

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



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**“INFLUENCIA DE LA AIREACIÓN, SULFATO DE AMONIO Y LEVADURA DE
CHICHA DE JORA EN EL RENDIMIENTO DE LA PRODUCCIÓN DE
AGUARDIENTE A PARTIR DE CACHAZA DE *Saccharum officinarum* L.”**

**AUTORES : Bach. HERZEN FRANCK VÁSQUEZ GÁSLAC
Bach. FREDY ALEX ZABALETA EPIQUIÉN**

ASESOR : Ing. SEGUNDO VÍCTOR OLIVARES MUÑOZ

CO-ASESOR : MsC. Lic. ERNESTINA ROSARIO VÁSQUEZ CASTRO



CHACHAPOYAS - PERÚ

2015

27 NOV 2015

UNIVERSIDAD NACIONAL

TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**INFLUENCIA DE LA AIREACIÓN, SULFATO DE AMONIO Y LEVADURA DE
CHICHA DE JORA EN EL RENDIMIENTO DE LA PRODUCCIÓN DE
AGUARDIENTE A PARTIR DE CACHAZA DE *Saccharum officinarum L.***

Autores : Bach. Herzen Franck Vásquez Gáslac

Bach. Fredy Alex Zabaleta Epiquién

Asesor : Ing. Segundo Víctor Olivares Muñoz

Co – Asesor : MsC. Lic. Ernestina Rosario Vásquez Castro

CHACHAPOYAS - PERÚ

2015



27 NOV 2015

DEDICATORIA

A Dios, el ser supremo por guiar nuestros pasos, darnos la valentía y fortaleza para sobrellevar las adversidades y lograr las metas trazadas.

A mis padres Hilario Zabaleta Rojas y Nilve Epiquien Alvarado por su apoyo incondicional por los consejos brindados y sobre todo por los valores inculcados día con día con la finalidad de lograr un futuro mejor.

A mis hermanas Erika y marjhory por su compañía, comprensión y apoyo para lograr mis metas. Por la voz de aliento en los momentos más difíciles.

Fredy Alex Zabaleta Epiquien

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a Dios, por darme la oportunidad de crecer como ser humano y como profesional, a mis padres Rosa Gáslac y Grimaldo Vásquez, quienes siempre me inculcaron valores y me alentaron en todo mi proceso formativo.

A mis hermanos y hermanas Jherli, Jhuli, Jhaneli, Jhonnatan y Edward, quienes me brindaron todo su apoyo.

A mis maestros, que nunca desistieron en enseñarme.

A mi familia, quienes son mi soporte emocional puesto que puedo contar con ellas incondicionalmente; y a todos quienes me apoyaron para concluir esta tesis.

Herzen Franck, Vásquez Gáslac

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darnos la vida y la oportunidad de ser mejores en las distintas actividades y retos que se nos plantea en nuestras vidas.

A la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas, Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias y en particular a la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, por brindarnos una educación de alto nivel lo cual nos ha permitido formarnos como profesionales de calidad y útiles para la sociedad.

A los técnicos del laboratorio de ingeniería, Laboratorio de tecnología de la UNTRM-A, por el apoyo con equipos y ambientes donde se desarrolló la investigación.

A la “asociación de productores de panela Santa Rosa”, por su apoyo con sus instalaciones para la obtención de la materia prima, que hicieron posible la realización de esta investigación.

A nuestro Asesor: Ing. Segundo Víctor, Olivares Muñoz y Co- Asesora MsC. Lic. Ernestina Rosario, Vásquez Castro, por apoyarnos con sus conocimientos, orientación oportuna y desinteresada permitiéndonos de esta manera seguir adelante con esta investigación.

A los amigos y familiares por sus distintos consejos y apoyo en las distintas etapas de la investigación.

Herzen Vásquez y Fredy Zabaleta

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS DE LA UNTRM-A

.....
Ph. Dr. JORGE LUIS MAICELO QUINTANA
RECTOR

.....
Dr. OSCAR ANDRÉS GAMARRA TORRES
VICERRECTOR ACADÉMICO

.....
Dra. MARÍA NELLY LUJAN ESPINOZA
VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN

.....
Ing. EFRAIN MANUELITO CASTRO ALAYO
DECANO DE LA FACULTAD
DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS

VISTO BUENO

El docente de la UNTRM-A que suscribe, ha asesorado la tesis titulada “**INFLUENCIA DE LA AIREACIÓN, SULFATO DE AMONIO Y LEVADURA DE CHICHA DE JORA EN EL RENDIMIENTO DE LA PRODUCCIÓN DE AGUARDIENTE A PARTIR DE CACHAZA DE *Saccharum officinarum L.***” de los bachilleres en Ingeniería Agroindustrial de la UNTRM-A.

