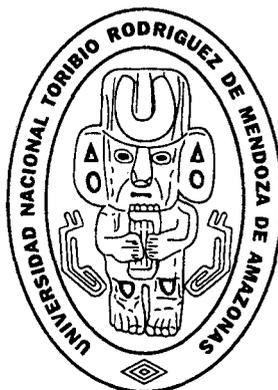


UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA
DE AMAZONAS

CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**“DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA
OBTENER ETANOL POR FERMENTACIÓN DEL ALMIDÓN
DE PAPA (*Solanum tuberosum*) VARIEDAD YUNGAY, DE LA
LOCALIDAD DE LEVANTO, PROVINCIA DE
CHACHAPOYAS, REGIÓN AMAZONAS”**

TESIS
para obtener el título profesional de:
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

**AUTORES: Br. NILTON CÉSAR CARRIÓN ABAD
Br. KEPLER HUAMÁN CALLIRGOS**

ASESOR: Ms.C. MIGUEL ÁNGEL BARRENA GURBILLON

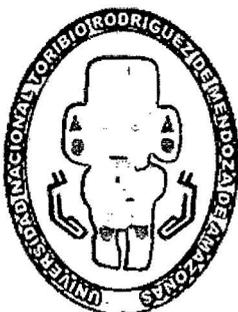
Chachapoyas - Amazonas - Perú

2008

Nº de Registro

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA
DE AMAZONAS**

CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



**DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA
OBTENER ETANOL POR FERMENTACIÓN DEL ALMIDÓN
DE PAPA (*Solanum tuberosum*) VARIEDAD YUNGAY, DE LA
LOCALIDAD DE LEVANTO, PROVINCIA DE
CHACHAPOYAS, REGIÓN AMAZONAS**

TESIS

**Para obtener el título profesional de
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

AUTORES: Br. NILTON CÉSAR CARRIÓN ABAD
Br. KEPLER HUAMÁN CALLIRGOS

ASESOR: Ms.C. MIGUEL ÁNGEL BARRENA GURBILLÓN

CHACHAPOYAS - AMAZONAS - PERÚ

2008

Nº de Registro.....

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA
DE AMAZONAS**

CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL



**DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA
OBTENER ETANOL POR FERMENTACIÓN DEL ALMIDÓN
DE PAPA (*Solanum tuberosum*) VARIEDAD YUNGAY, DE LA
LOCALIDAD DE LEVANTO, PROVINCIA DE
CHACHAPOYAS, REGIÓN AMAZONAS**

TESIS

Para obtener el título profesional de

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

AUTORES: Br. NILTON CÉSAR CARRIÓN ABAD
Br. KEPLER HUAMÁN CALLIRGOS

ASESOR: Ms.C. MIGUEL ÁNGEL BARRENA GURBILLÓN

CHACHAPOYAS - AMAZONAS - PERÚ

2008

DEDICATORIAS

Agradezco a mis padres
Filadelfo y Angelina por su
constante apoyo, estímulo y
logro de mis metas.

A mis queridos hermanos por
su apoyo incondicional.

A Filomena por su amor y que
siempre me brinda su apoyo
incondicionalmente. Gracias

KEPLER H.

A mi querida madre YOLANDA, por su amor, enseñanza y apoyo en todo instante de mi vida, para que se haga realidad uno de mis más caros anhelos. A ella dedico el presente trabajo de investigación, como muestra de mi eterno agradecimiento.

A mis dos hijos.

NILTON CÉSAR

AGRADECIMIENTOS

Al Ms.C. Miguel Ángel Barrena Gurbillón, con afecto y gratitud por su apoyo desinteresado en la acertada asesoría de la presente investigación.

Nuestro agradecimiento especial al Ing. Juan Manuel Garay Román, responsable del Laboratorio de Química de la UNAT – A, por facilitar la infraestructura, equipos y reactivos para realizar los experimentos.

A la profesora Blga. Luz Azucena Torres García, por brindarnos el cultivo stock de *Saccharomyces cerevisiae* MIT L-51.

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRIGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**

Dr. Manuel Alejandro Borja Alcalde
Presidente de la Comisión Organizadora

Dr. Víctor Hugo Chanduví Cornejo
Vicepresidente Académico de la Comisión Organizadora

Ing. Federico Raúl Sánchez Merino
Vicepresidente Administrativo de la Comisión Organizadora

Ms.C. Miguel Ángel Barrena Gurbillón
Responsable (e) de la Carrera Profesional de Ingeniería Agroindustrial

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS

El Docente de la UNAT-A que suscribe hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada “DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS ÓPTIMOS PARA OBTENER ETANOL POR FERMENTACIÓN DEL ALMIDÓN DE PAPA (*Solanum tuberosum*) VARIEDAD YUNGAY, DE LA LOCALIDAD DE LEVANTO, PROVINCIA DE CHACHAPOYAS, REGIÓN AMAZONAS” de los Tesistas egresados de la carrera profesional de Ingeniería Agroindustrial de la UNAT-A:

Br. Nilton César Carrión Abad

Br. Kepler Huamán Callirgos

El Docente de la UNAT-A que suscribe, da el visto bueno al informe final de la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de las observaciones dadas por el Jurado Evaluador, para su posterior sustentación.

Chachapoyas, 25 de abril del 2008



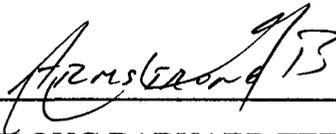
Ms.C. MIGUEL ÁNGEL BARRENA GURBILLÓN
Profesor Principal de la UNAT-Amazonas

El Jurado Evaluador ha sido designado según el Art. 25° del Reglamento para otorgamiento del Grado Académico de Bachiller y Título Profesional de Licenciado o su equivalente, el mismo que esta conformado por:



BLGA. ZOILA ROSA GUEVARA MUÑOZ

PRESIDENTE



Ms. C. ARMSTRONG BARNARD FERNANDEZ JERI

SECRETARIO



ING. ERICK ALDO AUQUÍVIN SILVA

VOCAL

Chachapoyas - 2008

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTO.....	iii
AUTORIDADES DE LA UNAT – A.....	iv
VºBº DEL ASESOR.....	v
JURADO EVALUADOR.....	vi
TABLA DE CONTENIDOS.....	vii
ÍNDICE DE TABLAS.....	ix
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS.....	x
INDICE DE GRÁFICAS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT.....	xiii
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
2.1 Material Biológico.....	8
2.1.1 Materia prima.....	8
2.1.2 Malta.....	8
2.1.3 Agente fermentativo.....	8
2.2 Preparación de la Malta.....	8
2.3 Biorreactores.....	10
2.4 Acondicionamiento de la materia prima.....	12
2.5 Preparación del medio base.....	12
2.6 Preparación del inóculo.....	13
2.7 Proceso fermentativo.....	13

2.8	Destilación – rectificación.....	14
2.9	Optimización de la producción de etanol.....	14
2.10	Análisis estadístico.....	16
III.	RESULTADOS.....	18
IV.	DISCUSIÓN.....	24
V.	CONCLUSIONES.....	26
VI.	RECOMENDACIONES.....	27
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	28
	ANEXOS.....	31

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1: Valores de las variables a evaluar con el diseño estadístico de Box-Behnken.	15
Tabla 2: Distribución de los valores de las tres variables independientes según el diseño de Box-Behnken.	16
Tabla 3: Composición química de la papa (<i>Solanum tuberosum</i>) Yungay.	18
Tabla 4: Composición química de la malta	18
Tabla 5: Rendimiento promedio de etanol aplicando el diseño estadístico de Box-Behnken.	19
Tabla 6: Coeficientes de regresión obtenidos con Statgraphics V.5.1; a partir de los datos de la Tabla 3, para concentración de etanol (g/L).	20
Tabla 7: Valores óptimos de las variables independientes.	21
Tabla 8: Parámetros del proceso de fermentación para producir etanol a partir de almidón de papa (<i>Solanum tuberosum</i>) variedad Yungay.	23
Tabla 9: Controles físicos y químicos del etanol rectificado.	23
Tabla 10: Determinación del porcentaje de etanol en una mezcla hidrolizada	37

