nivel laboratorio

El balance de materia se presenta en el diagrama de flujo de la figura 4.10

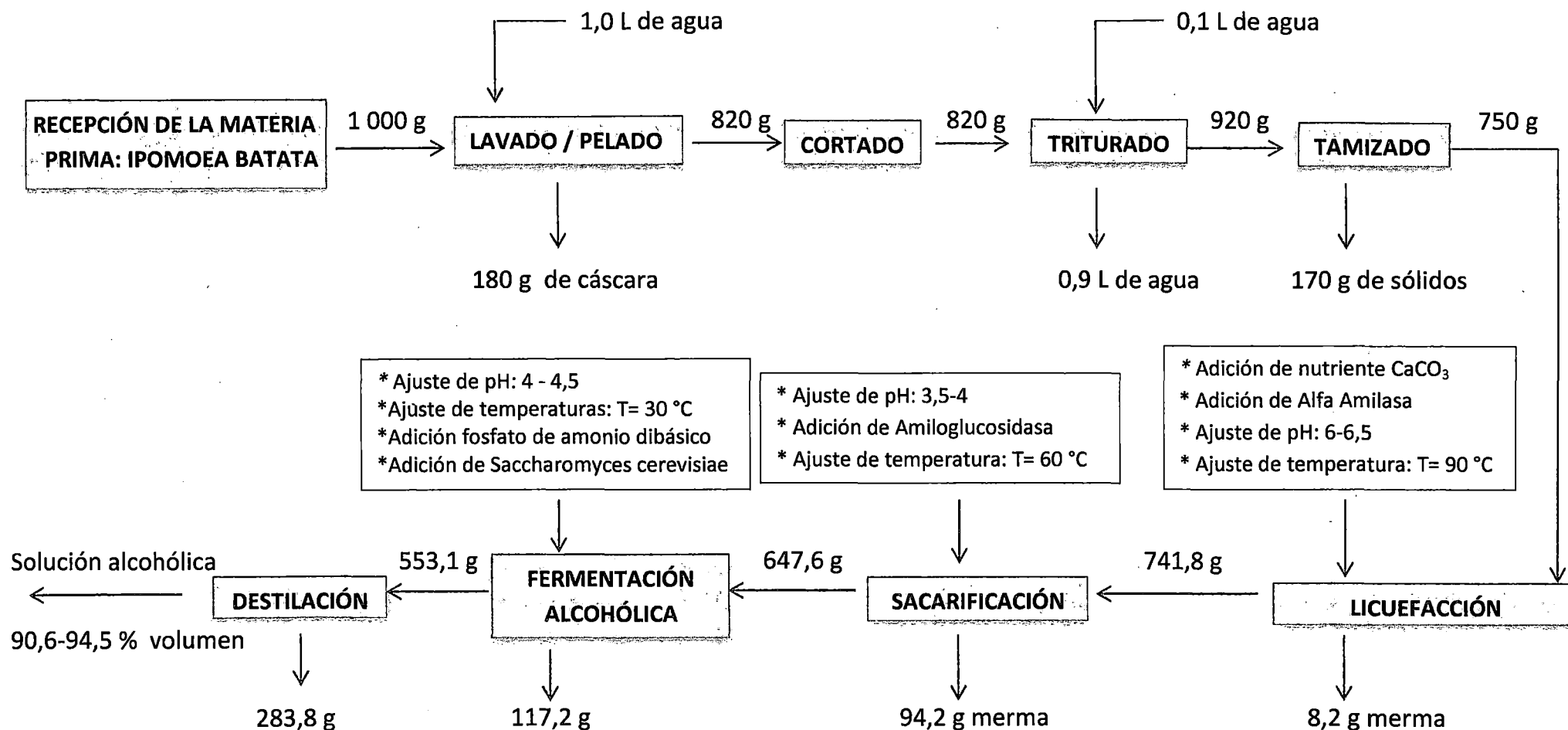


Figura 4.10. DIAGRAMA DE FLUJO DEL BALANCE DE MATERIA A NIVEL LABORATORIO

Fuente. Producción de Etanol a partir de la fermentación del camote. Tesistas: Yucra Zela, Sonia y Brown Quiliche, Alexander

CAPÍTULO V

COSTO DE PROCESAMIENTO

Para las operaciones de hidrólisis (licuefacción y sacarificación), fermentación y destilación se realiza el balance de masa. Dicho balance toma como base 1 kg de camote morado. En el proceso de licuefacción se pierde 1,1 % de masa, en el proceso de sacarificación la pérdida es de 12,7 % mientras que en el proceso de fermentación la pérdida es de 14,6 % de masa. Para las operaciones de selección y lavado no es necesario realizar el balance de masa.

En el cuadro 5.1 se muestra los resultados del balance de masa por 1 kg de camote.

Cuadro 5.1. Balance de masa para un kilogramo de camote morado.

OPERACIÓN	INGRESO (kg)	SALIDA (kg)
Recepción de materia prima	1,0	1,0
Lavado / pelado	1,0	0,82
Cortado	0,82	0,82
Triturado	0,82	0,92
Tamizado	0,92	0,75
Licuefacción	0,75	0,7418
Sacarificación	0,7418	0,6476
Fermentación alcohólica	0,6476	0,5531
Destilación	0,5531	0,2693

Fuente: Cálculos experimentales obtenidos por los tesisistas

Con el balance de masa se determina la cantidad de agua potable necesaria para el procesamiento de 1 kg de camote morado, así mismo la cantidad de agua destilada necesaria en el cultivo de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Adicionalmente se determina las horas para los procesos de hidrólisis, fermentación y destilación. En el cuadro 5.2 se muestran estos valores y en el apéndice se demuestra los detalles del cálculo.

Cuadro 5.2. Requerimiento de agua y tiempos de operación para 1 kg de camote morado.

REQUERIMIENTOS POR OPERACIÓN	CANTIDAD
Lavado / Enjuague de Materia Prima	
Agua potable, m ³	0,001
Licuada de Materia Prima	
Tiempo de licuado, h	0,1667 (10 min)
Agua Potable, L	1
Cultivo de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
Agua Destilada, L	0,15
Hidrólisis	
Tiempo de Licuefacción, h	2
Tiempo de Sacarificación, h	10
Fermentación	
Tiempo de fermentación, h	56
Destilación	
Tiempo de Destilación, h	04

Fuente: Cálculos experimentales obtenidos por los tesisistas

Para el cálculo del consumo de energía, se toma como referencia la potencia de los equipos seleccionados a nivel laboratorio, así como los tiempos determinados para el proceso de 1 kg de camote morado. El cálculo se muestra en el Apéndice 6.2 y en cuadro 5.3 los resultados en kWh.

Para la estimación de los costos de procesamiento se considera los costos de agua destilada, agua potable, consumo de energía en la hidrólisis (licuefacción y sacarificación), fermentación, destilación; las tarifas de agua y energía son referenciales. En el apéndice se muestran detalles del cálculo y en cuadro 5.4 se muestran estos valores estimados de parciales y totales para el procesamiento de 1 kg de camote.

Cuadro 5.3. Consumo de energía para procesar 1 kg de camote morado.

CONSUMO DE ENERGÍA POR OPERACIÓN	CONSUMO (kWh)
Licuada de Materia Prima	0,10002
Hidrólisis	
Licuefacción	2,40
Sacarificación	12,0
Fermentación	0,0
Cultivo de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,0
Destilación	0,880

Fuente: Cálculos experimentales obtenidos por los testistas

Cuadro 5.4. Estimado de costo total para el procesamiento de 1 kg de camote morado.

DETALLE	CANTIDAD	COSTOS	SUB-TOTAL (S/.)
MATERIA PRIMA			
Camote morado, kg	1	S/. 0,20 / kg	0,20
INSUMOS			
Agua potable, m ³	0,002	S/. 1,730 / m ³	0,0035
Agua destilada, L	0,150	S/. 1,20 / L	0,18
VARIABLES, en kWh			
Energía en Licuada de Materia Prima	0,10002	S/. 0,2515 / kWh	0,0252
Energía Hidrólisis			
Energía Licuefacción	2,4	S/. 0,2515 / kWh	0,6036
Energía Sacarificación	12	S/. 0,2515 / kWh	3,0180
Energía Fermentación	0,0	S/. 0,2515 / kWh	0,0
Cultivo de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,0	S/. 0,2515 / kWh	0
Energía Destilación	0,880	S/. 0,2515 / kWh	0,2213
Mano de obra			0,0
TOTAL			S/. 4,2516

Fuente: Cálculos experimentales obtenidos por los testistas

CAPÍTULO VI

CONCLUSIONES

1. En la licuefacción de una suspensión de camote de concentración 33% m/v, se determinó que la concentración óptima de enzima alfa-amilasa de *Bacillus licheniformis* es de 2,0 mL/kg de camote, donde se obtiene la máxima concentración de azúcares de 12,6 g/100 mL y el tiempo de licuefacción es de 4 h.
2. En la sacarificación de una suspensión de camote de concentración 33% m/v, se determinó que la concentración óptima de enzima amiloglicosidasa de *Aspergillus Níger* es de 0,9 mL/kg de hidrolizado, donde se obtuvo la máxima concentración de azúcares cuyo valor fue de 14,4 g/100 mL, con un tiempo de sacarificación de 4 h.
3. En la hidrólisis realizada a distintas concentraciones de suspensión de camote: 25, 33, 40, y 50 % m/v; manteniendo fija la concentración de la enzima alfa-amilasa en 2,0 ml/kg de camote y de la amiloglicosidasa en 0,9 mL/kg de solución hidrolizada, se demostró que a la concentración de sustrato al 50% m/v se obtuvo la máxima conversión a azúcares que es 90,3 %.
4. En la licuefacción realizada a menor temperatura que la temperatura óptima de 90 °C recomendada por el fabricante para la enzima alfa-amilasa, se tuvo un tiempo mayor de operación, esto fue debido a que el medio presentó más viscosidad por lo que el ataque

5. En la fermentación realizada a distintas concentraciones de suspensión de camote: 25, 33, 40, y 50 % m/v; se demostró que para la concentración de suspensión de camote del 50% m/v se obtiene el mayor porcentaje de consumo de azúcares 90,3 % la cual se transforma en alcohol etílico, por ello se usó dicha concentración de suspensión de camote para las demás pruebas de fermentación tanto porque aprovecha la mayor cantidad de azúcares como también porque implica menor consumo de agua.
6. Las condiciones de operación recomendadas para las operaciones involucradas en la obtención del alcohol de camote son:

Concentración de sustrato: 50,0 % (w/v)

Condiciones de operación en la licuefacción

- Concentración de enzima alfa-amilasa 2,0 mL/kg de camote.
- 100ppm de CaCO_3 , pH = 6,5, t = 60°C

Condiciones de operación en la sacarificación

- pH = 4,5 y t = 60 °C
- Concentración enzima amilogucosidasa 0,9 ml/kg de solución hidrolizada

Condiciones de operación de la fermentación

- pH = 4,5 y t = 30 °C
- Nutriente utilizado: 0,2 g/L de fosfato de amonio dibásico $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$
- Inóculo de 5% en volumen del cultivo de levadura *Saccharomyces Cerevisiae*.