- ✓ **Bach. HERZEN FRANCK, VÁSQUEZ GÁSLAC**
- ✓ **Bach. FREDY ALEX, ZABALETA EPIQUIÉN**

El docente de la UNTRM-A que suscribe da su visto bueno para que la tesis mencionada sea presentada al jurado evaluador, manifestando su voluntad de apoyar a ambos tesisistas en el levantamiento de observaciones y en el acto de sustentación de tesis.

Chachapoyas, 23 de septiembre del 2015



Ing. Segundo Víctor, Olivares Muñoz

Profesor auxiliar de UNTRM-A

VISTO BUENO

El docente de la UNTRM-A que suscribe, ha asesorado la tesis titulada “**INFLUENCIA DE LA AIREACIÓN, SULFATO DE AMONIO Y LEVADURA DE CHICHA DE JORA EN EL RENDIMIENTO DE LA PRODUCCIÓN DE AGUARDIENTE A PARTIR DE CACHAZA DE *Saccharum officinarum L.***” de los bachilleres en Ingeniería Agroindustrial de la UNTRM-A.

✓ **Bach. HERZEN FRANCK, VÁSQUEZ GÁSLAC**

✓ **Bach. FREDY ALEX, ZABALETA EPIQUIÉN**

El docente de la UNTRM-A que suscribe da su visto bueno para que la tesis mencionada sea presentada al jurado evaluador, manifestando su voluntad de apoyar a ambos tesisistas en el levantamiento de observaciones y en el acto de sustentación de tesis.

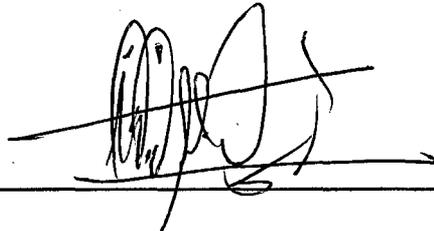
Chachapoyas, 23 de septiembre del 2015



MsC. Lic. Ernestina Rosario, Vásquez Castro

Profesor auxiliar de UNTRM-A

JURADO DE TESIS



Ing. MEREGILDO SILVA RAMÍREZ

PRESIDENTE



Ing. ERICK ALDO AUQUIÑIVÍN SILVA

SECRETARIO



Ing. SANTOS TRIUNFO LEIVA ESPINOZA

VOCAL

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	I
AGRADECIMIENTO	ii
AUTORIDADES UNIVERSITARIAS	iii
VISTO BUENO DEL ASESOR Y CO ASESORES	iv
JURADO EVALUADOR	vi
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS	xiii
RESUMEN	xiv
ABSTRACT	xv
I. INTRODUCCIÓN.	1
II. MATERIALES Y MÉTODOS.	6
2.1. Material Biológico.	6
2.1.1. Aislamiento de levadura.	6
2.1.2. Preparación de inóculo.	6

2.1.3. Biorreactores.	6
2.2. Diagrama de flujo de obtención de aguardiente a partir de cachaza.	8
2.3. Seguimiento del proceso fermentativo.	9
2.3.1. Inicio.	9
2.3.2. Cada 24 horas.	9
2.3.3. Al final de la fermentación (96 horas).	9
2.3.4. Destilación.	9
2.3.5. Diseño estadístico Box-Behnken.	9
2.3.6. Variables Independientes.	10
2.3.7. Variable Dependiente.	10
III. RESULTADOS.	12
3.1. Seguimiento de la fermentación.	12
3.2. Destilación simple de dilución de cachaza.	13
3.3. Rendimiento de aguardiente aplicado al diseño estadístico Box-Behnken.	14
IV. DISCUSIÓN.	19
V. CONCLUSIONES.	21
VI. RECOMENDACIONES.	22
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	23
VIII. ANEXOS.	25

ANEXO1: Conteo de células de levadura en el inóculo utilizando la cámara de Neubauer	26
ANEXO2: Descripción de cada una de las etapas del proceso para obtener aguardiente a partir de la dilución de la cachaza.	27
ANEXO3: Superficie de repuesta para rendimiento de aguardiente.	29
ANEXO4: Contorno de superficie de la respuesta estimada para rendimiento de aguardiente.	30
ANEXO5: Armado de los biorreactores.	31
ANEXO6: Obtención de la cachaza.	32
ANEXO7: Análisis de la muestra (cachaza).	33
ANEXO8: Dilución y esterilización de la muestra.	34
ANEXO9: Adición del fermento de chicha de jora y del sulfato de amonio.	35
ANEXO10: Aireación a la muestra (cachaza).	36
ANEXO11: Seguimiento del proceso fermentativo	37
ANEXO12: destilación de la dilución de cachaza	38
ANEXO13: Biorreactores con inyección de aire y sustrato, en fermentación y su diseño	39