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

	Pág.
Fotografía 1: Pesado de la materia prima	38
Fotografía 2: Rayado de la papa	38
Fotografía 3: Germinado de la malta	39
Fotografía 4: Secado de la malta	39
Fotografía 5: Sembrado de levadura en placa	40
Fotografía 6: Conteo de biomasa utilizando la cámara de Neubauer	40
Fotografía 7: Esterilización del mosto en autoclave	41
Fotografía 8: Hidrólisis del mosto	41
Fotografía 9: Determinación de azúcares reductores	42
Fotografía 10: Pesado de los nutrientes a utilizar en la fermentación	42
Fotografía 11: Fermentación del mosto	43
Fotografía 12: Destilación simple	43
Fotografía 13: Destilación fraccionada	44

ÍNDICE DE GRÁFICAS

	Pág.
Gráfica 1: Diagrama de flujo del proceso para obtener etanol a partir de la papa (<i>Solanum tuberosum</i>)	11
Gráfica 2: Superficie respuesta en función a los azúcares reductores – sulfato de amonio, a un tiempo constante de 72 horas. 16,1138 % vol. de etanol máximo.	22
Gráfica 3: Contornos de superficie de respuesta para determinar los valores óptimos de sulfato de amonio (180 mg/L) y azúcares reductores (20%), manteniendo constante el tiempo (72 horas).	22

RESUMEN

Se determinó a nivel de laboratorio, los parámetros para obtener etanol por fermentación del almidón de papa (*Solanum tuberosum*) variedad Yungay, de la localidad de Levanto, Región Amazonas. En la primera etapa experimental se evaluó el efecto de la concentración de enzimas existentes en la malta, sobre el almidón para convertirlo en azúcares reductores, además se consideró la concentración de sustrato y el tiempo de sacarificación. La hidrólisis del almidón a azúcares reductores se ve favorecida al utilizar 2,8 g de malta/10g de sustrato y la prueba de extracción se hizo con la relación 1:4 (g materia prima/g agua) y un tiempo de 24 h, habiéndose obtenido en promedio 330g de azúcares reductores a partir de 630g de papa y 176,4g de malta, lo que en rendimiento es 40,95% en 24 horas. La segunda etapa fue la fermentación alcohólica del sustrato hidrolizado, empleando una concentración de $6,4 \times 10^7$ células de *Saccharomyces cerevisiae*/mL de sustrato hidrolizado. Al evaluar el efecto de las concentraciones mediante el diseño de Box Behnken, se observó que la concentración de 20% de azúcares reductores, 180 mg de sulfato de amonio y un tiempo de 72 horas favorece la mayor producción de etanol que fue de 94,67 g/L de sustrato.

Palabras clave: almidón de papa, hidrólisis enzimática, producción de etanol, biotecnología.

ABSTRACT

It was determined at the laboratory, the parameters for ethanol by fermentation of potato starch (potato) variety Yungay, in the town of Levanto, Amazon Region. In the first pilot phase was assessed the effect of the concentration of enzymes in the malta, to convert starch into reducing sugars, also was considered the concentration of substrate and time sacarificación. The hydrolysis of starch to reducing sugars is facilitated by using 2,8 g malta/10g substrate and test mining was done with the ratio 1:4 (feedstock g / g water) and a time of 24 hours, having gained an average of 330 g of reducing sugars from 630 g potato and 176,4 g of malta, which in return is 40,95% within 24 hours. The second stage was the alcoholic fermentation substrate hydrolysate, using a concentration of $6,4 \times 10^7$ cells of *Saccharomyces cerevisiae* / mL substrate hydrolysate. In assessing the effect of mergers by designing Box Behnken, it was observed that the concentration of 20% of reducing sugars, 180 mg of ammonium sulphate and a time of 72 hours favors increased production of ethanol which was 94,67 g / L substrate.

Keywords: potato starch, enzymatic hydrolysis, ethanol production, biotechnology.

I. INTRODUCCIÓN

El uso mundial de la papa está trasladando el mercado de papas frescas y como alimento para ganado, hacia los productos procesados tales como papas fritas (hojuelas), papas prefritas (a la francesa), alcohol, papas congeladas y deshidratadas.

El procesamiento de la papa es el área de más rápido crecimiento dentro de la economía mundial de este tubérculo, tendencia que puede ser vista en países como Argentina, China, Colombia y Egipto (Moreno, 2000). La tendencia reciente en el procesamiento de la papa se concentra en almidón, alcohol, papa precocida en productos deshidratados (harinas, hojuelas, gránulos, conglomerados, tajadas secas y otros productos congelados derivados de la papa) y papa pelada (Estrada, 2000).

El cultivo de la papa que a lo largo de la historia ha ocupado un lugar trascendental en la alimentación humana, tuvo su origen cercano al Lago Titicaca, en la actual zona limítrofe de Perú y Bolivia. Con el correr del tiempo el hombre andino tuvo cientos de variedades, extendiendo el cultivo de papa por casi toda la región andina, ocupando las regiones altas de Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile. Esta época coincidió con la llegada de los españoles a Sudamérica, quienes introdujeron la papa a Europa a finales del siglo XVI, siendo dispersada posteriormente por todo el mundo, debido al intercambio comercial, constituyéndose así en un elemento muy importante para la dieta humana (Hawkes, 1994).

La papa tiene como principales componentes:

Hidratos de Carbono. La mayor parte de la materia seca del tubérculo se encuentra en forma de almidón, azúcares y otros polisacáridos. El 75% de la materia seca de la papa está compuesta por almidón. La fibra alimentaria representa 1-2% del total de la papa y se encuentra perfectamente en la piel. La concentración de azúcares simples es baja (0,1 – 0,7%) siendo los más importantes glucosa, fructosa y sacarosa (Vásquez, 1988).

Compuestos Nitrogenados. Constituyen el segundo componente de la papa, con 3 a 15% de la materia seca (estos se incrementan con la madurez del tubérculo). El valor de la proteína no se afecta significativamente al cocinar la papa. La mayoría de las proteínas se ubican en el cortex (zona inmediata debajo de la piel) y la médula (zona central). Como fracciones proteicas más abundantes se destacan las albúminas (49%) y globulinas (26%) seguidas de prolaminas (4,3%) y glutelinas (8,3%).

Lípidos. El porcentaje de lípidos o grasa cruda en la papa “en fresco” es muy bajo. No tienen importancia desde un punto de vista cuantitativo (0,1%) y se encuentran mayoritariamente en la piel.

Vitaminas. La papa contiene cantidades significativas de vitamina C (ácidos ascórbico y dehidroascórbico), además de otras vitaminas hidrosolubles como tiamina y vitamina B6. Las vitaminas solubles en aceite están presentes en pequeñas trazas.

Minerales. Posee potasio, especialmente en la piel, y cantidades moderadas de fósforo, cloro, azufre, magnesio y hierro.

Fenoles. La papa contiene un bajo porcentaje de compuestos fenólicos, la mayoría de los cuales se encuentra en su piel. Los fenoles afectan el ennegrecimiento de la papa. Las reacciones de aminoácidos y proteínas con hidratos de carbono, lípidos y fenoles oxidados, causan un deterioro de los alimentos durante su almacenamiento y procesamiento.

La papa tiene la siguiente taxonomía (NCBI, 2003)

Reino	:	Vegetal
División	:	Fanerógama
Subdivisión	:	Angiospermas
Clase	:	Dicotiledóneas
Subclase	:	Simpétala
Sección	:	carbohidratos
Orden	:	Tubifloríneas
Familia	:	Solanácea
Género	:	Solanum L.
Sección	:	Petota Dumortier
Especie	:	<i>Solanum tuberosum</i> L.