7. Se ha logrado obtener un rendimiento aceptable en el desarrollo de la presente investigación:

Porcentaje de conversión a azúcares reductores: 90,3 %,

Concentración de azúcares: 25,3 g/100 mL

Porcentaje de alcohol etílico en volumen: 94,48%

Rendimiento = 0,12 g de etanol / g de camote

Rendimiento = 0,21 L de etanol / kg camote

CAPÍTULO VII

RECOMENDACIONES

1. Se recomienda usar variedades de camote con un grado alto de contenido de almidón y azúcares y de bajo costos.
2. Al manipular las enzimas y material microbiológico se debe seguir las indicaciones del fabricante con respecto a la manipulación de las enzimas con la finalidad de evitar cualquier tipo de contaminación; es decir, aplicar medidas de bioseguridad vigente.
3. Continuar con las investigaciones realizadas en la presente tesis, con la finalidad de llevarlo a nivel de planta piloto, optimizando los resultados obtenidos.
4. Se recomienda tomar como aporte el presente estudio con la finalidad de promover el desarrollo agro-industrial buscando promover el cultivo del camote, generando fuente de trabajo y evitando la pérdida de cultivo no comercializado.

CAPÍTULO VIII

BIBLIOGRAFÍA

1. **ANTEZANA, S.; VALLEJOS, J.** (1987). Tesis. *Investigación Comparativa de la Biotransformación del Ipomea Batatas para la Obtención de Alcohol*. Universidad Nacional San Luis Gonzaga. Ica.
2. **BARRIENTOS, F.** (2008). *Incidencia de la Producción de Biocombustibles en la Agricultura Peruana*. Instituto de Investigación Económica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
3. **BEMILLER, J., N., WHISTLER, R., L.** (1996). *Carbohydrates*. 157-224. En: Fennema, O.R. Food Chemistry. Tercera edición. New York: Marcel Dekker Inc. 191-203.
4. **BON L.F THÉNARD.** (n.d.). *Tratado Completo De Química Teórica y Práctica*. (vol. 2, pp. 131-216, vol. 4, pp. 201-216). Imprenta De Busseuil y Compañía.
5. **CAMPOS G., AGUILAR, D.** (2002). *Sacarificación Enzimática del Almidón de Camote*. Anales Científicos de la UNALM - 2002 (Vol. LIII). Editorial Ediagraria. Lima.
6. **CASTAÑO P, HADER I Y MEJÍA G, CARLOS E.** (2008). *Producción de Etanol a partir de Almidón de Yuca utilizando la Estrategia de Proceso Sacarificación - Fermentación Simultáneas (SSF)*; Revista Vitae de la Facultad de Química Farmacéutica ISSN 0121-4004. Volumen 15 número 2. Universidad de Antioquia, Medellín. Página web:
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S012140042008000200007&lng=en&nrm=iso.

7. **CÓRDOVA, J.L.** (2004). *Demanda Del Camote en el Perú [versión electrónica]. Universidad San Martín de Porres. Obtenida de, <http://www.monografias.com/trabajos45/demanda-camote-peru/demanda-camote-peru2.shtml>.*
8. **DELGADO, T.** (1975). *La Investigación en Apoyo a la Producción y Consumo.* Universidad Nacional Agraria. La Molina-Lima.
9. **FERMENTACION ALCOHOLICA.** (n.d). Consultado el 10 de enero 2012, <http://es.scribd.com/doc/37706051/Fermentacion-alcoholica>.
10. **FERMENTACION ALCOHOLICA.** (n.d). Consultado el 10 de enero 2012, página web: http://es.wikipedia.org/wiki/Fermentaci%C3%B3n_alcoh%C3%B3lica#Limitaciones_del_Proceso.
11. **GADEA, R.** (1970). Tesis. *Estudio Comparativo de Morfología y Rendimiento del Camote.* Universidad Nacional Agraria. La Molina-Lima.
12. **HERNANDEZ, TORRUCO, CHEL, BETANCUR.** (2007). *Caracterización Físicoquímica de Almidones de Tubérculos Cultivados en La Península de Yucatán, México. IX Congreso de Ciencia de los Alimentos y V Foro de Ciencia y tecnología de los Alimentos. Facultad de Ingeniería Química. Universidad Autónoma de Yucatán. (pp.85-92). México.*
13. **KENT J.A.** (1984). *MANUAL DE RIEGEL DE QUIMICA INDUSTRIAL.* (1era ed.). Compañía Editorial Continental S.A. (pp. 830-832).
14. **KREBS, H.** (1972). *The Pasteur Effect And The Relations Between Respiration And Fermentation.* Essays in Biochemistry.
15. **KRETZSCHMAR, H.** (1961). *Levaduras Y Alcoholes Y Otros Productos de la Fermentación.* Editorial Reverte S.A. México.

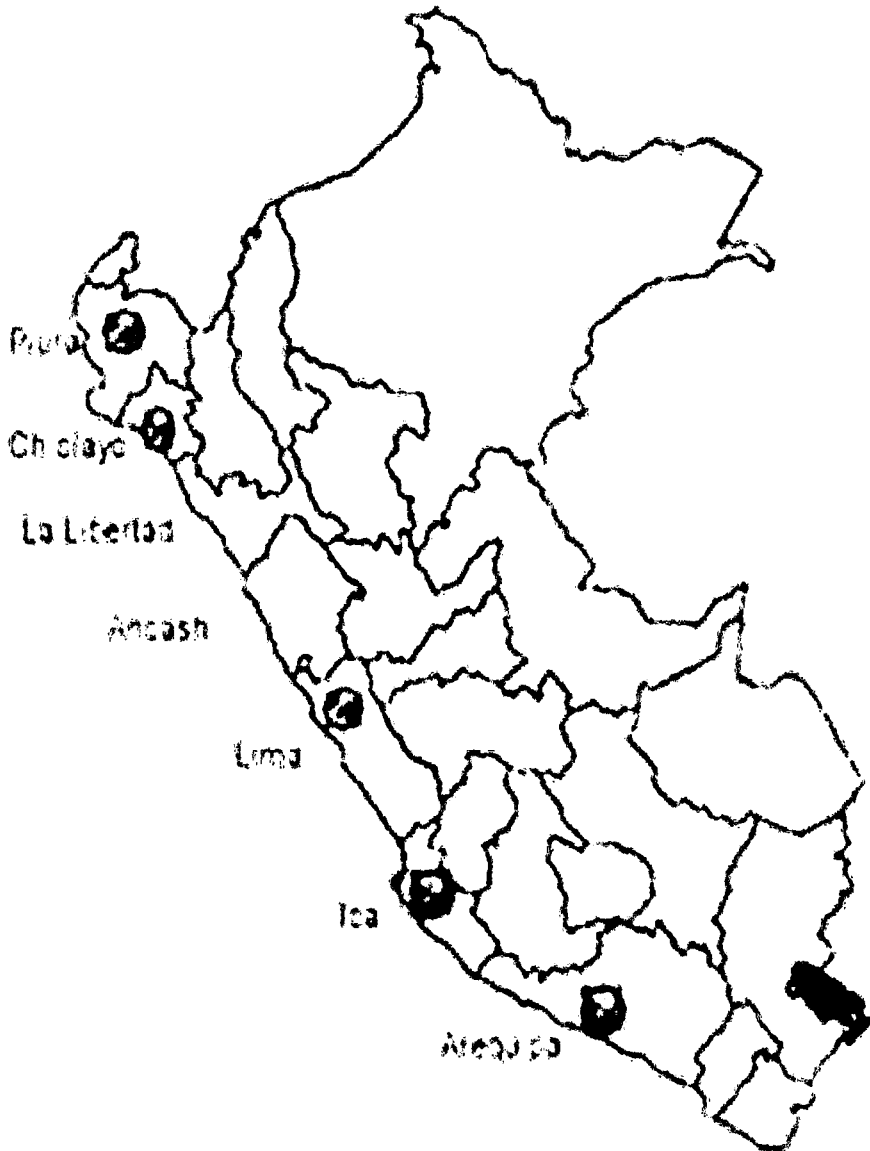
16. **LIGA DE DEFENSA DEL MEDIO AMBIENTE.** (2011). *Etanol*. Artículo Periodístico. Consultada el 11 de Octubre de 2011, <http://www.lidema.org.bo/2Etanol.pdf>.
17. **MARIANO, R.** (2007). *Biocombustibles en Brasil*. [versión electrónica]. Revista Trébol N° 43//2-2007. Aseguradora MAPFRE. Brasil.
18. **MARTÍNEZ, J.** (2005). Tesis Doctoral. *Utilización de la α -Amilasas en la Formulación de Detergentes Industriales*. Facultad de Ciencias, Departamento de Ingeniería Química. Universidad de Granada. (pp. 23-28). España.
19. **MINISTERIO DE LA PRODUCCIÓN.** Viceministerio de la Industria. *Indicadores de la Producción de Alcohol Etilico a Nivel Nacional 1987-1990*. Página web: www.produce.gob.pe.
20. **MINISTERIO DE AGRICULTURA DEL PERÚ.** Centro de Información Tecnológica (C.I.T.). Página web: <http://www.inia.gob.pe/camote/zonas.htm>
21. **MORRISON Y BOYD.** (1987). *Química Orgánica*. (5ta ed.). Editorial Addison Wesley Iberoamericana. (pp. 625-631).
22. **PANDA S., PARMANICK, M., RAY R.C.** (2007). Lactic acid fermentation of sweet potato (*Ipomoea batata*) into pickles. *Journal of Food Processing and Preservation*. 31:83-101.
23. **PERRY, H.** (1986). *Manual del Ingeniero Químico*. (2da ed.). Editorial McGraw-Hill. México.
24. **Portal Agrícola del Estado Chileno.** Consultada el 15 noviembre del 2011, <http://www.abcagro.com/hortalizas/batata.asp>