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla1. Composición fisicoquímica de la cachaza	2
Tabla2. Valor de las variables independientes a evaluar con el diseño estadístico de Box – Behnken	10
Tabla3. Distribución de los valores de las variables independientes según el diseño estadístico de Box – Behnken	11
Tabla4. Densidad, °Brix y pH de la cachaza durante la fermentación Alcohólica	12
Tabla5. Rendimiento de aguardiente de 20°Gay Lussac, de cada una de las 15 corridas experimentales.	13
Tabla6. Resultado de cada una de la 15 corridas experimentales.	14
Tabla7. Análisis de varianza para rendimiento de aguardiente.	15
Tabla8. Coeficiente de regresión para rendimiento de aguardiente.	15
Tabla9. Parámetros óptimos para el rendimiento de aguardiente.	17
Tabla10. Parámetros óptimos para producción de aguardiente a partir de cachaza de caña de azúcar.	18

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura1. Diagrama de flujo obtención para la obtención de alcohol a partir de cachaza.	8
Figura2. Diagrama de Pareto estandarizado para rendimiento de aguardiente.	16
Figura3. Representación gráfica para rendimiento de aguardiente optimizado bajo un modelo de superficie respuesta.	17
Figura4. Representación gráfica para rendimiento de aguardiente bajo un modelo contorno superficie.	18
Figura5. Superficie respuesta para rendimiento de aguardiente con una concentración sustrato de fermento de chicha de jora de 20 mL / L de sustrato.	28
Figura6. Superficie respuesta para rendimiento de aguardiente con una concentración de fermento de chicha de jora de 15 mL / L de sustrato.	28
Figura7. Superficie respuesta para rendimiento de aguardiente con una concentración de fermento de chicha de jora de 10 mL / L de sustrato.	29
Figura8. Contorno de superficie respuesta estimada para rendimiento de aguardiente con una concentración de fermento de chicha de jora de 15 mL / L de sustrato.	30
Figura9. Contorno de superficie respuesta estimada para rendimiento de aguardiente con una concentración de fermento de chicha de jora de 10 mL / L de sustrato.	30
Figura10. Diseño del sistema utilizado en la fermentación.	37

ÍNDICE DE FOTOGRAFIAS

	Pág.
FOTOGRAFIA 1. Armado de los biorreactores	31
FOTOGRAFIA 2. Biorreactores	31
FOTOGRAFIA 3. Obtención de alcohol	32
FOTOGRAFIA 4. Muestra de cachaza	32
FOTOGRAFIA 5. Análisis de la muestra	33
FOTOGRAFIA 6. °Brix de la muestra (Cachaza)	33
FOTOGRAFIA 7. Dilución de la muestra (Cachaza)	34
FOTOGRAFIA 8. Esterilización de la muestra (Cachaza)	34
FOTOGRAFIA 9. Adición de fermento de chicha de jora	35
FOTOGRAFIA 10. Adición del sulfato de amonio	35
FOTOGRAFIA 11. Aireación de la muestra (Cachaza)	36
FOTOGRAFIA 12. Seguimiento de la fermentación	37
FOTOGRAFÍA 13.- Determinación de la densidad.	37
FOTOGRAFIA 14. Destilación simple	38
FOTOGRAFÍA 15.- Destilado	38
FOTOGRAFIA 16. Inyección de aire a los biorreactores	39
FOTOGRAFIA 17. Biorreactores con sustrato en fermentación	39

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se determinó la influencia de la aireación, sulfato de amonio y fermento de chicha de jora en el rendimiento de la producción de aguardiente a partir de cachaza de *saccharum officinarum* L. para esto se aisló y purificó en caldo y Agar Sabouraud, *Saccharomyces cereviceae* a partir de chicha de jora fermentada de la biomasa sedimentada. Se activó el cultivo de *Saccharomyces cereviceae* en caldo sabouraud, durante 48 horas a 28°C. El conteo de células de levadura en el inoculo se realizó con la cámara de Neubauer y microscopio. Se obtuvo la cachaza, se pasteurizó, y se realizó una evaluación preliminar, para luego estandarizar el pH a 4,8 con HCl concentrado, se determinó los °Brix y en función a este resultado posteriormente se realizó una dilución hasta llegar a los 21 °Brix , adición de sulfato de amonio y el tiempo de aireación según el diseño estadístico Box-Behnken. El proceso de fermentación se realizó en biorreactores (baldes) de 4 L de capacidad donde el volumen del sustrato fue de 3 L, a temperatura ambiente (18 – 21 °C) cada 24 horas se determinó los °Brix, densidad y pH, cuando estos valores eran constantes se detuvo la fermentación y se procedió a la destilación. El máximo rendimiento obtenido fue de 0,385 mL de aguardiente de 20 °GL/ litro de dilución de cachaza, obtenido con los valores de variables: 1 hora de aireación, 1.5 g de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ / L de dilución de cachaza y 10 mL de fermento de chicha de jora/ L de dilución de cachaza.

Palabras claves: cachaza, chicha de jora, biorreactor, obtención de aguardiente, fermentación.