La papa Yungay (Saskia x Earline) x (Huagalina x Renacimiento), es un cultivo alimenticio típico de las tierras altas de los Andes, cuya calidad depende del microclima, altura, radiación solar y luminosidad de los ecosistemas donde se produce. Un programa de exportación de papa Yungay, procesada, beneficiaría directamente a pequeños agricultores, generando un mercado para sus excedentes de producción e

incrementándose de este modo la rentabilidad del producto al diversificar sus destinos (Fano y cols., 1988).

La actividad económica en las zonas altoandinas de la Región Amazonas, como Levanto, está basada principalmente en la agricultura teniendo la mayor área destinada al cultivo de la papa (variedad Yungay) cuya rentabilidad disminuye cuando existe una sobreproducción, afectando principalmente a los pequeños productores agropecuarios, muchos de los cuales no pueden llevar sus cosechas a los mercados (Sub Dirección de Agricultura).

La Región Amazonas, debido a su estratégica ubicación geográfica en la zona norte de la Cordillera de los Andes, posee una diversidad de microclimas que ha permitido el desarrollo de una variedad de tubérculos, entre los que se encuentra la papa (*Solanum tuberosum*), cuyo tubérculo es consumido por los pobladores en fresco, chuño y papas fritas; todas elaboradas artesanalmente, careciendo de otra forma de presentación y transformación. Actualmente, la papa presenta una sobreproducción debido a la falta de planificación de los agricultores, lo que provoca altos excedentes de producción.

Durante la cosecha, y en su traslado a los centros de acopio o a los mercados, es usual que el tubérculo sufra algún daño físico, además de daños por plagas; esto constituye las pérdidas postcosecha que se estiman en cerca de 15% (Ministerio de Agricultura, 2002). Los excedentes por lo general se destinan a la alimentación de animales e inclusive, un porcentaje de ellos se desecha. Una alternativa es aprovecharlos para generar un producto con mayor valor agregado; una posibilidad es la producción de alcohol (López, 1998; Meléndez, 2002).

La papa recién cosechada contiene 78% de agua, 18% de almidón, 2,2% de proteínas, 1% de cenizas (elementos inorgánicos) y 0,1% de grasas. Casi el 75% del peso seco son hidratos de carbono. La papa es importante fuente de almidón para la fabricación de adhesivos y alcohol (Treadway, 1984).

El almidón es la sustancia orgánica más ampliamente distribuida en la naturaleza; la celulosa forma parte del armazón de las plantas mientras que el almidón representa su reserva de hidratos de carbono, transformándolos por hidrólisis en glucosa. En las plantas existen tres clases de almidón: almidón de asimilación, transitorio y de reserva; el almidón de asimilación es aquel que ha de servir en la nutrición de la planta y el cual se encuentra en forma de almidón soluble. El almidón en el interior de la planta es transformado en azúcares por medio de la enzima diastasa; pasando por la fase de almidón soluble, el cual puede transformarse algunas veces en gránulos muy finos, formando así el almidón transitorio. El resto del almidón es transportado a los sitios de almacenamiento donde tiene como función servir de alimento para los brotes jóvenes; esto es llamado almidón de reserva (Linden, 1996).

El almidón es el hidrato de carbono más importante en la actividad humana por su función alimenticia y sus múltiples aplicaciones en la industria y el comercio. A diferencia de los almidones de cereales, que no requieren procesos industriales muy tecnificados, los almidones de raíces y tubérculos como la papa, yuca entre otros, son más fáciles de obtener en el medio rural, ya que solo requiere de molienda, tamizado, separación con agua, sedimentación y secado (García, 1998).

La hidrólisis del almidón es el paso inicial para obtener los azúcares que se pueden utilizar en la fermentación. Este proceso puede realizarse por vía ácida o enzimática, esta última consiste de varias etapas: gelatinización, dextrinización y sacarificación (Crueger & Crueger, 1989). Una vez obtenidos los azúcares a partir del almidón, estos se convierten en alcohol por medio de una fermentación anaerobia, utilizando la levadura *Saccharomyces cerevisiae*.

La utilización de enzimas en la industria presenta una serie de ventajas, la gran especificidad de acción que tienen hace que no se produzcan reacciones laterales imprevistas; durante el malteo se obtienen amilasas y amilopectinasas que convierten al almidón en azúcares fermentables y dextrinas durante la etapa de la hidrólisis

La hidrólisis es la reacción química donde el agua efectúa una doble descomposición con otro compuesto (el H^+ va a un componente y el OH^- va a otro). Este término puede aplicarse a reacciones donde un ácido se añade al agua en mayor o menor cantidad para acelerar la reacción; esta hidrólisis puede llevarse a cabo con ácidos inorgánicos, ácidos orgánicos o por acción enzimática, la cual es la más utilizada industrialmente (Fermena, 2000).

En la actualidad, el proceso más utilizado, para la obtención de etanol a partir de almidón, es el que realiza una hidrólisis previa para transformar este último a glucosa y, posteriormente, fermentar ésta a etanol mediante levaduras. Entre los cultivos no convencionales, la papa es uno de los más prometedores para la obtención de etanol en nuestro país, debido a su alto contenido de hidratos de carbono fácilmente fermentables,

la rusticidad de la planta y los altos rendimientos obtenidos. Dentro de este contexto se sitúa la presente investigación que se inclina al aprovechamiento del recurso agrícola, almidón de papa, como fuente para la producción de etanol.

Para hidrolizar el almidón de 10 g de papa se utiliza 2,8 g de malta, a esta mezcla se le adiciona 40 mL de agua destilada (Rafael, 1993). La malta son granos germinados de cebada cuya germinación ha sido detenida en su comienzo. La malta de cebada es la materia prima fundamental y preferida a otros cereales, pues el grano está revestido por una cáscara que protege el germen durante el malteado y evita que el grano pierda su contenido de almidón, elemento esencial en la posterior transformación. Además durante la filtración del mosto en la etapa de cocimiento, la cáscara sirve de lecho filtrante, facilitando de esta manera la separación del mosto de la parte sólida u orujo.

El objetivo del malteado es preparar y transformar las reservas nutritivas del grano a sustratos apropiados para la producción de etanol (Hornsey, 1999). La producción de malta implica: limpieza del grano, remojado, germinado, secado y limpieza de la malta.

En el presente trabajo de investigación se estudió, a nivel de laboratorio, la hidrólisis enzimática y la fermentación del almidón de la papa (*Solanum tuberosum*), a fin de determinar las mejores condiciones para producir etanol. Con este aporte se pretende desarrollar una tecnología para la obtención de etanol a partir del almidón de papa, que contribuya al desarrollo socioeconómico de los productores agropecuarios de la Región Amazonas.

II. MATERIAL Y MÉTODOS

2.1 Material Biológico

2.1.1 Materia prima

Se utilizó papa (*Solanum tuberosum*), de la variedad Yungay (Saskia x Earline) x (Huagalina x Renacimiento), procedente de la localidad de Levanto, Provincia de Chachapoyas, Región Amazonas.

2.1.2 Malta

Producida en la primera etapa de esta investigación a partir de la cebada proveniente de la localidad de María, Provincia de Luya, Región Amazonas.

2.1.3 Agente fermentativo

Para la fermentación se empleó la levadura *Saccharomyces cerevisiae* MIT L-51, aislada e identificada en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Trujillo.

2.2 Preparación de la Malta

La malta se preparó en las siguientes etapas:

Limpieza de granos: para eliminar todo tipo de impurezas de la cebada.

Remojo de los granos: en agua del caño para aumentar el contenido de humedad del grano. Se realizó en baldes de plástico de 4 litros de capacidad, en intervalos de 12 horas al cabo de los cuales se drenó el agua y se dejó al aire libre durante 10 horas. Luego se volvió a poner en remojo durante 4 horas en agua limpia. A continuación se eliminó el agua y se dejó de 6 a 8 horas los granos al aire libre. Este ciclo se repitió durante 36 horas. El remojo se realizó con el fin de romper el estado durmiente del grano y así activar las enzimas que se encargarán de romper el almidón y las proteínas en pequeñas estructuras fácilmente consumidas por las levaduras (Hough, 1990).