25. **RALPH J. FESSENDEN Y JOAN S. FESSENDEN.** (1991). *Química Orgánica*. (2da ed.) . Grupo Editorial Iberoamericana. (pp. 848-850, 885-888).
26. **RAY, R.C. and WARD, O.P.** (2006). Post-Harvest Microbial Biotechnology of Tropical Root and Tuber Crops. In: RC Ray and OP Ward. *Microbial Biotechnology in Horticulture*. Vol 1. Science Publishers, NH. pp 345-396.
27. **RAYMOND R., KENT J.** (2003). *Riegel's Handbook of Industrial Chemistry*. Editorial Springer Verlag.
28. **RIDLEY S.C., LIM M., HEENAN S., BREMEN P.** (2005) Evaluation of sweet potato cultivares and heating methods for control of maltose production, viscosity and sensory quality. *Journal of Food Quality*. 28: 191-204.
29. **RIOS, M. Y CANDIA, Z.** (1999). Tesis. *Estudio De Factibilidad Para La Instalación De Una Planta De Fabricación De Almidón De Camote-Ipomea Batata*. Universidad Nacional de Ingeniería. Lima.
30. **Surco, F.** (2004). Tesis de Maestría. *Caracterización de almidones aislados de tubérculos andinos*. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Editorial de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima.
31. **ULLMAN, F.** (1958). *Enciclopedia de Química Industrial (vol. 4)*. Editorial Gustavo Hill S.A. Barcelona.
32. **UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA.** (n.d). Programa de Investigación y Proyección Social en Raíces y Tuberosas. Consultada de la Red Informática de la Universidad Nacional Agraria La Molina, <http://www.lamolina.edu.pe/Investigacion/programa/camote/#composicion>

33. **UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA.** (2000). *Guía de Fermentación.* Laboratorio de Operaciones Unitarias III. Colombia.
34. **VALLEJO, F. (1945).** *Alcoholes, su Fabricación y Usos.* Editorial Hispano Americana S.A. Buenos Aires-Argentina.
35. **VELIZ, R. (1984).** Tesis. *Hidrólisis Del Almidón de Yuca por Fermentación Sumergida con Aspergillus Níger Para la Obtención de Glucosa Y Producción de Alcohol Etilico.* Universidad Nacional de Ingeniería. Lima.
36. **VIAN, A. (1980).** *Introducción a la Química Industrial.* (2da ed.). Editorial Alhambra S.A. (pp. 402-410).
37. **WADE, L.G. (1993).** *Química Orgánica.* (2da Ed.). Editorial Prentice Hall Hispanoamericana S.A. (pp. 1151-1152).
38. **YARASCA E.F. (2002).** *Influencia de La Temperatura y el p H en el Proceso de Fermentación Alcohólica.* Universidad Nacional San Luis Gonzaga. Ica.
39. **YEGRES F. Y FERNÁNDEZ G. (2003).** Saccharomyces Cerevisiae en la Fabricación del Licor Cocuy. Revista Sociedad Venezolana de Microbiología, Enero 2003, Vol. 23, N°1. Consultada el 13 de enero 2012, de la página web:
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S1315-25562003000100012&scrip=sci_arttext&lng=es

ANEXO 1

ZONAS DE MAYOR VOLUMEN DE PRODUCCION DE CAMOTE

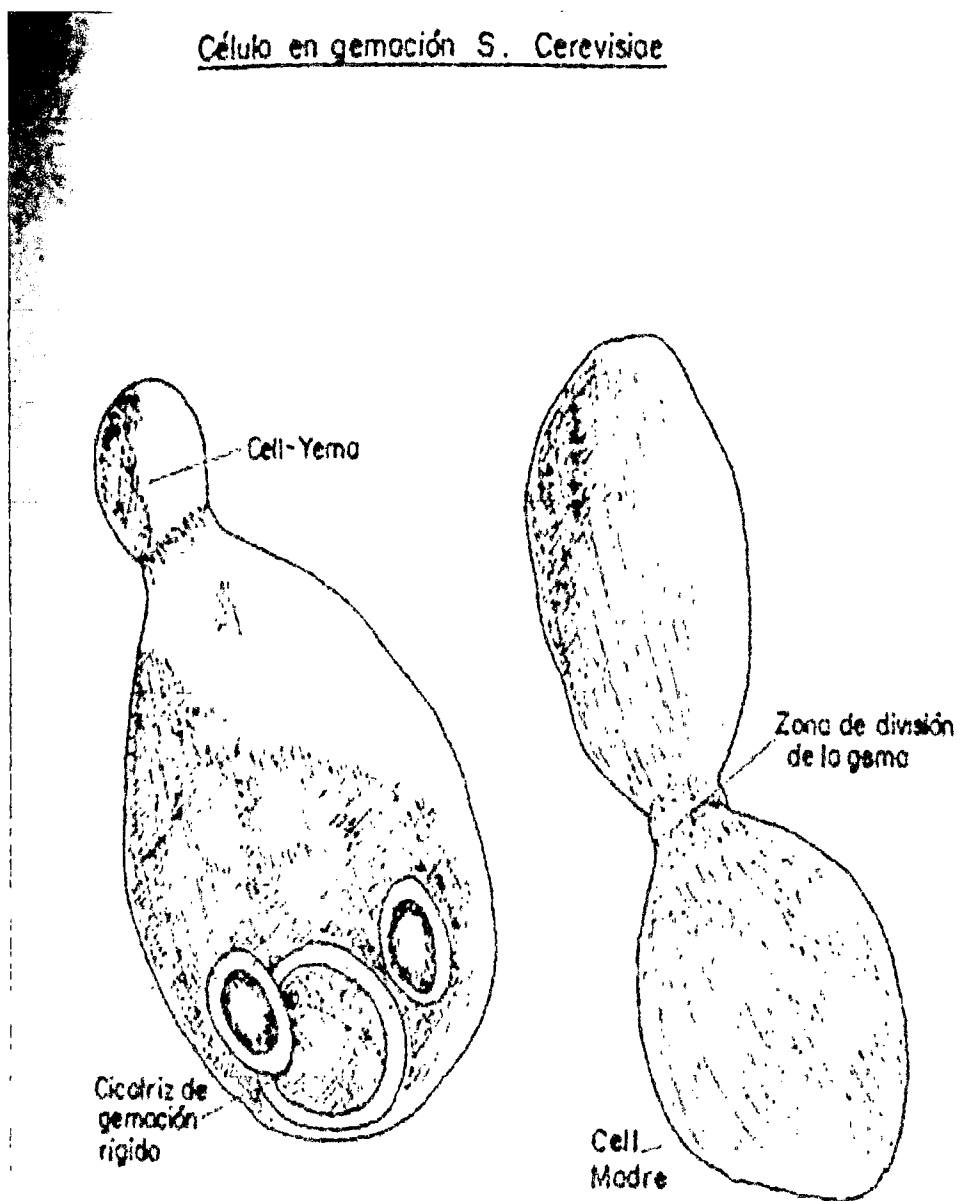


ZONAS DE MAYOR VOLUMEN DE PRODUCCIÓN DE CAMOTE (I)

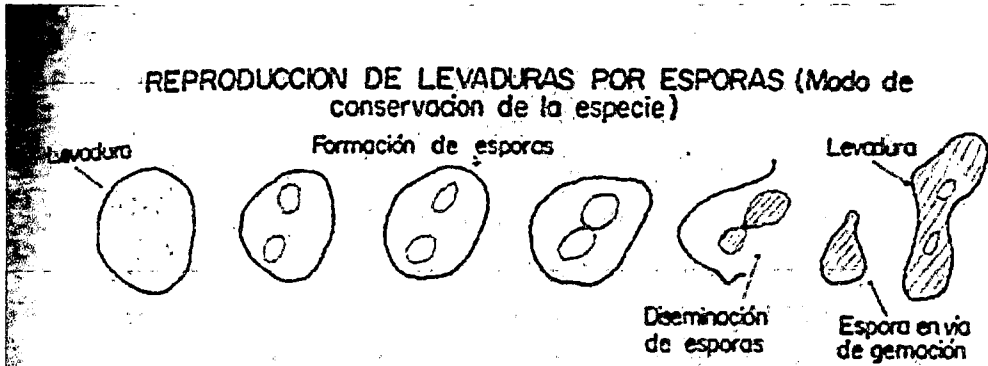
ANEXO 2

REPRODUCCIÓN SACCHAROMYCES CEREVISIAE

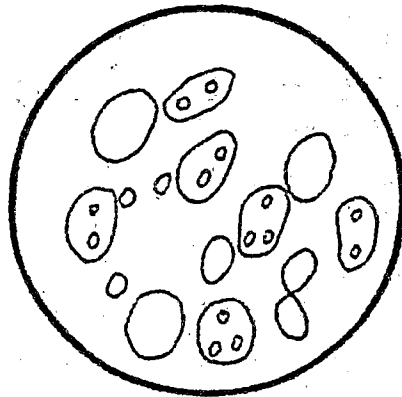
2.1 Reproducción por Gemación



2.2 Reproducción por Esporas



LEVADURAS ELIPTICAS EXAMINADAS AL MICROSCOPIO



3.2 CERTIFICADO DE ANÁLISIS DE LA AMYLOGLUCOSIDASE DE ASPERGILLUS NIGER OTORGADO POR SIGMA-ALDRICH



sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.com

Email USA: techserv@sial.com

Outside USA: eurtechserv@sial.com

Certificate of Analysis

Product Name:

Amyloglucosidase from *Aspergillus niger* - ≥ 300 U/mL, aqueous solution

Product Number: A7095
 Lot Number: 090M1567
 Brand: SIGMA
 MDL Number: MFCD00081350
 Storage Temperature: Store at 2-8 DEGREE C
 Quality Release Date: 29 SEP 2010

Test	Specification	Result
units/ml	≥ 300	330
Density At 20°C, 1.2. n/ml.	Conforms	Conforms

Signature: Robert B. Bredt
 Title: Director of Quality Control
 Date: 29 SEP 2010

This certificate is valid only for the product and lot number specified above. It does not constitute a warranty or a guarantee of performance. The product is intended for use in research and development only. It is not for use in clinical or diagnostic applications. The product is not to be used in food or feed. The product is not to be used in pharmaceuticals. The product is not to be used in cosmetics. The product is not to be used in any other application. The product is not to be used in any other application. The product is not to be used in any other application.