ABSTRACT

The following research Project aimed to determine the influence on aeration, ammonium sulphate and chicha de jora yeast (chicha is a fermented or non-fermented beverage usually derived from maize) to the performance of the production in aguardiente (is a liquor made from the juice cane) from the sugar cane filter cake (part of the waste left after processing), *saccharum officinarum* L. To this process we isolate and purify in breeding ground and Agar Sabouraud, *Saccharomyces cereviceae* from fermented chichi de jora of the sediment biomass. We activated the grow of *Saccharomyces cereviceae* in breeding ground sabouraud, during 48 hours to 28°C. The yeast cells counted in the inoculate was realized with the Neubauer and microscope camera. we got the sugar cane filter cake, pasteurized, and we made a preliminary evaluation, then standardize the Ph to 4,8 with HCl concentrated, we determine the °Brix and in function to this result we realized a dilution until arriving to 20 °Brix, in addition the ammonium sulphate and the time of aeration according to the Box- Behnken statistical design. The process of fermentation was realized in bioreactors (buckets) of 4 liters where the sulphate volum was 3 L, to room temperature (18 – 21 °C) for every 24 hours we determine the ° Brix, density and pH, when this values were constants the fermentation was stopped and we proceed to distillate. The maximum performance got was 0,385 mL of aguardiente of 20 °GL/of dilution on sugar cane filter cake, got with the variables value : 60 aeration minutes, 1,5g (NH₄)₂SO₄/ L of sugar cane filter cake dilution and 10 mL of chicha de jora fermented / L of sugar cane filter cake dilution

Keywords: sugar cane filter cake, chicha de jora, bioreactor, aguardiente got, fermentation.

I. INTRODUCCION

La producción de aguardiente como aditivo para bebidas alcohólicas es una de los ejes de ingresos económicos de los pobladores rurales y por ende de la agroindustria rural de la región, este producto es distribuido en los mercados locales y regionales. La producción y procesamiento de la caña de azúcar en sus diferentes derivados como son la panela, genera una gran variedad de desechos que no son aprovechados adecuadamente pese a que las características de estos cumplen condiciones para obtener otros sub productos como aguardiente.

La cachaza desecho que se genera durante la elaboración de panela puede ser aprovechada para la obtención de aguardiente, dando de esta manera un valor agregado a este desecho y aprovechando con mejor eficiencia la caña de azúcar como materia prima, generando ingresos extras a los productores de panela.

La cachaza es un sub producto de color marrón oscuro, constituido por una mezcla de fibra de caña, sacarosa, coloides, coagulados, incluyendo la cera, fosfato de calcio, nitrógeno y materia orgánica pero pobre en potasio, con alto potencial como fuente de materia orgánica (Gálvez, 1990)

Se obtiene al separar las impurezas que se encuentran por efecto del clarificador y calentamiento de jugo al coagular las ceras, gomas y otros. Se debe descachazar el jugo antes que se empiece a hervir (97 °F), eliminando la cachaza negra. Separando la cachaza negra se procede a separar la cachaza de color amarillo blanquecino.

La composición de la cachaza es de 31.5% de materia seca y 68.5% de humedad. De la materia seca un 70.0% es materia orgánica y el resto son compuesto mineral y otras sustancias (Solano, 1989).

Tabla 1. Composición fisicoquímica de la cachaza (materia seca 91.75%)

Componente	Base seca (%)
Proteína	9.15
Grasa	3.23
Fibra	15.37
Cenizas	5.53
Extracto no nitrogenado	66.72

Fuente: solano *et al.* (2001)

La producción de cachaza no es continua en la mayoría de los trapiches, ya que depende de los días de elaboración de panela y su utilización en la alimentación en la alimentación animal. No a sido racional debido a su fácil fermentación, su alto contenido de agua y falta de investigación (Solano, 1989)

Barrena *et al.* (2010), en los trapiches y destilería rurales en la Región Amazonas existe heterogeneidad en el proceso de producción de aguardiente, que conlleva a variación en el rendimiento y calidad del aguardiente o cañazo producido como aditivo para bebidas alcohólicas, lo cual es parte importante en la región.

Los sustratos más comunes usados para la fermentación son los azúcares, en especial la D-glucosa (fermentación alcohólica). Para muchas levaduras en un medio adecuado, la fermentación significa la conversión de las hexosas, principalmente glucosa, fructosa, manosa y galactosa, en etanol y dióxido de carbono, en ausencia de aire (Hernández, 2007 y Madigan *et al.*, 1999).