Germinación

La cebada remojada se extendió en una capa de un solo grano sobre una cama de aserrín dentro de una caja de cartón, se cubrió con una capa delgada de aserrín y se le roció agua para conservar la humedad. Esta etapa duró 12 días y se roció agua diariamente. El grano libera así las enzimas que se necesitarán en la maceración y la fermentación. Se dejó que las raicillas de la cebada se formen y se desarrollen pero sin llegar a brotar.

Secado y triturado de la malta

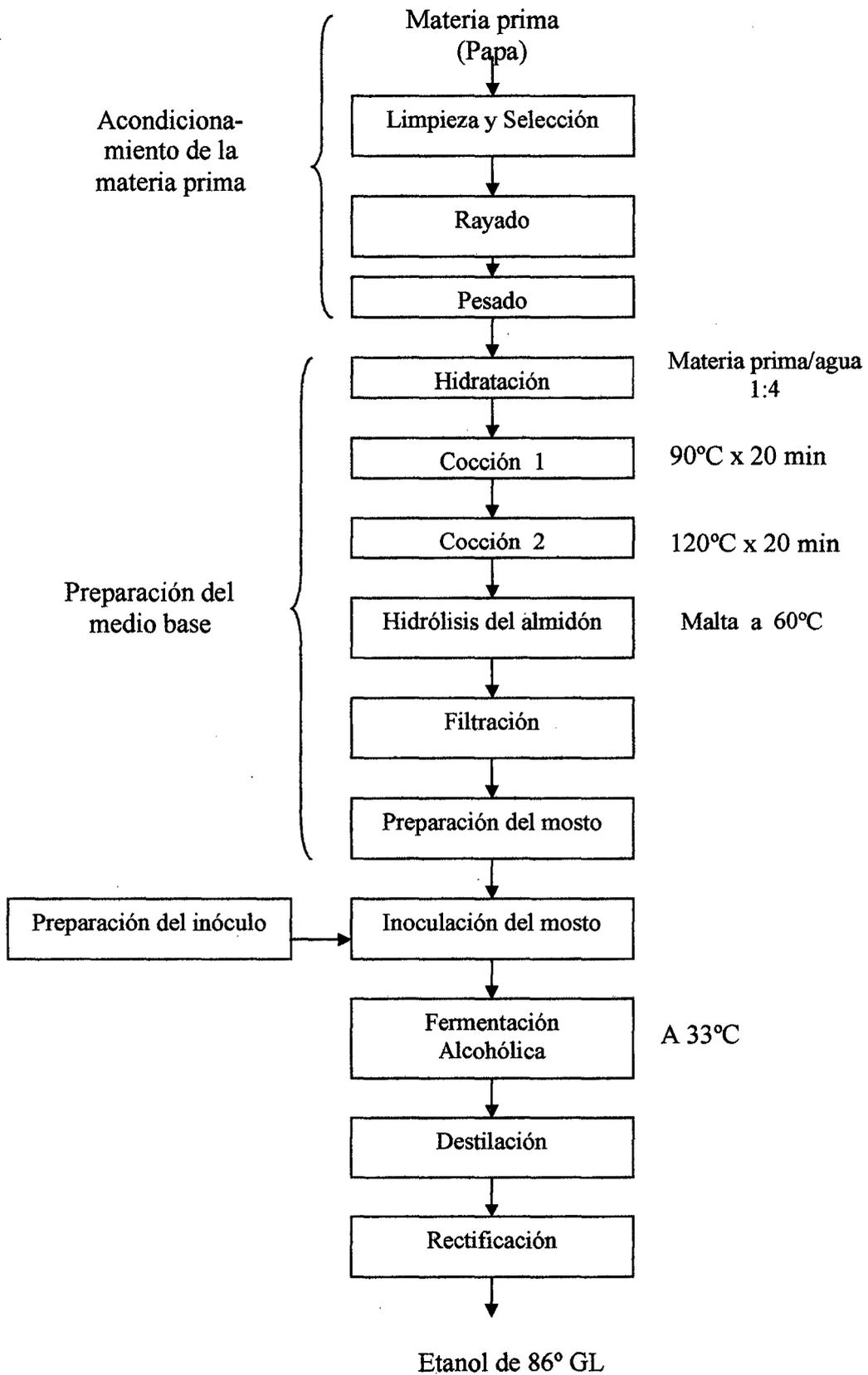
Luego de la germinación se secó los granos germinados en estufa a 50°C hasta llegar a 4% de humedad, de esta manera las enzimas desarrolladas quedan inactivas temporalmente. El secado de la malta permite también conservarla. El triturado de la malta se realizó en forma mecánica, mediante el uso de un molino sinfin, tratando de rasgar la cáscara de manera longitudinal y evitar excesiva

producción de harina, con ello se evitó la formación de pasta y se facilitó el filtrado. Se guardó envuelta en papel y dentro de una bolsa de polietileno.

2.3 Biorreactores

Se emplearon 15 biorreactores de 500 mL de capacidad, con las mismas características y proporciones geométricas. Los biorreactores fueron botellas de gaseosa descartables de plástico, a cuya tapa se le hizo un agujero por el que se pasó y aseguró una manguera de PVC de ¼” para permitir la salida del CO₂ producido en la fermentación, el extremo de la manguera fue introducido en el agua contenida en una botella para evitar la entrada de oxígeno del aire hacia el biorreactor.

En el presente trabajo de investigación se realizó, siguiendo la secuencia del diagrama de flujo del proceso mostrado en la gráfica 1.



Gráfica 1: Diagrama de flujo del proceso para obtener etanol a partir de la papa (*Solanum tuberosum*) Yungay.

2.4 Acondicionamiento de la materia prima

Las papas se lavaron con agua de caño, con la finalidad de eliminar la suciedad adherida y otras partículas extrañas. La selección de las papas se hizo en forma manual, seguidamente se las pasó por un rayador manual para obtener hilachas y maximizar el área de contacto.

2.5 Preparación del medio base

La producción de mosto empezó con la mezcla de 630 g de papa rayada con 2520 mL de agua, más la mitad de la malta a emplear (88,2 g); esta mezcla se calentó usando una cocina eléctrica hasta 90°C por 20 minutos, luego se dejó enfriar hasta 60°C, enseguida se calentó nuevamente hasta 120°C por 20 minutos, luego se dejó enfriar hasta 60°C, momento en que se agregó el resto de la malta (88,2 g); luego se llevó a bañomaría a 55°C. El seguimiento de la hidrólisis se realizó determinando el contenido de azúcares reductores cada 30 minutos, hasta llegar a un valor constante, dando por finalizada la hidrólisis en ese momento. Enseguida se dejó enfriar, luego se pasó por un medio filtrante constituido por una capa de algodón, con el fin de separar el afrecho del sustrato líquido azucarado.

El sustrato líquido azucarado fue llevado a un pH de 4,5 con ácido cítrico. Luego se hicieron las diluciones para obtener las concentraciones de azúcares reductores de acuerdo a la Tabla 1, para realizar la fermentación en 15 biorreactores de 500 mL y 110 mL de volumen de trabajo, se agregó sulfato de amonio a cada uno a las concentraciones que se muestran en la Tabla 1, de acuerdo a lo necesario para cada experimento indicado en la Tabla 2.

2.6 Preparación del Inóculo

El cultivo stock de *Saccharomyces cerevisiae* MIT L-51 fue brindado por el Laboratorio de Microbiología de la UNAT-A, en un frasco con agar dextrosa papa (PDA) inclinado, de donde se sembró en placa Petri con PDA, la que se incubó a 35°C por 24 horas en estufa para el desarrollo de la levadura.

Se preparó una solución mineral estéril para suspender las levaduras, constituida por:

- NaNO₃ (0,3 g/100 mL)
- K₂HPO₄ (0,1 g/100 mL)
- MgSO₄ (0,05 g/100 mL)
- FeSO₄ (0,001 g/100 mL)
- KCl (0,05 g/100 mL)

Se encendió un mechero para desinfectar el área de trabajo y se adicionó, a la placa Petri donde se había desarrollado la levadura, 5 mL de solución mineral estéril para suspender las levaduras mediante agitación suave. Luego, se trasvasó a un matraz estéril, se homogenizó y se realizó el conteo de las levaduras en la cámara de Neubauer en el microscopio.