**3.3 CERTIFICADO DE ANALISIS DE LA SACCHAROMYCES CEREVISIAE
OTORGADO POR SIGMA-ALDRICH.**

Página 1 de 1

Certificate of Analysis

Product Name	Yeast from <i>Saccharomyces cerevisiae</i> , Type II	
Product Number	YSC2	
Product Brand	SIGMA	
TEST	SPECIFICATION	UNIT QUANTITY RESULTS
APPEARANCE	REPORT RESULT	TAN SOLID
ENZYMATIC ACTIVITY	CONTAINS 3- PHOSPHOGLYCERATE KINASE ACTIVITY	CONFORMS
UNIT DEFINITION	ONE UNIT WILL CONVERT 1.0MICROMOLE OF 1,3- DIPHOSPHOGLYCERATE TO 3- PHOSPHOGLYCERATE PER MINUTE AT PH8.9 AT 25DEGC.	
QC RELEASE DATE		09 JUL 2009



Rodney Burbeck, Manager
Quality Control
St. Louis, Missouri USA

**3.4 ANALISIS QUIMICO PROXIMAL DE LA IPOMOEA BATATAS
REALIZADO POR EL LABORATORIO DE EVALUACION NUTRICIONAL
DE ALIMENTOS DE LA FACULTAD DE ZOOTECNIA - DEPARTAMENTO
DE NUTRICIÓN DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA**



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE ZOOTECNIA - DEPARTAMENTO ACADEMICO DE NUTRICION
LABORATORIO DE EVALUACION NUTRICIONAL DE ALIMENTOS
Av. La Molina s/n - La Molina
TELEFAX 3410330

INFORME DE ENSAYO LENA N° 0279/2012

CLIENTE : ALEXANDER ARMANDO BROWN QUILICHE
NOMBRE DEL PRODUCTO : Camote Morado Tubérculo
(Denominación responsabilidad del cliente)
MUESTRA : PROPORCIONADA POR EL CLIENTE
FECHA DE RECEPCIÓN : 24-02-2012
FECHA DE ANÁLISIS : Del 24/02/12 al 01/03/12
CANTIDAD DE MUESTRA : 948 gramos
PRESENTACION : de la muestra en Bolsa de Polietileno
IDENTIFICACION : AQ-0279/2012

RESULTADOS DE ANALISIS QUIMICO

ANALISIS	Resultados
a.- HUMEDAD, %	72.05
b.- PROTEINA TOTAL (N x 6.25), %	1.45
c.- GRASA, %	0.31
d.- FIBRA CRUDA, %	0.98
e.- CENIZA, %	1.07
f.- ELN, %	26.14

ELN¹ - EXTRACTO LIBRE DE NITRÓGENO

Métodos utilizados:

a.- AOAC 1990, PARTE 920.46 pp 931


b.- AOAC 1990, PARTE 984.13 pp 74

c.- AOAC 1990, PARTE 042.05 pp 70

e.- AOAC 1990, PARTE 948.15 pp 071

f.- AOAC 1990, PARTE 762.09 pp 03

Atentamente:


Ing. Jorge Camarero Rojas
Jefe del Laboratorio de Evaluación
Nutricional de Alimentos

La Molina, 01 de Marzo del 2012

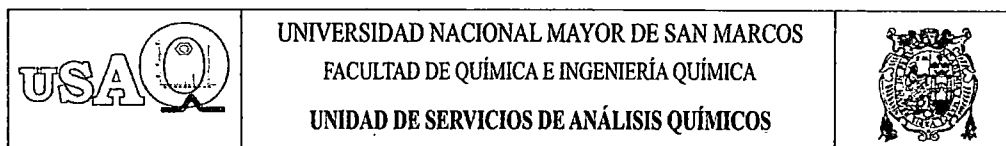
3.5 Tabla de composición de alimentos 2009 del Instituto Nacional de Salud.

Composición en 100 g de alimentos

CÓDIGO	Nombre del alimento	Energía <ENERC> kcal	Energía <ENERC> kJ	Agua <WATER> g	Proteínas <PROCNT> g	Grasa total <FAT> g	Carbohidratos totales <CHOCDF> g	Carbohidratos disponibles <CHOAVL> g	Fibra cruda g	Fibra dietaria <FIBTG> g	Cenizas <ASH> g
U 3	Camote amarillo sin cáscara	116	485	69,9	1,2	0,2	27,6	24,6	1,0	3,0	1,1
U 4	Camote blanco	119	498	68,8	1,7	0,1	28,3	28,3	0,9	-	1,1
U 5	Camote morado sin cáscara	110	460	71,6	1,4	0,3	25,7	25,7	0,9	-	1,0
U 6	Camote, harina de	353	1477	9,9	2,1	0,9	84,3	81,3	1,8	3,0	2,8

<http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Tabla%20de%20Alimentos.pdf>

3.6 ANALISIS DE % ETANOL REALIZADO POR LA UNIDAD DE SERVICIOS DE ANALISIS QUIMICOS DE LA FACULTAD DE QUIMICA E INGENIERIA QUIMICA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS.



INFORME DE ENSAYO
N° 079-2012

Cliente : ALEXANDER ARMANDO BROWN QUILICHE
Dirección : Jr. Pérez de Tudela 1954 Mirones Bajo - Lima
Referencia USAQ : 057-01
Muestras : ALCOHOL
Cotización : 065-2012/USAQ-FQIQ
Fecha de Recepción : 29/02/2012
Fecha de Emisión : 09/03/2012

RESULTADO DE ANÁLISIS DE : % ETANOL

Código USAQ	Código Cliente	Determinaciones	Resultados (%)
057-01	ALCOHOL (Proveniente de Ipomea Batata- Camote)	% ETANOL	92,29

Muestra Proporcionada por el Cliente

Métodos: Determinación de Pureza por GC-FID USAQ-ME-07



Quim. María Angélica Rodríguez Best
 Directora de la USAQ
 CQP: 597

Nota: El presente informe sólo es válido en su estado original y se refiere únicamente a la muestra analizada, cualquier corrección o enmienda en el contenido del presente informe lo anula automáticamente.
 Observ.: La muestra podrá ser devuelta después del plazo de 30 días calendario de recepcionada, dado el tiempo indicado no se aceptarán reclamos ni devoluciones.

IE-079-2012(Página 1 de 2)

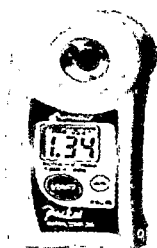
ANEXO 4.
EQUIPOS DE LABORATORIO

4.1 EQUIPO REFRACTÓMETRO DIGITAL POCKET PAL-RI

Cuadro 1. Especificaciones técnicas Refractómetro digital Pocket PAL-RI

Modelo	PAL-RI	Número de Catálogo	3850
Rango de Medida	Índice de Refracción 1.3306 a 1.5284	Resolución	Índice de Refracción 0.0001
Exactitud de Medición	Índice de Refracción ±0.0003 (agua 20°C)	Temperatura Ambiente	10 a 40°C
Temperatura de la Muestra	5 a 45°C (resolución 1°C)	Volumen de la Muestra	0,3 mL
Tiempo de Medición	3 segundos	Fuente de Poder	2 Baterías tipo AAA
Clase de protección internacional	IP65 Protegido del polvo y de chorros de agua.	Dimensiones y Peso	55(v)×31(D)×109(H)mm, 100g (unidad principal solamente)

Modo de uso del equipo Refractómetro digital Pocket PAL-RI:



Se coloca sobre el lente del refractómetro unas gotas de la solución azucarada, se enciende y se visualiza en la pantalla el índice de refracción así como la temperatura de la solución. Concluida la medición, absorber la solución con papel tisú y enjuagar con agua destilada el lente secando con papel tipo tisú suavemente para evitar rayar la superficie del mismo.

Medida Ejemplo
Índice de Refracción 1.3425 Temperatura 20°C

4.2 EQUIPO REFRACTÓMETRO DE INMERSION ABBE

Definiciones:

Índice de refracción: es una característica constante para el medio considerado y se emplea en la identificación y determinación de la pureza de sustancias y para el análisis de la composición de mezclas binarias homogéneas de constituyentes conocidos. La medida del índice de refracción de una muestra es fundamental para su determinación.

Refractómetros: son aparatos ópticos de precisión pero de sencillo principio operativo y manejo, basados en el concepto de ángulo límite, que es el mayor ángulo de incidencia de un rayo luminoso en una gema, que permite la refracción del rayo. Si el ángulo de incidencia es mayor que el límite, se produce una reflexión.

Refractómetro de inmersión ABBE

Este instrumento presenta un sistema de prisma recto rodeado de una envoltura de doble pared que permite hacer circular agua a temperatura constante debido a la sensibilidad del índice de refracción a la temperatura. Este vidrio posee un elevado poder dispersivo, propiedad que mide la separación angular relativa producida en los colores extremos del espectro.

Modo de uso del refractómetro de inmersión ABBE

La sustancia líquida a ensayar se coloca en forma de gota sobre la cara pulimentada y libre del prisma para luego esparcir hasta formar una fina capa. Se gira la perilla grande hasta producir una reflexión total en la superficie de la capa del destilado interpuesto entre los prismas y observar que la mitad del campo visual aparezca oscura. Luego girar el tornillo pequeño de precisión hasta que la diferencia de zonas aparezca lo más nítido posible. Logrado esto se procede a la medición del índice de refracción.

4.3 EQUIPO DE MEDICIÓN DE PH TIPO LAPICERO (PH-METRO DIGITAL)

CUADRO 2. Especificaciones técnicas de pH tipo lapicero (pH-metro digital)



Rango	0.00 a 14.00 pH
ATC	0 °C a 50 °C
Aproximación	± 0.1 pH
Resolución	0.01 pH
Calibración	1 punto, Manual
Baterías	2 x 3V
Accesorios	Destornillador, catálogo
Medidas	150mm x 27mm x 20mm
Peso	46 g
Procedencia	TAIWAN

Modo de uso del equipo del pH tipo lapicero (pH-metro digital)

Las mediciones de pH se realizan con un pH metro tipo lapicero; el cual utiliza un electrodo de alta sensibilidad y respuesta rápida. Con 3 dígitos y pantalla en cristal líquido el medidor es fiable, estable, portátil y cómodo de manejar.