Para la producción de etanol han sido utilizados diferentes fuentes de carbono como materia prima, estas deben ser transformadas con facilidad en azúcares fermentables. Su uso práctico está determinado por el rendimiento de etanol, por su costo y el tipo de microorganismo que utilice. Se define tres tipos de materia primas para la producción de etanol: a) materiales productores de azúcares simples que contienen carbohidratos (tales como jugo de caña de azúcar, melazas, sorgo dulce, etc.); b) materiales amiláceos los cuales contienen almidón como fuente de azúcares (tales como yuca, maíz, papa, etc.) y c) materiales celulósicos, que contienen celulosa, hemicelulosa (tales como el bagazo de caña de azúcar, la madera. Residuos agrícolas, etc. (Hernández, 2007)

El etanol se produce por fermentación de estas materias primas con levaduras u otros microorganismos. Las materias primas del primer tipo fermentan directamente. El segundo tipo consta de carbohidratos complejos, como almidón, que primero se deben convertir en azúcares fermentables mediante la acción de enzimas. Las sustancias celulósicas del tercer tipo se convierten en azúcares fermentables por hidrólisis con ácidos inorgánicos, principalmente (Hernández, 2007)

La selección de levaduras nativas requiere del aislamiento e identificación de las levaduras asociadas a procesos fermentativos espontáneos como etapas previas al proceso de selección sustentado en la evaluación de ciertas propiedades tecnológicas indicativas de su potencial capacidad para uso fermentativo.

Las levaduras que participan en la fermentación del vino son de dos tipos: las llamadas salvajes que se encuentran en las uvas cosechadas y que se transfieren al jugo; y la levadura del vino cultivada *Saccharomyces ellipsoideus*. Las cuales se adicionan al jugo para iniciar la fermentación. La diferencia fundamental entre ellas es su resistencia al alcohol. La mayor parte de las levaduras silvestres pueden tolerar solamente alrededor de 4% de alcohol; cuando la concentración de alcohol llega a este punto, la fermentación se detiene. La levadura del vino puede tolerar hasta un 12 a 14 % de alcohol antes de detener su desarrollo (Brock y Madigan, 1993).

Según González (1998), la fermentación puede definirse como un proceso en el cual se llevan a cabo cambios químicos en un sustrato orgánico, ya sea un hidrato de carbono, proteína, grasa o algún tipo de materia orgánica. Estos cambios se llevan a cabo por catalizadores bioquímicos conocidos como enzimas, que son elaborados por tipos específicos de microorganismos vivos.

La producción de células de levaduras y la producción de alcohol por levaduras son dos procesos industriales muy diferentes. El primer proceso requiere oxígeno para la máxima producción de materia celular y es un proceso aeróbico, en tanto que el proceso de fermentación alcohólica es anaeróbico y solo se efectúa en ausencia de oxígeno (Brock & Madigan, 1993).

Las levaduras son hongos unicelulares que tienen forma esférica, ovoide, elipsoide o cilíndrica. Se multiplican por brotación y al separarse en cada brote queda una escara en la pared de la célula madre. También suelen presentar una reproducción sexual donde dos células haploides se conjugan formando un cigoto que de inmediato en algunas especies o mucho tiempo después y solo en condiciones especiales en otras, sufre una meiosis generando las ascosporas haploides (Brock & Madigan, 1993).

La ruta enzimática de la glucólisis (degradación de glucosa por vía aerobia) y de la fermentación alcohólica fue aclarada en el transcurso de muchos años de investigación a finales del siglo XIX y en la primera mitad de siglo XX (Hernández, 2007)

Las levaduras pueden oxidar en aerobiosis los monosacáridos, como la glucosa y la fructosa, hasta dióxido de carbono y agua formando ATP, NADH y radicales carbonatados intermedios en la biosfera celular. Algunas son aerobias estrictas pero en otras condiciones de anaerobiosis pueden fermentar los azúcares produciendo etanol, aunque esta vía metabólica produce mucho menos ATP. Las levaduras usadas industrialmente consumen como máximo un 10% de sustrato por vía oxidativa, pues prefieren la fermentación. Entre ellas se encuentran especies de *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Brettanomyces* y *Candida*, las que consumen rápidamente la glucosa. Los disacáridos, como la sacarosa son hidrolizados en el exterior de la membrana. La glicólisis es el conjunto de reacciones que permiten pasar de glucosa a piruvato con la formación de 2 ATP y 2 NADH. En anaerobiosis el piruvato es descarboxilado hasta acetaldehído y luego reducido a etanol con gasto de NADH generado en la primera etapa (Brock & Madigan, 1993).

Según Guillaume (2004), la fermentación de vinos se facilita con: 1) aireación al comienzo de la fermentación alcohólica para asegurar la multiplicación de las células y mejorar su resistencia al etanol. 2) controlar la temperatura y dentro de los límites viables para las levaduras (20-30°C) estos límites varían según las cepas de levaduras, si las temperaturas son demasiado bajas, la fermentación se ralentiza hasta pararse, si es demasiado elevada las levaduras mueren. 3) no eliminar las sustancias sólidas acumuladas en el fondo de los depósitos, para mantener un nivel adecuado de lípidos y compuestos nitrogenados (el contenido de nitrógeno asimilable debe ser superior a 150 mg/L y su absorción aumenta la velocidad de fermentación, la carencia de este también ralentiza la fermentación y algunas veces la bloquea). La levadura produce etanol y CO₂ a partir de glucosa, el etanol inhibe la absorción de la glucosa, la levadura reacciona produciendo factores de supervivencia, (ácidos grasos insaturados ergosterol), que reducen la permeabilidad de la membrana al etanol. La degradación de la glucosa constituye una cascada de reacciones (la glicólisis) que conduce a la producción de piruvato, este se transforma en etanal y luego en etanol.