2.7 Proceso Fermentativo

En cada biorreactor se colocó 110 mL de mosto diluido para tener las concentraciones de azúcares reductores y se le adicionó sulfato de amonio, de acuerdo a las Tablas 1 y 2; el mosto fue inoculado con 10⁷ células de *Saccharomyces cerevisiae* MIT L-51/mL de sustrato, luego se homogenizó y se

cerró herméticamente cada biorreactor y el extremo de su manguera de salida del CO₂ producto de la fermentación se sumergió en el agua contenida en una botella. La fermentación se realizó a una temperatura de 33°C, para esto se acondicionó una caja de cartón que fue calentada por dos focos de 50 W, por el tiempo establecido para cada experimento (Tabla 1). Los que se realizaron por triplicado, para luego trabajar estadísticamente con los promedios de los rendimientos obtenidos.

2.8 Destilación - Rectificación

Una vez obtenido el mosto fermentado en cada biorreactor, teniendo en cuenta los tiempos de fermentación de acuerdo a la Tabla 2, fue llevado al equipo de destilación simple. La finalidad de esta operación fue separar el etanol que se encuentra en el mosto fermentado, luego se realizó una rectificación (destilación fraccionada) para obtener etanol de alta pureza.

2.9 Optimización de la Producción de Etanol

Para el presente trabajo de investigación se consideró las variables independientes: concentración de azúcares reductores (% peso/volumen), concentración de sulfato de amonio (mg/L) y el tiempo de fermentación (horas). La variable dependiente o respuesta fue el rendimiento de etanol expresado como g de etanol/L de mosto fermentado. La influencia de las variables independientes sobre el rendimiento de etanol se determinó aplicando el diseño estadístico de Box-Behnken, para lo cual se requiere que cada variable tenga tres valores equidistantes los que se muestran en la Tabla 1.

Los valores de las variables independientes se distribuyeron de acuerdo a la Tabla 2, donde cada fila corresponde a un experimento y cada columna corresponde a una variable. Cada experimento se realizó por triplicado, para trabajar luego con los valores promedio de rendimientos obtenidos.

Tabla 1: Valores de las variables a evaluar con el diseño estadístico de Box-Behnken.

Valores	Azúcares reductores: X_1 (% peso/vol)	Sulfato de amonio: X_2 (mg/L)	Tiempo: X_3 (horas)
Alto (+)	20	180	120
Medio (0)	15	150	96
Bajo (-)	10	120	72

Tabla 2: Distribución de los valores de las tres variables independientes según el diseño de Box-Behnken.

Número de Experimento	Variables		
	X ₁	X ₂	X ₃
1	+	+	+
2	+	+	0
3	+	0	+
4	0	+	+
5	+	+	-
6	+	-	+
7	-	+	+
8	+	0	0
9	0	0	0
10	0	-	-
11	-	-	0
12	+	0	-
13	-	0	+
14	0	-	+
15	-	-	-

2.10 Análisis Estadístico

El nivel óptimo de cada variable independiente fue determinado usando las técnicas de Optimización de Respuesta Superficial (Mc Daniel, 1976), el cual fue aplicado a las 3 variables independientes y sus relaciones se ajustaron al siguiente modelo polinomial cuadrático.

$$Z = b_0 + b_1A + b_2B + b_3C + b_4AB + b_5AC + b_6BC + b_7A^2 + b_8B^2 + b_9C^2$$

Donde:

Z = Variable dependiente (concentración de etanol en g/L)

A, B, C = Variables independientes

b_0 = Coeficiente de regresión en el punto central

b_1, b_2, b_3 = Coeficientes lineales

b_4, b_5, b_6 = Coeficientes de interacción de 2^{do} orden

b_7, b_8, b_9 = Coeficientes cuadráticos.

Para la identificación de un valor óptimo fue necesario estimar la curvatura, para lo cual cada variable fue ensayada en 15 niveles mediante el diseño de Box-Behnken que es un diseño factorial fraccional (Mc Daniel, 1976).

Los resultados experimentales fueron tratados con el software Statgraphics para obtener respuestas en superficie y de contornos que permitieron determinar los valores óptimos de cada una de las variables independientes que maximizan el rendimiento de etanol.

III. RESULTADOS

Se determinó el contenido de humedad y almidón de la papa y la malta. Los resultados se muestran en la Tabla 3 y 4.

Tabla 3: Composición química de la papa (*Solanum tuberosum*) Yungay.

Componente	Porcentaje en base	Porcentaje en base
	húmeda	seca
Humedad	79,42	-----
Almidón	15,44	74,30

Fuente: Elaboración propia

Tabla 4: Composición química de la malta

Componente	Porcentaje en base	Porcentaje en base
	húmeda	seca
Humedad	5,1	-----
Almidón	72,12	76

Fuente: Elaboración propia

En la presente investigación se llegó a obtener 330 g de azúcares reductores a partir de 630 g de papa y 176,4 g de malta, lo que en rendimiento es 40,95% en 24 horas.

De los resultados mostrados en la Tabla 5 se deduce que azúcares reductores (20 %), sulfato de amonio 180 mg/L, en un tiempo de 72 horas, permitieron obtener la mayor concentración de etanol en (g/L).

Tabla 5: Rendimiento promedio de etanol aplicando el diseño estadístico de Box–Behnken.

Nº de Experimento	Variables			Rendimiento	
	Azúcares reductores (%)	Sulfato de amonio (mg/L)	Tiempo (horas)	Etanol (% vol.) Y	Concentración de etanol (g/L) Z
1	20	180	120	16,20	92,207
2	20	180	96	14,58	93,382
3	20	150	120	13,40	91,525
4	15	180	120	4,59	53,446
5	20	180	72	17,43	94,670
6	20	120	120	12,96	91,525
7	10	180	120	7,02	25,597
8	20	150	96	11,30	91,075
9	15	150	96	11,00	53,080
10	15	120	72	12,90	53,647
11	10	120	96	7,06	27,338
12	20	150	72	9,35	90,741
13	10	150	120	6,38	24,496
14	15	120	120	10,67	55,729
15	10	120	72	5,77	27,329

Fuente: Elaboración propia

Los datos de la Tabla 5 fueron procesados con el software Statgraphics V.5. Para obtener los coeficientes de regresión mostrados en la Tabla 6, y escribir la ecuación polinomial respectiva.

Tabla 6: Coeficientes de regresión obtenidos con Statgraphics V.5.1; a partir de los datos de la Tabla 5, para concentración de etanol (g/L).

Variable	Valor del coeficiente
Constante	32,3127
A: Azúcares reductores	-0,609955
B: Sulfato de amonio	-0,424125
C: Tiempo	0,173044
AA: A ²	0,0218248
AB: A x B	-0,00139534
AC: A x C	0,00812241
BB: B ²	0,00225898
BC: B x C	-0,00225513
CC: C ²	0,0000995576

La ecuación del modelo ajustado es:

$$Z = 32,3127 - 0,609955*A - 0,424125*B + 0,173044*C + 0,0218248*A^2 - 0,00139534*A*B + 0,00812241*A*C + 0,00225898*B^2 - 0,00225513*B*C + 0,0000995576*C^2$$

Respuesta optimizada

Meta: maximiza % Vol.