4.4 EQUIPO DE TRITURACION DEL CAMOTE

Las características del equipo de trituración son las siguientes:

- ✓ Licuadora Oster Licuadora 4655
- ✓ 3 Velocidades
- ✓ Potencia: 600 W
- ✓ Vaso de vidrio refractario 1,25 L
- ✓ Base de metal cromado
- ✓ Cuchillas de 4 aspas

ANEXO 5.

TABLAS DE CONVERSION

5.1 TABLA DE CONVERSIÓN DE DIVISIONES DE ESCALA DEL REFRACTÓMETRO DE INMERSIÓN A INDICE DE REFRACCIÓN

CONVERSION OF SCALE DIVISIONS OF THE IMMERSION REFRACTOMETER TO REFRACTIVE INDEX

Originally the immersion instrument was designed with a single prism (A) of crown glass which allowed only the range from n_D 1.32 to 1.36 to be covered. By a choice of glass and prism angle it has been found possible with a battery of six prisms to extend the upper limit of the range to 1.54. Each prism of the series overlaps the one immediately above so that there is no lost region from 1.32 to 1.54. The ranges covered by these prisms are: *A*-1.32539 to 1.36674; *B*-1.36428 to 1.40608; *C*-1.39860 to 1.43830; *D*-1.43620 to 1.47562; *E*-1.47320 to 1.51335; *F*-1.50969 to 1.54409. Prism *A* is the standard to which the values in the table below apply. For the other prisms (*B* to *F*) the index of refraction is not standardized as between different manufacturers nor for different lots issued by the same manufacturer. For these prisms (*B* to *F*) it is necessary to use the table supplied with any particular instrument and impossible to publish any conversion tables which would be universally applicable.

Example: Scale division 25.1 on prism *A* corresponds to the refractive index $n_D = 1.33705 + 0.000038 = 1.33709$.

Scale Division	n_D	Scale Division	n_D	Scale Division	n_D
-5	1.32539	33	1.34010	70	1.35388
-4	2578	34	4048	71	5425
-3	2618			72	5461
-2	2657	35	4085	73	5497
-1	2695	36	4124	74	5533
0	2736	37	4162		
1	2775	38	4199	75	5569
2	2814	39	4237	76	5606
3	2854			77	5642
4	2893	40	4275	78	5678
		41	4313	79	5714
5	2932	42	4350		
6	2971	43	4388	80	5750
7	3010	44	4426	81	5785
8	3049			82	5822
9	3087	45	4463	83	5858
		46	4500	84	5894
10	3126	47	4537		
11	3165	48	4575	85	5930
12	3204	49	4612	86	5966
13	3242			87	6002
14	3281	50	4650	88	6038
		51	4687	89	6074
15	3320	52	4724		
16	3358	53	4761	90	6109
17	3397	54	4798	91	6145
18	3435			92	6181
19	3474	55	4836	93	6217
		56	4873	94	6252
20	3513	57	4910		
21	3551	58	4947	95	6287
22	3590	59	4984	96	6323
23	3628			97	6359
24	3667	60	5021	98	6394
		61	5058	99	6429
25	3705	62	5095		
26	3743	63	5132	100	6464
27	3781	64	5169	101	6500
28	3820			102	6535
29	3858	65	5205	103	6570
		66	5242	104	6605
30	3896	67	5279		
31	3934	68	5316	105	6640
32	3972	69	5352		

REFRACTIVE INDEX OF AQUEOUS ALCOHOL SOLUTIONS

The table below gives the readings of the Zeiss Immersion Refractometer for various concentrations of ethyl alcohol in water. The values were calculated by B. H. St. John from the data of Doroshevskii and Dvorzhanchik. Reprinted by permission from the Official and Tentative Methods of Analysis, 3d Edition (1930), published by The Association of Official Agricultural Chemists at Washington, D. C.

Scale Reading	20°C.		23°C.		25°C.	
	% by volume	% by weight	% by volume	% by weight	% by volume	% by weight
13.2	0.00	0.00
13.4	0.18	0.14
13.6	0.35	0.28
13.8	0.10	0.08	0.53	0.42
14.0	0.28	0.22	0.70	0.56
14.2	0.45	0.36	0.88	0.70
14.4	0.63	0.50	1.06	0.85
14.6	0.16	0.13	0.80	0.64	1.24	0.99
14.8	0.34	0.27	0.98	0.78	1.40	1.11
15.0	0.52	0.41	1.16	0.92	1.55	1.23
15.2	0.69	0.55	1.32	1.05	1.71	1.36
15.4	0.85	0.68	1.47	1.17	1.86	1.48
15.6	1.03	0.82	1.62	1.29	2.01	1.60
15.8	1.21	0.96	1.77	1.41	2.17	1.72
16.0	1.36	1.08	1.92	1.53	2.33	1.85
16.2	1.51	1.20	2.08	1.65	2.48	1.97
16.4	1.66	1.32	2.24	1.78	2.62	2.09
16.6	1.81	1.44	2.39	1.90	2.77	2.21
16.8	1.96	1.56	2.53	2.02	2.92	2.33
17.0	2.11	1.68	2.69	2.14	3.06	2.44
17.2	2.26	1.80	2.82	2.25	3.21	2.56
17.4	2.41	1.92	2.97	2.37	3.36	2.68
17.6	2.56	2.04	3.12	2.49	3.51	2.80
17.8	2.70	2.15	3.27	2.61	3.66	2.92
18.0	2.85	2.27	3.42	2.73	3.81	3.04
18.2	3.00	2.39	3.57	2.85	3.96	3.16
18.4	3.15	2.51	3.71	2.96	4.11	3.28
18.6	3.30	2.63	3.86	3.08	4.26	3.40
18.8	3.45	2.75	4.01	3.20	4.41	3.52
19.0	3.59	2.86	4.16	3.32	4.56	3.64
19.2	3.73	2.98	4.31	3.44	4.70	3.76
19.4	3.88	3.10	4.45	3.56	4.85	3.88
19.6	4.03	3.22	4.61	3.68	5.00	4.00
19.8	4.17	3.33	4.75	3.80	5.15	4.12
20.0	4.32	3.45	4.90	3.92	5.29	4.23
20.2	4.47	3.57	5.05	4.04	5.44	4.35
20.4	4.61	3.68	5.20	4.16	5.58	4.47
20.6	4.75	3.80	5.34	4.27	5.72	4.58
20.8	4.90	3.92	5.48	4.39	5.87	4.70
21.0	5.04	4.03	5.62	4.50	6.02	4.81
21.2	5.19	4.15	5.77	4.62	6.16	4.93
21.4	5.33	4.26	5.91	4.73	6.30	5.05
21.6	5.47	4.38	6.06	4.85	6.44	5.16
21.8	5.61	4.49	6.20	4.97	6.59	5.28
22.0	5.76	4.61	6.34	5.08	6.73	5.39
22.2	5.90	4.72	6.49	5.20	6.87	5.51
22.4	6.05	4.84	6.63	5.31	7.01	5.62
22.6	6.19	4.95	6.77	5.43	7.16	5.74
22.8	6.33	5.07	6.91	5.54	7.31	5.86
23.0	6.47	5.18	7.06	5.66	7.45	5.97
23.2	6.61	5.30	7.20	5.77	7.59	6.08
23.4	6.75	5.41	7.34	5.89	7.73	6.20
23.6	6.90	5.53	7.48	6.00	7.87	6.31
23.8	7.04	5.64	7.62	6.11	8.00	6.42

REFRACTIVE INDEX—ALCOHOL.

Scale Reading	20°C.		23°C.		25°C.	
	% by volume	% by weight	% by volume	% by weight	% by volume	% by weight
24.0	7.18	5.76	7.76	6.22	8.14	6.53
24.2	7.32	5.87	7.90	6.34	8.28	6.65
24.4	7.46	5.99	8.04	6.45	8.42	6.76
24.6	7.60	6.10	8.17	6.56	8.55	6.87
24.8	7.74	6.21	8.31	6.67	8.69	6.98
25.0	7.88	6.32	8.45	6.79	8.84	7.10
25.2	8.01	6.43	8.59	6.90	8.98	7.21
25.4	8.14	6.54	8.73	7.01	9.12	7.33
25.6	8.28	6.65	8.86	7.12	9.26	7.44
25.8	8.42	6.76	9.00	7.23	9.39	7.55
26.0	8.55	6.87	9.14	7.35	9.53	7.67
26.2	8.69	6.95	9.28	7.46	9.67	7.78
26.4	8.82	7.09	9.42	7.57	9.81	7.90
26.6	8.96	7.20	9.55	7.68	9.95	8.01
26.8	9.10	7.31	9.69	7.79	10.09	8.12
27.0	9.23	7.42	9.83	7.91	10.23	8.24
27.2	9.37	7.54	9.97	8.02	10.37	8.35
27.4	9.51	7.65	10.10	8.13	10.51	8.46
27.6	9.65	7.76	10.24	8.24	10.65	8.57
27.8	9.79	7.87	10.38	8.35	10.79	8.69
28.0	9.92	7.98	10.51	8.46	10.93	8.80
28.2	10.06	8.09	10.65	8.58	11.06	8.91
28.4	10.19	8.20	10.79	8.69	11.20	9.02
28.6	10.32	8.31	10.93	8.80	11.33	9.13
28.8	10.46	8.42	11.06	8.91	11.47	9.24
29.0	10.59	8.53	11.20	9.02	11.61	9.35
29.2	10.73	8.64	11.33	9.13	11.75	9.47
29.4	10.86	8.74	11.47	9.24	11.88	9.58
29.6	10.99	8.85	11.60	9.35	12.01	9.69
29.8	11.12	8.96	11.74	9.46	12.15	9.80
30.0	11.26	9.07	11.87	9.57	12.29	9.91
30.2	11.38	9.18	12.00	9.68	12.42	10.02
30.4	11.51	9.28	12.13	9.79	12.56	10.13
30.6	11.64	9.39	12.27	9.90	12.70	10.24
30.8	11.78	9.50	12.40	10.01	12.84	10.35
31.0	11.91	9.60	12.54	10.12	12.97	10.47
31.2	12.04	9.71	12.67	10.23	13.11	10.58
31.4	12.17	9.82	12.81	10.34	13.24	10.69
31.6	12.30	9.92	12.94	10.45	13.37	10.80
31.8	12.43	10.03	13.07	10.55	13.51	10.91
32.0	12.57	10.14	13.20	10.66	13.64	11.02
32.2	12.70	10.25	13.34	10.77	13.77	11.13
32.4	12.83	10.35	13.47	10.88	13.91	11.24
32.6	12.96	10.46	13.60	10.99	14.04	11.35
32.8	13.09	10.57	13.73	11.10	14.17	11.46
33.0	13.22	10.68	13.86	11.21	14.31	11.57
33.2	13.35	10.79	13.99	11.31	14.44	11.68
33.4	13.48	10.89	14.13	11.42	14.58	11.79
33.6	13.61	11.00	14.26	11.53	14.71	11.90
33.8	13.74	11.10	14.39	11.64	14.85	12.01
34.0	13.86	11.21	14.52	11.75	14.98	12.12
34.2	13.99	11.31	14.65	11.85	15.11	12.23
34.4	14.12	11.41	14.78	11.96	15.25	12.34
34.6	14.25	11.52	14.91	12.07	15.38	12.45
34.8	14.37	11.62	15.05	12.18	15.51	12.56
35.0	14.50	11.73	15.18	12.28	15.65	12.67
35.2	14.62	11.83	15.31	12.39	15.78	12.78
35.4	14.75	11.93	15.44	12.50	15.91	12.89
35.6	14.87	12.04	15.56	12.60	16.05	13.00
35.8	15.00	12.14	15.69	12.71	16.18	13.11