Cueva y Huayama (2007), obtuvieron una concentración máxima de etanol de 92,17 g/L de medio (14% vol. etanol) con los valores de las variables de: 165 g panela/L de medio; 200 mg de sulfato de amonio/L de medio y 6 días de fermentación.

Barrena *et al.* (2010). Obtuvieron un máximo rendimiento de aguardiente de 0,35 mL aguardiente/ mL de huarapo con los siguientes valores de variables: 2 hora de aireación a 0.333 vvm, 0,5 gramos de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ por litro de jugo de caña de azúcar y 0.3 gramos de azúcares reductores por litro de jugo de caña de azúcar (contenido del jugo de caña de azúcar recién extraído).

Tabaco & Tejada (2012). Obtuvieron un máximo rendimiento de 0,367 mL de aguardiente de 20 °GL/mL de guarapo con las siguientes valores de las variables: 1 hora de aireación a 0.45 vvm, 1,0 gramos de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ por litro de jugo de caña de azúcar y 9,0 gramos de azúcares reductores por litro de jugo de caña de azúcar.

Rojas & Rojas (2014). Obtuvieron el máximo rendimiento de 113,5 mL de etanol de 20 °GL/L de sustrato (musilago de café), con los siguientes valores de las variables: 60 minutos de aireación a 0.333 vvm, 1,5 g de $(\text{NH}_4)_2 \text{SO}_4$ por litro de sustrato y 15,0 g de azúcares reductores.

El presente trabajo de investigación, la cachaza (sustrato) fue inoculado con levadura de chicha de jora que fue el agente fermentativo, se inyectó aire al inicio de la fermentación por tiempos diferentes de acuerdo a cada corrida experimental. Lo que permitió determinar la influencia sobre la producción de biomasa del agente fermentativo inoculado, con lo cual se propició que el sustrato sea colonizado en menor tiempo, de manera que al quedar luego en anaerobiosis, las levaduras conviertan un mayor porcentaje de azúcares reductores en etanol y CO_2 . Los azúcares reductores son la fuente de carbono y el sulfato de amonio la fuente de nitrógeno para que las levaduras se reproduzcan: asimismo, los azúcares reductores sirven como alimento de las levaduras, en anaerobiosis, y producto de su metabolismo excretan etanol y CO_2 .

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Material biológico.

Se utilizó como material biológico la cachaza de caña de azúcar *Saccharum officinarum* L. que es un sub producto de la producción de panela.

2.1.1. Aislamiento de levadura

Para el aislamiento de *Saccharomyces cerevisiae*, a partir de chicha de jora y la biomasa de levadura (fermento), que se encuentran en el fondo de los recipientes, se tomaron las muestras de una productora de la localidad de Chachapoyas. Se aisló y se purificó las levaduras en placas de agar Sabouraud, estas se incuban a 28 °C por 48 horas. Para confirmar la especie se utilizó tinción gram y una prueba de fermentación.

2.1.2. Preparación de inóculo

Para preparar el inóculo se sembró por extensión *Saccharomyces cerevisiae*, obtenidas como se indicó en la sección anterior, en placas de Agar Sabouraud, se incubó 48 horas a 28°C. a tres placas donde se desarrolló *S. cerevisiae* se le adiciono 10 mL de agua destilada estéril para retirar por lavado las levaduras, se depositaron en un matraz de Erlenmeyer estéril de 250 mL, luego se adiciono 50 mL de agua destilada estéril. Con cámara de Neubauer y microscopio se determinó la concentración del inóculo. Para cada uno de los sistemas a ensayar se empleó 10, 15 y 20 mL de inóculo con 10^6 células de levadura/mL respectivamente.

2.1.3. Biorreactores

Se emplearon 15 biorreactores de 4 L de capacidad, con las mismas características y proporciones geométricas. Estos fueron baldes plásticos a cuya tapa se le hizo dos orificios (en el centro y al costado) uno para la inyección de aire y el otro para la salida del aire y el CO₂ producido durante la fermentación, además de facilitarnos la extracción de la muestra para realizar los análisis respectivos. En los orificios se adaptaron mangueras

que se colocaron en un recipiente con agua para la salida del CO_2 que se genera durante la fermentación y también para evitar el ingreso de aire del medio ambiente hacia el mosto.

Para la inyección del aire se utilizó bombas de acuario con las que se hizo ingresar 0,333 vvm (1 L de aire / min para 3 L de sustrato). El aire bombeado pasó por medio de una manguera plástica, hacia un recipiente con salmuera saturada el cual purifico el aire que ingreso por medio de una manguera plástica al biorreactor, al final del conducto de aireación el cual se encontraba colocado en el centro del biorreactor se colocó una piedra pómx para que el aire ingres en forma de pequeñas burbujas y de forma homogénea.