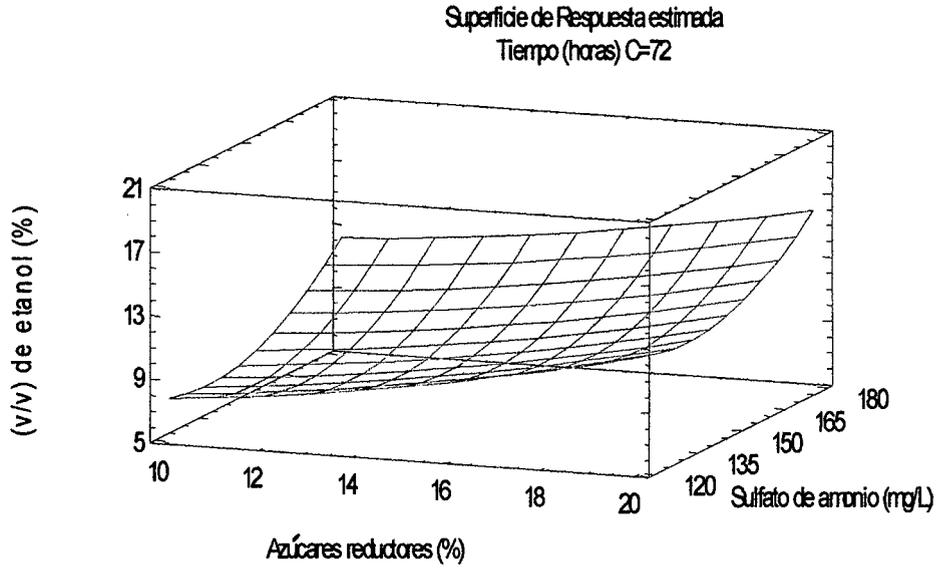
Valor óptimo: 16,1138% Vol.

Tabla 7: Valores óptimos de las variables independientes.

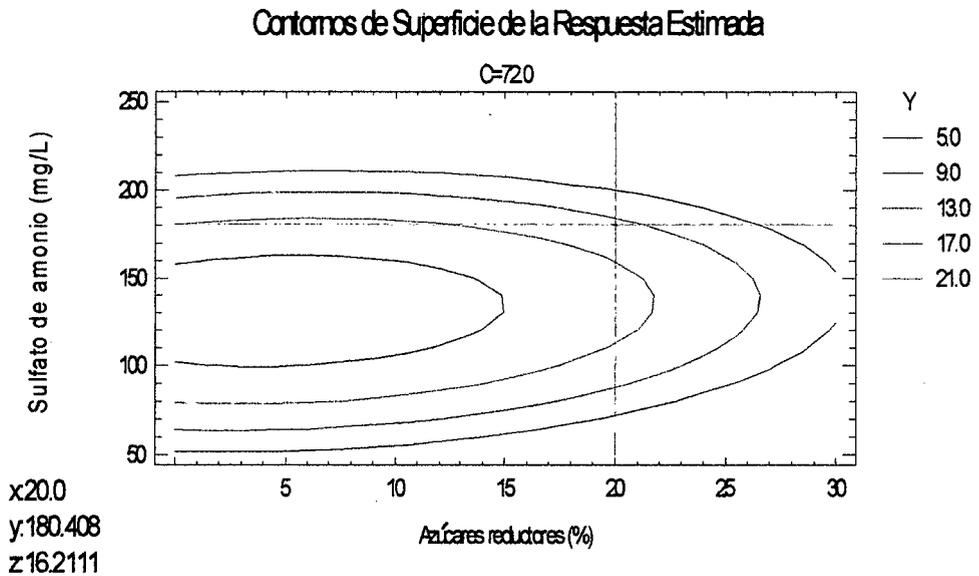
Variable independiente	Inferior	Mayor	Óptimo
Azúcares reductores (%)	10	20	20
Sulfato de amonio (mg/L)	120	180	180
Tiempo (Horas)	72	120	72

Fuente: Elaboración propia

A continuación se presenta las gráficas de superficie respuesta y de contorno obtenidas del procesamiento de los datos de la Tabla 5 con el software Statgraphics V.5. Obsérvese que a las 72 horas (gráfica 2) se obtiene la máxima concentración de etanol que alcanza 17,43 % vol. Con un 20% de azúcares reductores, 180 mg de sulfato de amonio/L.



Gráfica 2: Superficie respuesta en función a los azúcares reductores – sulfato de amonio, a un tiempo constante de 72 horas. 16,1138 % vol. de etanol máximo.



Gráfica 3: Contornos de superficie de respuesta para determinar los valores óptimos de sulfato de amonio (180 mg/L) y azúcares reductores (20%), manteniendo constante el tiempo (72 horas).

Tabla 8: Parámetros del proceso de fermentación para producir etanol a partir de almidón de papa (*Solanum tuberosum*) variedad Yungay.

Parámetros del proceso de fermentación	
Volumen del mosto inicial	110 mL
pH	4,5
Temperatura	33°C
Sulfato de amonio	180 mg/L
Azúcares reductores	20%
Tiempo	72 horas
Volumen del etanol obtenido	19 mL
Rendimiento del etanol	17,43 % volumen

Fuente: elaboración propia

Tabla 9: Controles físicos y químicos del etanol rectificado.

Controles físicos y químicos	Resultados	INDECOPI
pH	5,4	Neutro
Temperatura (°C)	15	20
Densidad (g/mL)	0,8292	0,8082
Grado alcohólico	86	94

IV. DISCUSIÓN

En la Tabla 3 se muestran los resultados del análisis químico de la papa Yungay empleada, destacando que el contenido de almidón es 74,3% en base seca, valor ligeramente menor comparado con el 75% de almidón reportado; pero el valor determinado está dentro del rango del contenido de almidón en la papa que va de 50 a 75%, lo que es influenciado por factores que afectan el contenido de materia seca como la variedad, clima, época de siembra, tipo de suelo, prácticas culturales y presencia de plagas y enfermedades (Vásquez, 1988).

Empleando amilasas para la hidrólisis del almidón de papa (*Solanum tuberosum*), llegaron a obtener 60,4 g de azúcares reductores por cada 100g de papa (60,4%) en un tiempo de 20 horas (Gonzales y Molina, 2006); en nuestro estudio se llegó a obtener 330g de azúcares reductores a partir de 630g de papa y 176,4g de malta, lo que en rendimiento es 40,95% en 24 horas. La diferencia se debe a que en este estudio se empleó malta que aporta las amilasas, en vez de emplear el extracto de malta que contiene amilasas.

En la fermentación por *Saccharomyces cerevisiae*, de los azúcares reductores obtenidos de la yuca con una concentración de 19g/100mL, un pH de 6,0 y 37°C se obtuvo 18,2% de etanol (León, 2001); en el presente trabajo de investigación a un pH de 4,5, una concentración de azúcares reductores de 20g/100mL y 33°C se obtuvo 17,43% en volumen de etanol, de lo que se deduce que a una temperatura de 37°C la levadura es mas eficiente en la producción de etanol.

El rendimiento experimental de etanol obtenido por fermentación de la papa con cáscara en la presente investigación fue de 73,2 g etanol/kg papa, el cual es 12,4% menor al informado (Advisory Comite on Technology Innovation, 1983) cuyo valor es de 83,6 g etanol/kg papa. Sin embargo, el rendimiento obtenido es mayor al alcanzado a partir de banano maduro (López 1998) y de banano verde (Vong, 1996) que fueron 57,8 g etanol/kg banano maduro y 56,4 kg etanol/kg banano verde.

El uso del diseño experimental de Box–Behnken en la etapa de la fermentación, permitió optimizar el valor de cada una de las tres variables independientes, determinándose con el software Statgraphics que: 20% de azúcares reductores, 180 mg de sulfato de amonio/L de sustrato y 72 horas de fermentación; producen 16,11% en volumen de etanol. Sin embargo, experimentalmente con los mismos valores de las variables se ha obtenido 17,43% en volumen de etanol, siendo este resultado mayor en 8,2% al predicho por el software Statgraphics.