REFRACTIVE INDEX—ALCOHOL

Scale Reading	20°C.		23°C.		25°C.	
	% by volume	% by weight	% by volume	% by weight	% by volume	% by weight
36.0	15.13	12.24	15.82	12.82	16.31	13.21
36.2	15.25	12.35	15.95	12.92	16.44	13.32
36.4	15.38	12.45	16.08	13.03	16.56	13.43
36.6	15.51	12.56	16.21	13.14	16.69	13.53
36.8	15.63	12.66	16.34	13.24	16.82	13.64
37.0	15.76	12.77	16.47	13.35	16.95	13.75
37.2	15.89	12.87	16.60	13.45	17.08	13.86
37.4	16.01	12.97	16.72	13.56	17.21	13.96
37.6	16.14	13.08	16.85	13.66	17.34	14.07
37.8	16.26	13.18	16.98	13.77	17.46	14.17
38.0	16.39	13.28	17.11	13.87	17.59	14.28
38.2	16.51	13.38	17.23	13.98	17.72	14.38
38.4	16.64	13.49	17.36	14.08	17.85	14.49
38.6	16.76	13.59	17.48	14.19	17.97	14.59
38.8	16.89	13.69	17.61	14.29	18.10	14.70
39.0	17.01	13.79	17.74	14.40	18.23	14.80
39.2	17.14	13.90	17.86	14.50	18.35	14.91
39.4	17.26	14.00	17.99	14.60	18.48	15.01
39.6	17.39	14.10	18.11	14.71	18.61	15.12
39.8	17.51	14.21	18.24	14.81	18.73	15.22
40.0	17.63	14.31	18.36	14.92	18.86	15.32
40.2	17.76	14.41	18.49	15.02	18.99	15.43
40.4	17.88	14.51	18.61	15.12	19.11	15.53
40.6	18.01	14.62	18.74	15.23	19.24	15.64
40.8	18.13	14.72	18.86	15.33	19.37	15.74
41.0	18.25	14.82	18.99	15.43	19.49	15.85
41.2	18.37	14.92	19.11	15.53	19.62	15.95
41.4	18.50	15.03	19.24	15.64	19.75	16.06
41.6	18.62	15.13	19.36	15.74	19.87	16.16
41.8	18.74	15.23	19.48	15.84	20.00	16.27
42.0	18.87	15.33	19.61	15.94	20.13	16.37
42.2	18.99	15.43	19.73	16.05	20.25	16.48
42.4	19.11	15.53	19.86	16.15	20.38	16.58
42.6	19.23	15.63	19.98	16.25	20.50	16.69
42.8	19.36	15.74	20.10	16.35	20.63	16.79
43.0	19.48	15.84	20.23	16.46	20.75	16.90
43.2	19.60	15.94	20.35	16.56	20.88	17.00
43.4	19.72	16.04	20.47	16.66	21.01	17.10
43.6	19.85	16.14	20.60	16.76	21.13	17.21
43.8	19.97	16.24	20.72	16.87	21.25	17.31
44.0	20.09	16.34	20.84	16.97	21.38	17.41
44.2	20.21	16.44	20.96	17.07	21.50	17.52
44.4	20.33	16.55	21.09	17.17	21.63	17.62
44.6	20.45	16.65	21.21	17.28	21.75	17.73
44.8	20.58	16.75	21.33	17.38	21.88	17.83
45.0	20.70	16.85	21.45	17.48	22.00	17.93
45.2	20.82	16.95	21.58	17.58	22.13	18.04
45.4	20.94	17.05	21.70	17.68	22.25	18.14
45.6	21.06	17.15	21.82	17.79	22.38	18.25
45.8	21.18	17.25	21.94	17.89	22.51	18.36
45.0	21.30	17.35	22.07	17.99	22.64	18.47
45.2	21.42	17.45	22.19	18.09	22.76	18.57
45.4	21.54	17.55	22.32	18.20	22.89	18.68
45.6	21.66	17.65	22.44	18.30	23.02	18.79
45.8	21.78	17.75	22.57	18.41	23.15	18.90
47.0	21.90	17.85	22.69	18.51	23.28	19.00
47.2	22.02	17.95	22.82	18.62	23.41	19.11
47.4	22.15	18.06	22.94	18.72	23.54	19.22
47.6	22.27	18.16	23.07	18.83	23.67	19.33
47.8	22.39	18.26	23.20	18.93	23.80	19.43

REFRACTIVE INDEX—ALCOHOL

Scale Reading	20°C.		23°C.		25°C.	
	% by volume	% by weight	% by volume	% by weight	% by volume	% by weight
48.0	22.51	18.36	23.32	19.04	23.93	19.54
48.2	22.63	18.46	23.45	19.14	24.06	19.65
48.4	22.75	18.56	23.58	19.25	24.19	19.76
48.6	22.87	18.66	23.71	19.36	24.32	19.87
48.8	22.99	18.76	23.83	19.47	24.45	19.98
49.0	23.12	18.86	23.96	19.57	24.59	20.09
49.2	23.24	18.96	24.09	19.68	24.72	20.20
49.4	23.36	19.07	24.22	19.79	24.85	20.31
49.6	23.48	19.17	24.35	19.89	24.98	20.42
49.8	23.61	19.27	24.48	20.00	25.11	20.54
50.0	23.73	19.38	24.61	20.11	25.25	20.65
50.2	23.85	19.48	24.74	20.22	25.38	20.76
50.4	23.98	19.58	24.86	20.33	25.51	20.87
50.6	24.10	19.69	24.99	20.44	25.65	20.98
50.8	24.22	19.79	25.12	20.55	25.78	21.10
51.0	24.35	19.89	25.25	20.66	25.91	21.21
51.2	24.47	20.00	25.38	20.77	26.05	21.32
51.4	24.59	20.10	25.51	20.87	26.18	21.44
51.6	24.72	20.20	25.64	20.98	26.32	21.55
51.8	24.84	20.31	25.77	21.09	26.45	21.66
52.0	24.96	20.41	25.90	21.20	26.59	21.78
52.2	25.09	20.52	26.03	21.31	26.72	21.89
52.4	25.21	20.62	26.16	21.42	26.86	22.01
52.6	25.34	20.72	26.29	21.53	26.99	22.12
52.8	25.46	20.83	26.42	21.64	27.13	22.24
53.0	25.59	20.93	26.56	21.75	27.27	22.35
53.2	25.71	21.04	26.69	21.86	27.40	22.47
53.4	25.84	21.14	26.82	21.97	27.54	22.58
53.6	25.96	21.25	26.95	22.08	27.67	22.70
53.8	26.09	21.36	27.08	22.20	27.81	22.81
54.0	26.22	21.47	27.21	22.31	27.95	22.93
54.2	26.34	21.57	27.35	22.42	28.08	23.04
54.4	26.47	21.68	27.48	22.53	28.22	23.16
54.6	26.59	21.79	27.61	22.65	28.36	23.27
54.8	26.72	21.90	27.75	22.76	28.49	23.39
55.0	26.85	22.00	27.88	22.87	28.63	23.51
55.2	26.97	22.11	28.01	22.98	28.77	23.62
55.4	27.10	22.21	28.15	23.10	28.90	23.74
55.6	27.23	22.32	28.28	23.21	29.04	23.86
55.8	27.35	22.42	28.41	23.32	29.18	23.97
56.0	27.48	22.53	28.54	23.43	29.31	24.09
56.2	27.60	22.64	28.68	23.54	29.45	24.20
56.4	27.73	22.74	28.81	23.66	29.58	24.32
56.6	27.85	22.85	28.94	23.77	29.72	24.43
56.8	27.98	22.95	29.07	23.88	29.86	24.55
57.0	28.10	23.06	29.20	23.99	29.99	24.66
57.2	28.23	23.17	29.34	24.11	30.13	24.78
57.4	28.35	23.27	29.47	24.22	30.27	24.90
57.6	28.48	23.38	29.60	24.33	30.41	25.01
57.8	28.60	23.49	29.73	24.44	30.55	25.13
58.0	28.73	23.59	29.87	24.55	30.69	25.25
58.2	28.85	23.70	29.99	24.66	30.83	25.37
58.4	28.98	23.81	30.13	24.78	30.97	25.49
58.6	29.11	23.91	30.26	24.89	31.11	25.61
58.8	29.23	24.02	30.40	25.00	31.25	25.73
59.0	29.36	24.13	30.53	25.12	31.40	25.86
59.2	29.49	24.24	30.67	25.24	31.54	25.98
59.4	29.61	24.34	30.81	25.36	31.68	26.10
59.6	29.74	24.45	30.94	25.47	31.83	26.23
59.8	29.87	24.56	31.08	25.59	31.97	26.35