2.2 Diagrama de flujo de obtención de aguardiente a partir de cachaza

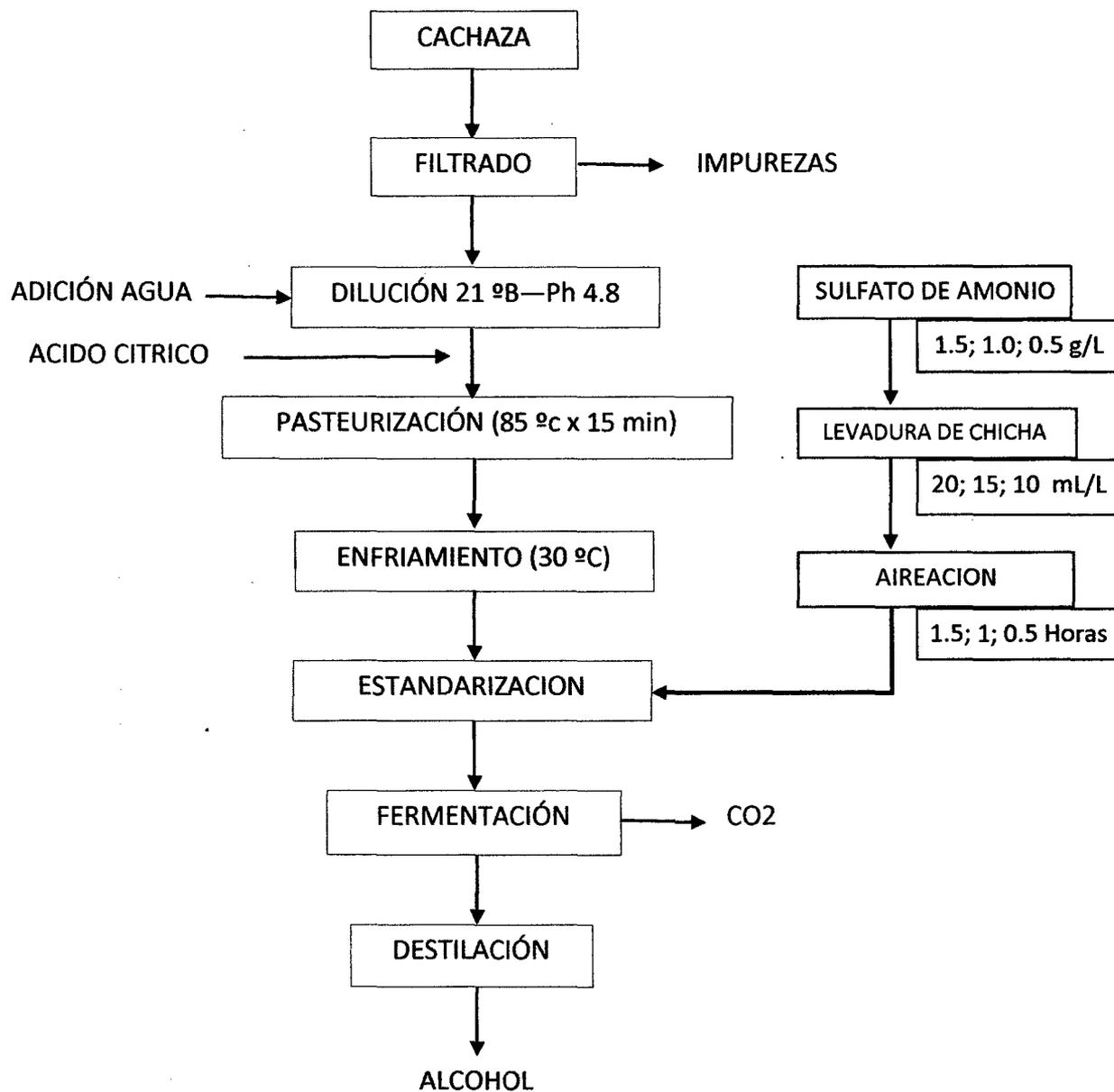


Figura 1.- Diagrama de flujo obtención para la obtención de alcohol a partir de cachaza

2.3 Seguimiento del proceso fermentativo

2.3.1. Inicio

La cachaza se trasladó al laboratorio de ingeniería de la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas donde se midió: la densidad los °Brix y el pH, luego el pH se ajustó con HCl concentrado. Se pasteurizó la muestra y se dejó enfriar a temperatura ambiente se realizó una dilución y a esta muestra se le realizaron la medición de la densidad, los °Brix y el pH. Para luego adicionar el sulfato de amonio, la levadura de chicha de jora y la aireación.

2.3.2. Cada 24 horas

En una muestra del sustrato en fermentación se midió: la densidad los °Brix y el pH.