V. CONCLUSIONES

1. La papa (*Solanum tuberosum*) de la variedad Yungay, proveniente de la localidad de Levanto contiene un alto porcentaje de carbohidratos (74,3% en base seca), el cual favorece la producción de etanol.
2. La trituración de la malta y el rayado de la papa permite exponer todas las partículas sólidas a la humectación para facilitar la liberación de las amilasas y la posterior hidrólisis enzimática del almidón.
3. La dilución de la masa reaccionante de 1:4 es adecuada para mantener la fluidez de la masa, y así favorecer la acción diastásica de la malta.
4. Los parámetros óptimos para obtener etanol a partir de la fermentación del almidón de papa (*Solanum tuberosum*) Yungay, mediante la levadura *Saccharomyces cerevisiae* MIT L-51 son: 20% de azúcares reductores, 180 mg de sulfato de amonio/L de sustrato y un tiempo de 72 horas de fermentación, lo que dio un rendimiento de etanol de 94,67 g/L de sustrato o 17,43 % volumen.
5. En el proceso de producción de alcohol se genera un desecho sólido al final de la etapa de hidrólisis, el cual está constituido por fibra y demás constituyentes de las diferentes materias primas, este puede ser utilizado como base para elaborar concentrados alimenticios para animales.

VI. RECOMENDACIONES

- 1-** Realizar investigaciones con otras variedades de papa las cuales pueden tener mayor rendimiento.
- 2-** Realizar un estudio de pre-factibilidad técnico-económico para la producción de etanol a partir de almidón de papa.
- 3-** Aplicar este proceso experimental a cualquier producto agrícola que contenga almidón, como una alternativa para darle un valor agregado.
- 4-** Estudiar el diseño de un equipo de cocción, tratando de adecuar un buen sistema de agitación y evitar también pérdidas considerables de volumen del mosto por vaporización.
- 5-** Para el proceso de fermentación se debe experimentar a varias temperaturas puesto que existen investigaciones donde a temperaturas mayores, han obtenido mayores rendimientos de etanol.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Crueger, W. & Crueger, A. 1989. Biotecnología: Manual de microbiología industrial. España: Acribia S.A.
- Estrada, R. N. 2000. La biodiversidad en el mejoramiento genético de la papa. CIP, IPGRI, PRACIPA, IBTA, PROINPA, COSUDE y el CID.
- Fano, H., Carmona, G., Ordinola, M. y Scout, G. 1998. experiencias de exportación de la papa amarilla peruana. CIP. Lima – Perú.
- Fermenta, O. 2000. Química de alimentos, 2da edición Editorial Acribia. Zaragoza, España. Pp. 228-240
- García, G. 1998. Biotecnología Alimentaria. Limusa – Noriega editores. México.
- Greasham, R. & Inamine, E. 1989. Nutritional Improvement of Processes, In Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology, ed. N. Solomon & A. Demain, American Society for Microbiology. Washington DC, USA.
- Harold, B. 1977. El Cerveceros en la Práctica. Editores asociación de maestros cerveceros de las Américas.

- Hawkes, J. 1994. Origins of cultivated potatoes and species relationships, Wallingford (UK). Centre for Agriculture and Biosciences International (CAPI). Pp 3-42.
- Hornsey, Ian. 1999. Elaboración de Cerveza (Microbiología, Bioquímica y Tecnología). Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. Pp. 15-29.
- Hough, J. S. 1990. Biotecnología de la Cerveza y de la Malta. Editorial Acribia S.A. Zaragoza, España. Pp. 9-29.
- INDECOPI. 1990. Normas técnicas nacionales para el alcohol y vinagre, Lima-Perú.
- León, T. 2001. Diseño y puesta en marcha de un sistema semicontinuo en dos etapas "Hidrólisis-Fermentación" para producir etanol a partir del almidón de yuca usando simultáneamente *Aspergillus niger* y *Saccharomyces cerevisiae*, Tesis, Colombia.
- Linden, G. 1996. Bioquímica Agroindustrial; Revalorización alimentaria de la producción agrícola. Editorial Acribia, Zaragoza, España, p. 297 - 298
- López, C. 1998. Estudio comparativo de la producción de etanol vía fermentativa utilizando cuatro sustratos preparados a partir de banano maduro. Tesis de Licenciatura para la obtención del título de Licenciado en Ingeniería

Química, Escuela de Ingeniería Química, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.

- Mc Daniel, L. E. 1976. Application of response surface optimization techniques to polyene macrolide fermentation studies in shake flask. Dev. Ind. Microbiology.
- Meléndez, I. 2002. Estudio de la hidrólisis enzimática y del proceso fermentativo para la producción de alcohol a partir de yuca, ñame y malanga. Tesis de Licenciatura para la obtención del título de Licenciado en Ingeniería Química, Escuela de Ingeniería Química, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica.
- Ministerio de Agricultura. 2002
<http://www.portalagrario.gob.pe>
- Moreno, J. 2000. Calidad de la papa para usos industriales. En: Papas Colombianas 2000, con el mejor entorno ambiental, segunda edición. Pág. 44 – 47.
- NCBI. 2003. National Center for Biotechnology Information.
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- Oficina de Información Agraria. 2002. Ministerio de Agricultura .Región Amazonas – Perú.

- Rafael, L. 1993. Fermentación alcohólica de la papa. Tesis para optar el Título de Ingeniero Químico. Facultad de Ingeniería. Universidad Nacional de Trujillo – Perú.
- Sub Dirección Regional de Agricultura – Chachapoyas – Amazonas.
- Treadway, R. H. 1984. Manufacture of potato starch. In Whistler & Paschal (Eds.), Starch: Chemistry and Technology (pp 87- 101). New York: Academic Press Inc.
- Vásquez Arce. 1988. Mejoramiento Genético de la Papa, Editores Amaru, Primera Edición, Lima, Perú.
- Vong, A. 1996. Estudio de la producción de etanol mediante la fermentación de tres sustratos diferentes obtenido a partir del banano. Tesis de licenciatura para la obtención del título de Licenciado en Ingeniería Química, San José, Costa Rica.
- United States, Advisors Committee on Technology Innovation, 1983, Alcohol fuels: options for developing countries, Washington D.C., National Academy Press.

ANEXOS

1.- Determinación de azúcares reductores en el mosto hidrolizado

Factor glucosa:

En 10 mL de Fehling se gastó 12 mL de glucosa al 1% p/v

$$\frac{1 \text{ g de glucosa}}{100 \text{ mL soluc. de glucosa}} \times \frac{12 \text{ mL solución de glucosa}}{10 \text{ mL de Fehling}} = \frac{0,12 \text{ g de glucosa}}{10 \text{ mL de Fehling}}$$

Mosto hidrolizado:

Volumen gastado = 0,6 mL del mosto

$$\frac{10 \text{ mL Fehling}}{0,6 \text{ mL de mosto}} \times \frac{0,12 \text{ g de glucosa}}{10 \text{ mL de Fehling}} = 0,2 \text{ g de glucosa/mL mosto}$$

2.- Determinación de azúcares reductores en papa y malta

Glucosa teórica

Papa = 630 g (78% del material total), 15,44% almidón

$$630 \text{ g papa} \times \frac{0,1544 \text{ g almidón}}{1 \text{ g de papa}} \times \frac{1 \text{ g de glucosa}}{0,90 \text{ g almidón}} = 108,1 \text{ g glucosa en papa}$$

Malta = 176,4 g (22% del material total), 76% almidón

$$176,4 \text{ g malta} \times \frac{0,76 \text{ g almidón}}{1 \text{ g malta}} \times \frac{1 \text{ g de glucosa}}{0,90 \text{ g almidón}} = 134,1 \text{ g glucosa en malta}$$

Glucosa teórica = 108,1 g + 134,1 g = 242,2 g de glucosa

Glucosa práctica (Gp)

1650 mL de mosto, densidad = 1,081 g/mL, 20% azúcares reductores

$$Gp = 1650 \text{ mL} \times 1,081 \text{ g mosto/mL} \times 0,2 \text{ g glucosa/g mosto} = 356,7 \text{ g glucosa}$$

3.- Determinación de la humedad de la papa y de la malta

Papa

$$\% \text{ humedad} = ((W_m - W_s)/W_m) \times 100$$

Donde:

W_m = peso de la muestra húmeda (g)

W_s = peso de la muestra seca (g)

$$\% \text{ humedad} = ((5 - 1,029)/5) \times 100 = 79,42$$

Malta

$$\% \text{ humedad} = ((10 - 9,49)/10) \times 100 = 5,1$$

4.- Determinación de la biomasa

Técnica empleada:

- a. Se tomó la muestra a evaluar (dilución 10^{-2}) con la ayuda de una pipeta, se procedió a cargar la cámara de Neubauer.
- b. Se colocó la cámara en la platina del microscopio para observar uniformidad de la distribución de células dentro del cuadrante de 25 cuadraditos a contabilizar.
- c. Dentro de este cuadrante se escogió 5 cuadraditos de los 25 que este posee, para el recuento, obteniendo la cantidad de 1 612 células, prosiguiendo de la siguiente manera:

El área de cada cuadradito donde se realiza el recuento que es de $0,025\text{mm}^2$, y como existen cinco de estas áreas entonces se tendrá un área total de $0,125\text{mm}^2$, además la profundidad de la cámara es de $0,1\text{mm}$ por lo tanto:

Volumen = $0,1\text{mm} \times 0,125\text{mm}^2 = 0,0125\text{mm}^3$. De este modo dividiendo entre 25 y luego multiplicando por 2000 (o se lo multiplica por 80) se obtiene el número de células por mm^3 , luego en un mL existe 1000mm^3 , de manera que si la multiplicación se hace por 10^3 se obtiene el número de células en un mL.

$$\text{Células por mm}^3 = \text{Células contadas} \times 80$$

$$\text{Células por mL} = (\text{Células contadas} \times 80) * (1000) * (1/10^{-2})$$

Cantidad de células por mL (Cc):

$$Cc = 1612 \text{ células} \times 80 \times 1000 \times 1/10^{-2} = 1,29 \times 10^8 \text{ células/mL}$$

5.- Determinación del grado alcohólico del etanol obtenido

Se determinó el peso específico del destilado usando el método del picnómetro. Se utilizó un picnómetro de 10 mL de capacidad, se pesó el picnómetro en una balanza analítica; luego se pesó el picnómetro con 2 mL de agua destilada; enseguida este mismo picnómetro se pesó con 2 mL de la muestra a analizar. Al peso obtenido del picnómetro con agua y con la muestra a analizar se le restó el peso del picnómetro vacío obteniéndose así de esta manera el peso del agua, así como también el peso de la muestra problema. Para luego determinar la gravedad específica (G_e) de este último:

$$G_e = (P_1 - P) / (P_2 - P)$$

Donde:

P_1 = peso del picnómetro con la muestra a 20°C

P_2 = peso del picnómetro con agua a 20°C

P = peso del picnómetro vacío

Determinación de la densidad (D) de la muestra problema

$$D = G_e \times d$$

Donde:

d = densidad del agua a 20°C = 0,9982 g/mL

$$G_e = (24,4927 - 22,0089)g / (25,0042 - 22,0089)g = 0,8307$$

$$D = 0,8307 \times 0,9982 \text{ g/mL} = 0,8292 \text{ g/mL: densidad del etanol}$$

Tabla 10: Determinación del porcentaje de etanol en una mezcla hidrolizada

% de etanol	% de agua	Densidad g/mL
0	100	1,00
10	90	0,9836
20	80	0,9704
30	70	0,9555
40	60	0,9368
50	50	0,9155
60	40	0,8927
70	30	0,8692
80	20	0,8449
91	09	0,8181
95	05	0,8056
100	00	0,7907

6. Secuencia fotográfica

Fotografía 1: Pesado de la materia prima



Fotografía 2: Rayado de la papa



Fotografía 3: Germinado de la malta



Fotografía 4: Secado de la malta



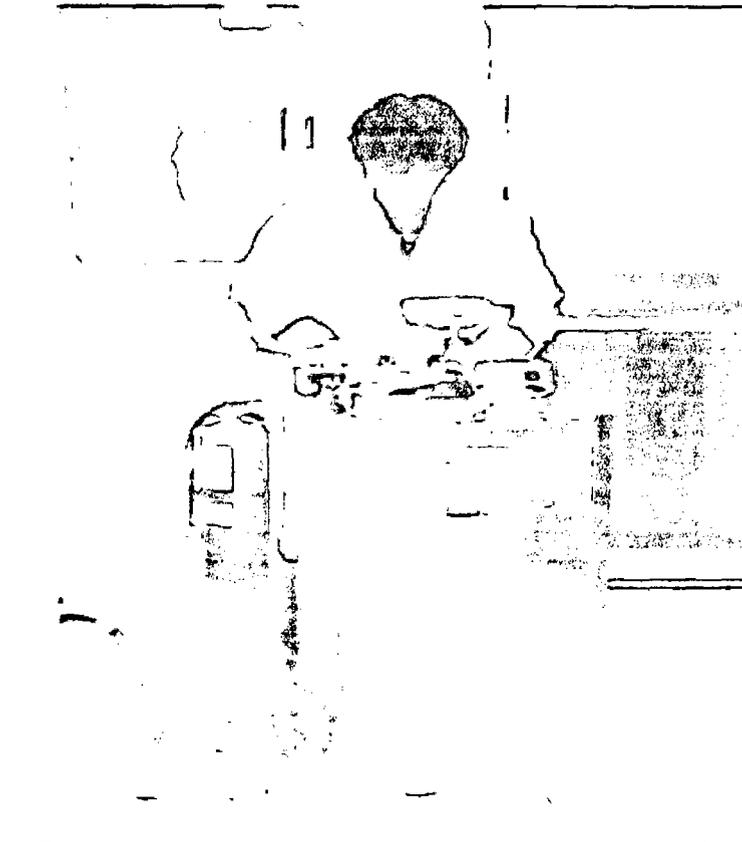
Fotografía 5: Sembrado de levadura en placa



Fotografía 6: Conteo de biomasa utilizando la cámara de Neubauer



Fotografía 7: Esterilización del mosto en autoclave



Fotografía 8: Hidrólisis del mosto



Fotografía 9: Determinación de azúcares reductores



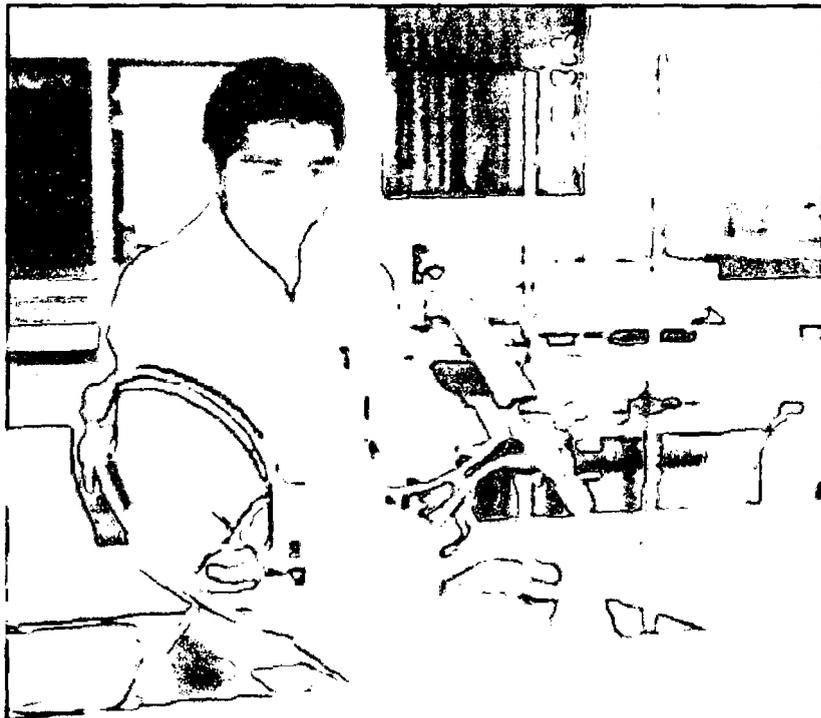
Fotografía 10: Pesado de los nutrientes a utilizar en la fermentación.



Fotografía 11: Fermentación del mosto



Fotografía 12: Destilación simple



Fotografía 13: Destilación fraccionada