REFRACTIVE INDEX—ALCOHOL

Scale Reading	20°C.		23°C.		25°C.	
	% by volume	% by weight	% by volume	% by weight	% by volume	% by weight
60.0	29.99	24.67	31.22	25.71	32.12	26.48
60.2	30.12	24.77	31.36	25.83	32.27	26.61
60.4	30.25	24.88	31.50	25.95	32.41	26.73
60.6	30.38	24.99	31.64	26.07	32.56	26.86
60.8	30.51	25.10	31.78	26.19	32.71	26.99
61.0	30.64	25.21	31.92	26.31	32.86	27.12
61.2	30.77	25.32	32.06	26.43	33.01	27.24
61.4	30.90	25.44	32.20	26.55	33.16	27.37
61.6	31.03	25.55	32.34	26.67	33.31	27.50
61.8	31.16	25.66	32.49	26.79	33.46	27.63
62.0	31.29	25.77	32.63	26.92	33.60	27.76
62.2	31.43	25.88	32.77	27.04	33.75	27.88
62.4	31.56	25.99	32.91	27.16	33.90	28.01
62.6	31.69	26.11	33.06	27.29	34.05	28.15
62.8	31.83	26.23	33.20	27.41	34.21	28.28
63.0	31.96	26.35	33.35	27.54	34.36	28.42
63.2	32.10	26.46	33.50	27.66	34.52	28.55
63.4	32.23	26.58	33.64	27.79	34.67	28.69
63.6	32.37	26.70	33.79	27.91	34.83	28.82
63.8	32.51	26.82	33.93	28.04	34.98	28.96
64.0	32.65	26.94	34.08	28.17	35.15	29.10
64.2	32.79	27.05	34.23	28.30	35.31	29.24
64.4	32.92	27.17	34.39	28.43	35.48	29.38
64.6	33.06	27.29	34.54	28.57	35.64	29.52
64.8	33.20	27.41	34.69	28.70	35.80	29.67
65.0	33.34	27.53	34.84	28.83	35.97	29.81
65.2	33.48	27.65	34.99	28.96	36.13	29.95
65.4	33.62	27.77	35.15	29.10	36.30	30.10
65.6	33.76	27.89	35.30	29.23	36.46	30.24
65.8	33.90	28.01	35.46	29.37	36.63	30.39
66.0	34.04	28.13	35.62	29.51	36.79	30.54
66.2	34.18	28.25	35.77	29.64	36.96	30.68
66.4	34.33	28.38	35.93	29.78	37.13	30.83
66.6	34.47	28.51	36.09	29.92	37.30	30.98
66.8	34.62	28.64	36.25	30.06	37.48	31.13
67.0	34.76	28.76	36.41	30.20	37.65	31.28
67.2	34.91	28.89	36.57	30.34	37.83	31.44
67.4	35.05	29.01	36.73	30.49	38.00	31.59
67.6	35.20	29.14	36.90	30.63	38.18	31.74
67.8	35.35	29.27	37.06	30.77	38.35	31.89
68.0	35.50	29.41	37.23	30.91	38.53	32.05
68.2	35.65	29.54	37.39	31.06	38.70	32.21
68.4	35.80	29.67	37.56	31.21	38.88	32.37
68.6	35.95	29.80	37.73	31.35	39.06	32.53
68.8	36.10	29.93	37.90	31.50	39.24	32.69
69.0	36.25	30.06	38.07	31.65	39.43	32.86
69.2	36.41	30.20	38.24	31.79	39.61	33.02
69.4	36.56	30.33	38.41	31.94	39.80	33.18
69.6	36.72	30.47	38.58	32.09	39.98	33.34
69.8	36.87	30.61	38.75	32.25	40.17	33.51
70.0	37.02	30.74	38.92	32.41	40.35	33.67
70.2	37.19	30.88	39.10	32.57	40.53	33.84
70.4	37.35	31.01	39.28	32.72	40.72	34.00
70.6	37.51	31.16	39.46	32.88	40.90	34.17
70.8	37.67	31.30	39.64	33.04	41.08	34.33
71.0	37.83	31.44	39.82	33.20	41.27	34.50
71.2	37.99	31.59	40.00	33.36	41.46	34.67
71.4	38.16	31.73	40.18	33.52	41.64	34.83
71.6	38.32	31.87	40.36	33.68	41.83	35.00
71.8	38.49	32.01	40.54	33.84	42.02	35.17

REFRACTIVE INDEX—ALCOHOL

Scale Reading	20°C.		23°C.		25°C.	
	% by volume	% by weight	% by volume	% by weight	% by volume	% by weight
72.0	38.65	32.17	40.72	34.00	42.21	35.34
72.2	38.82	32.32	40.90	34.16	42.40	35.51
72.4	38.98	32.47	41.08	34.33	42.58	35.68
72.6	39.16	32.62	41.26	34.49	42.77	35.85
72.8	39.33	32.77	41.45	34.65	42.95	36.02
73.0	39.50	32.92	41.63	34.81	43.15	36.18
73.2	39.67	33.07	41.81	34.98	43.33	36.35
73.4	39.84	33.22	41.99	35.14	43.52	36.52
73.6	40.02	33.37	42.17	35.31	43.70	36.68
73.8	40.19	33.53	42.35	35.47	43.89	36.85
74.0	40.36	33.68	42.54	35.64	44.08	37.02
74.2	40.53	33.83	42.72	35.80	44.28	37.20
74.4	40.71	33.98	42.91	35.97	44.48	37.38
74.6	40.88	34.14	43.09	36.13	44.67	37.56
74.8	41.05	34.30	43.28	36.30	44.87	37.75
75.0	41.23	34.46	43.46	36.47	45.07	37.93
75.2	41.41	34.61	43.65	36.64	45.29	38.12
75.4	41.58	34.77	43.83	36.81	45.50	38.31
75.6	41.76	34.93	44.02	36.97	45.71	38.50
75.8	41.94	35.09	44.21	37.15	45.92	38.69
76.0	42.12	35.25	44.41	37.33	46.12	38.88
76.2	42.30	35.41	44.60	37.50	46.34	39.08
76.4	42.48	35.58	44.80	37.68	46.56	39.29
76.6	42.66	35.74	44.99	37.85	46.78	39.49
76.8	42.84	35.90	45.19	38.04	47.00	39.69
77.0	43.02	36.07	45.40	38.23	47.23	39.90
77.2	43.20	36.24	45.60	38.42	47.45	40.11
77.4	43.39	36.40	45.81	38.60	47.68	40.32
77.6	43.57	36.57	46.01	38.79	47.91	40.54
77.8	43.76	36.74	46.23	38.98	48.14	40.75
78.0	43.94	36.91	46.45	39.18	48.37	40.97
78.2	44.13	37.08	46.67	39.39	48.60	41.18
78.4	44.32	37.25	46.89	39.59	48.84	41.40
78.6	44.51	37.42	47.11	39.80	49.07	41.62
78.8	44.70	37.59	47.34	40.00	49.31	41.84
79.0	44.89	37.76	47.56	40.21	49.54	42.05
79.2	45.08	37.94	47.79	40.42	49.77	42.27
79.4	45.28	38.11	48.01	40.63	50.01	42.49
79.6	45.48	38.30	48.23	40.84	50.24	42.71
79.8	45.68	38.48	48.46	41.05	50.48	42.93
80.0	45.88	38.67	48.69	41.26	50.71	43.15

5.3. TABLA DE DENSIDADES DE MEZCLAS DE C₂H₅OH Y H₂O A 20 °CTabla 3-113. Densidades de mezclas de C₂H₅OH y H₂O a 20 °C.

Porcentaje de alcohol en peso	Dígitos del %									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	0.99823	804	785	766	748	729	710	691	672	653
1	636	618	599	581	562	544	525	507	488	471
2	453	435	417	399	381	363	345	327	310	292
3	273	257	240	222	205	188	171	154	137	120
4	103	087	070	053	037	020	003	*38*	*57*	*54*
5	0.98936	921	905	890	874	859	843	827	811	796
6	780	763	749	734	718	703	688	673	658	642
7	627	612	597	582	567	553	538	523	508	493
8	475	460	449	434	419	404	389	374	360	345
9	321	315	301	287	273	258	244	229	215	201
10	167	172	158	144	130	117	103	089	075	061
11	047	030	019	006	*992	*976	*961	*945	*930	*915
12	0.97910	896	883	869	855	842	828	815	801	788
13	713	701	688	675	662	649	636	623	610	597
14	643	630	617	604	591	578	565	552	539	526
15	514	501	488	475	462	450	438	425	412	400
16	387	374	361	349	336	323	310	297	284	272
17	259	246	233	220	207	194	181	168	155	142
18	129	116	103	090	076	063	050	037	024	010
19	0.96997	984	971	957	944	931	917	904	891	877
20	854	850	837	823	810	796	783	769	756	742
21	729	715	702	688	675	661	647	634	620	606
22	592	578	564	551	537	523	509	495	481	467
23	453	439	425	411	396	382	368	354	340	325
24	312	297	283	269	254	240	225	211	195	182
25	168	155	139	124	109	094	080	065	050	035
26	020	008	*993	*975	*959	*944	*929	*914	*898	*883
27	0.95867	881	866	850	835	820	805	790	774	758
28	710	694	678	662	646	630	615	599	583	567
29	548	532	516	499	483	466	450	433	416	400
30	382	365	349	332	315	298	281	264	247	230
31	212	195	178	161	143	126	108	091	074	056
32	038	020	003	*985	*967	*950	*932	*914	*896	*878
33	0.94863	842	824	806	788	770	752	734	715	697
34	679	660	642	624	605	587	568	550	531	512

* Indica cambio en las dos primeras cifras.

Tabla 3-113. Densidades de mezclas de C₂H₅OH y H₂O a 20 °C -- (Continúa)

% de alcohol ca peso	Décimas del %									
	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
35	494	475	456	438	419	400	382	363	344	325
36	266	287	268	249	230	211	192	173	153	134
37	114	035	075	056	036	017	*997	*978	*958	*939
38	0.99919	899	879	859	840	820	800	780	760	740
39	720	700	680	660	640	620	599	579	559	539
40	518	498	478	458	437	417	396	376	356	335
41	314	294	273	253	232	212	191	170	149	129
42	107	086	065	044	023	002	*981	*960	*939	*918
43	0.92897	818	855	834	812	791	770	749	728	707
44	685	664	642	621	600	579	557	536	515	493
45	472	450	429	408	386	365	343	322	300	279
46	257	235	214	193	171	150	128	106	185	063
47	0.91823	041	019	*997	*976	*952	*930	*909	*887	*865
48	804	881	760	758	736	714	692	670	648	626
49	604	582	560	538	516	494	472	450	428	406
50	0.91364	361	339	317	295	272	250	228	206	183
51	160	138	116	095	073	049	026	004	*981	*959
52	0.90936	914	891	869	846	824	801	779	756	734
53	711	689	666	644	621	598	576	553	531	508
54	485	463	440	417	395	372	349	327	304	281
55	258	236	213	190	167	143	122	099	876	654
56	0.81	008	*985	*962	*939	*917	*894	*871	*848	*825
57	0.80075	780	757	734	711	688	665	643	620	597
58	574	551	528	505	482	459	436	413	390	367
59	344	321	298	275	252	229	206	183	160	137
60	113	090	067	044	021	*998	*975	*952	*928	*905
61	0.88881	859	836	812	789	766	743	720	696	673
62	650	626	603	580	557	533	510	487	463	440
63	417	393	370	347	323	300	277	253	230	206
64	183	160	136	113	089	066	042	019	*995	*972
65	0.87248	925	901	878	854	831	807	784	760	737
66	713	689	666	642	619	595	572	548	524	501
67	477	454	430	406	383	359	332	308	283	260
68	241	218	194	170	147	123	099	075	052	028
69	0.84	*961	*957	*931	*909	*885	*862	*838	*814	*790
70	0.86766	742	718	694	671	647	623	599	575	551
71	527	503	479	455	431	407	383	359	335	311
72	287	263	239	215	191	167	143	119	095	071
73	0.83806	071	*998	*974	*951	*928	*902	*878	*854	*830
74	731	757	733	709	685	661	636	612	588	564
75	564	540	515	491	467	443	419	394	370	346
76	322	297	273	249	225	200	176	152	128	104
77	0.79	055	031	006	*982	*956	*933	*909	*884	*860
78	0.84855	811	787	762	738	713	689	664	640	615
79	590	566	541	517	492	467	443	418	393	369
80	344	319	294	270	245	220	196	171	146	121
81	0.96	072	047	022	*997	*972	*947	*921	*896	*871
82	0.83848	823	798	773	748	723	698	673	648	623
83	594	574	549	523	498	473	448	423	398	373
84	348	323	297	272	247	222	196	171	146	120
85	0.93	070	044	019	*994	*968	*943	*917	*892	*866
86	0.87840	815	789	763	738	712	686	660	635	609
87	583	557	531	505	479	453	427	401	375	349
88	323	297	271	245	219	193	167	140	114	088
89	0.82	033	009	*983	*956	*930	*903	*877	*850	*824
90	0.81797	710	744	717	690	664	637	610	583	556
91	529	502	475	448	421	394	366	339	312	285
92	297	269	243	215	188	160	133	106	078	050
93	0.80583	575	529	490	451	412	373	334	295	256
94	705	677	649	621	593	565	537	509	480	452
95	424	395	367	338	310	281	253	224	195	166
96	138	109	080	051	022	*993	*963	*934	*905	*875
97	0.79846	816	787	757	727	696	666	636	606	576
98	547	517	487	456	426	396	365	335	305	274
99	243	213	182	151	120	089	057	028	*997	*966
100	0.78924									

* Indica cambio en las dos primeras cifras.

APÉNDICE A CÁLCULOS

A.1. Fórmulas para el cálculo del % de conversión de azúcares en la hidrólisis y % de consumo de azúcares en la fermentación

Para los cálculos reportados en los cuadros 4.6 y 4.14 del capítulo de Resultados y discusión se usaron las siguientes fórmulas:

$$1. \quad \begin{array}{l} \text{Peso experimental de} \\ \text{azúcares reductores} \\ \text{en la solución (g)} \end{array} = \begin{array}{l} \text{Concentración de} \\ \text{azúcares en la} \\ \text{solución filtrada} \end{array} \left(\frac{\text{g}}{100 \text{ mL}} \right) \times \begin{array}{l} \text{Volumen de} \\ \text{solución} \\ \text{filtrada (mL)} \end{array}$$

$$2. \quad \text{Peso teórico de azúcares} = (\text{peso de camote}) \times 26,14 \%$$

El valor de 26,14 % para los carbohidratos contenidos en el camote se obtuvo de la composición química del camote, se asume que dicha cantidad de carbohidratos compuesta por almidón, dextrinas y azúcares se transformará en su totalidad a azúcares al final de la hidrólisis.

$$3. \quad \begin{array}{l} \% \text{ de Conversión} \\ \text{a azúcares} \\ \text{en la hidrólisis} \end{array} = \frac{\begin{array}{l} \text{Peso experimental de azúcares} \\ \text{reductores en la solución (g)} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{Peso teórico de azúcares} \\ \text{reductores en la solución (g)} \end{array}} \times 100$$

$$4. \quad \begin{array}{l} \text{Peso de azúcares} \\ \text{consumidos en la} \\ \text{fermentación (g)} \end{array} = \begin{array}{l} \text{Peso de azúcares en} \\ \text{la solución al inicio} \\ \text{de la fermentación (g)} \end{array} - \begin{array}{l} \text{Peso de azúcares en} \\ \text{la solución al final} \\ \text{de la fermentación (g)} \end{array}$$

$$5. \quad \begin{array}{l} \% \text{ de consumo de azúcares} \\ \text{en la fermentación} \end{array} = \frac{\begin{array}{l} \text{Peso experimental de azúcares} \\ \text{consumidos (g)} \end{array}}{\begin{array}{l} \text{Peso experimental inicial de azúcares} \\ \text{reductores en la solución (g)} \end{array}} \times 100$$

A.2. Cálculo para determinar el Rendimiento en la Fermentación

Aplicaremos las siguientes ecuaciones para hallar el rendimiento fermentativo:

Al inicio de la Fermentación

$$\text{❖ Peso azúcar experimental (g)} = \text{Concentración de azúcar (g/100 mL)} * V_{\text{hidrolizado}} \text{ (ml)}$$

$$\text{Peso azúcar experimental (g)} = 25,3 \text{ (g/100 mL)} * 2500 \text{ mL} = 632,5 \text{ g.}$$

$$\text{❖ Peso de etanol esperado o teórico} = \text{Peso azúcar experimental (g)} * 0,511$$

$$\text{Peso de etanol esperado o teórico} = 632,5 \text{ (g)} * 0,511 = 323,21 \text{ (g)}$$

Al final de la Fermentación

$$\text{❖ Peso etanol experimental (g)} = \text{Concentración de etanol (g/100ml)} * V_{\text{fermentado}} \text{ (ml)}$$

$$\text{Peso etanol experimental (g)} = 11,67 \text{ (g/100 mL)} * 2500 \text{ mL} = 291,75 \text{ (g)}$$

Cálculo del Rendimiento

$$\text{Rendimiento} = \text{Peso etanol experimental (g)} / \text{Peso de etanol esperado (g)}$$

$$\text{Rendimiento} = (291,75 \text{ (g)} / 323,21 \text{ (g)}) * 100 = 90,27\%$$

A.3 Muestra de cálculos de los costos de procesamiento

Base: un kilogramo de camote morado pelado como materia prima bruta.

a) Costo de 1 kilo de materia prima S/. 0,20

b) Cálculo del costo de agua

- Cantidad de agua potable utilizada en el lavado:
Se realiza 2 lavados con 0,5 litro de agua por vez
Cantidad de agua a usar: 0,001 m³
- Cantidad de agua potable utilizada en el licuado:
Cantidad de agua a usar: 1 litro

c) Cantidad de agua destilada fría utilizada en el cultivo de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

Cantidad de agua a usar: 0,150 litro

d) Costos del total de agua a usar:

- Agua potable: 0,002 m³
Tarifa doméstica de uso de agua por m³: S/. 1,730
Costo total de uso de agua potable: S/. 0,00346
- Agua destilada: 0,150 litro
Tarifa comercial de agua destilada por litro: S/. 1,20
Costo total de uso de agua destilada: S/. 0,18

Costo total de uso de agua: S/. 0,00346 + S/. 0,18 = S/. 0,18346

e) Cálculo del costo de energía

Licuado de Materia Prima

Características:

- ✓ Capacidad: Vaso de vidrio refractario 1,25 L
- ✓ 50 / 60 Hz
- ✓ Voltaje = 220 V
- ✓ Potencia = 600 W

- ✓ Equipo de Licuado: Licuadora Oster Licuadora 4655
- ✓ Base de metal cromado
- ✓ Cuchillas de 4 aspas
- ✓ 3 Velocidades

Energía: Potencia x (tiempo de licuado)

Energía: 0,600 kW x (0,1667 horas de licuados)

Energía: 0,10002 kWh

Proceso de Hidrólisis

Características del Thermostato Marca Schutzart DIN 40050-IP20

- ✓ Rango de temperatura de trabajo= 20 a 110 °C
- ✓ Constancia de temperatura (+-K) = 0,2
- ✓ Potencia calorífica: 1200 W
- ✓ Volumen del baño = 7,94 L
- ✓ Ancho = 260 mm
- ✓ Alto = 220mm
- ✓ Largo = 540mm
- ✓ Alimentación (V; Hz) = 220; 50

Energía: Potencia x (tiempo de licuefacción)

Energía: 1,2 kW x (2,0 horas)

Energía: 2,4 kWh

Energía: Potencia x (tiempo de sacarificación)

Energía: 1,2 kW x (10 h)

Energía: 12 kWh

Proceso de Destilación

Característica del calentador

- ✓ Calentador para laboratorio, rango de temperatura de 0 °C a 110 °C
- ✓ Temperatura de trabajo: 90 °C
- ✓ Potencia: 220 Watts

Energía: Potencia x (tiempo de fermentación)

Energía: 0,220 kW x (04 horas)

Energía: 0,880 kWh

Cantidad total de energía a usar: 15,38002 kWh

Tarifa doméstica de uso de energía eléctrica por Kw-H: S/. 0,2515

Costo total de uso de energía: S/. 3,8681

Costo total de uso de energía: S/. 3,8681
--

f) Costos Totales:

Costo de materia prima bruta S/. 0,20

Costo de uso de agua S/. 0,18346

Costo de uso de energía S/. 3,8681

Costo total de proceso= S/. 4,2516/ Kg materia prima