2.3.3. Al final de la fermentación (96 horas)

Al finalizar la fermentación se procedió a ensamblar el equipo de destilación simple y se realizó la destilación hasta que el contenido alcohólico de la muestra se de 20 °GL.

2.3.4. Destilación

Una es ensamblado el equipo de destilación simple un balón de 1000 mL un refrigerante, dos mangueras y un matraz donde se receptiona el destilado.

2.3.5. Diseño estadístico Box-Behnken

Se utilizó el diseño estadístico Box-Behnken (Montgomery, 2004) para tres variables independientes, para obtener el mejor valor de cada una de las variables influyentes en la producción de aguardiente a partir de cachaza. En la Tabla 1 se muestra cada variable independiente con sus valores Alto (+), medio (0) y bajo (-) a ser evaluados.

2.3.6. Variables Independientes

- **Aireación:** desde el inicio de la fermentación a 0,333 vvm (1 L de aire / 3 L de sustrato (cachaza)): 90, 60 y 30 minutos.
- **(NH₄)₂ SO₄:** (en g/L de dilución de cachaza): 0,5; 1,0 y 1,5.
- **Levadura de Chicha de jora:** (en mL / litro de dilución de cachaza): 10, 15 y 20 mL.

2.3.7. Variable dependiente

En cada corrida experimental: Rendimiento = mL de aguardiente de 20 °GL / mL de dilución de cachaza.

Tabla 2. Valor de las variables independientes a evaluar con el diseño estadístico de Box – Behnken

VALOR	Aireación (horas) (X ₁)	(NH ₄) ₂ SO ₄ (g/L de dilución de cachaza) (X ₂)	Levadura de chicha de jora (mL/L de dilución de cachaza) (X ₃)
Alto (+)	1.5	1,5	20
Medio (0)	1.0	1,0	15
Bajo (-)	0.5	0,5	10

La distribución de los valores de las tres variables independientes de acuerdo al diseño estadístico de Box – Behnken para tres variables independientes, se realizó de acuerdo a la tabla 2, donde cada columna representa una variable y cada fila un experimento.

Tabla 3. Distribución de los valores de las variables independientes según el diseño estadístico de Box – Behnken

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

Fuente: Montgomery, 2004.

Los resultados experimentales se desarrollaron con el software estadístico Statgraphics para generar graficas de resultados de superficie.

III. RESULTADOS

3.1. Seguimiento de la fermentación

Tabla 4. Densidad, °Brix y pH de la cachada durante la fermentación alcohólica

Numero de Experimento	Densidad (g/mL)					°Brix					pH				
	inicio	24h	48h	72h	96h	inicio	24h	48h	72h	96h	inicio	24h	48h	72h	96h
1	1,079	1,063	1,032	1,028	1,027	21	16,5	15,0	14,1	11,7	4,8	4,3	4,1	3,6	3,5
2	1,079	1,067	1,055	1,054	1,035	21	17,0	15,5	13,2	10,8	4,8	4,6	4,3	3,9	3,5
3	1,079	1,075	1,065	1,055	1,040	21	18,0	16,5	16,1	15,2	4,8	4,4	4,2	4,0	3,6
4	1,079	1,070	1,065	1,040	1,035	21	18,5	17,5	15,6	13,1	4,8	4,6	4,4	4,0	3,5
5	1,079	1,062	1,040	1,033	1,023	21	18,5	18,0	15,8	13,6	4,8	4,3	4,0	3,8	3,5
6	1,079	1,061	1,040	1,035	1,021	21	17,5	17,0	15,9	12,8	4,8	4,2	4,0	3,5	3,3
7	1,079	1,069	1,063	1,035	1,030	21	18,5	17,0	16,0	15,8	4,8	4,5	4,3	3,9	3,5
8	1,079	1,064	1,031	1,029	1,027	21	18,5	17,5	16,3	14,3	4,8	4,5	4,0	3,7	3,2
9	1,079	1,065	1,038	1,030	1,024	21	17,0	15,5	15,0	13,9	4,8	4,7	4,3	3,8	3,6
10	1,079	1,069	1,047	1,033	1,022	21	18,2	15,0	12,5	13,7	4,8	4,4	3,9	3,8	3,7
11	1,079	1,060	1,039	1,025	1,022	21	20,8	17,5	14,2	13,5	4,8	4,5	4,2	3,8	3,4
12	1,079	1,065	1,044	1,030	1,035	21	17,0	15,0	14,5	14,0	4,8	4,7	4,2	3,7	3,3
13	1,079	1,061	1,038	1,023	1,021	21	17,5	15,5	13,7	12,5	4,8	4,4	3,8	3,5	3,2
14	1,079	1,059	1,037	1,025	1,022	21	17,5	15,8	14,2	12,9	4,8	4,6	3,9	3,6	3,3
15	1,079	1,063	1,040	1,023	1,020	21	17,5	16,0	13,5	13,0	4,8	4,5	3,7	3,5	3,1

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla 4 se observa que a medida que avanza la fermentación de la cachaza la densidad disminuye, esto se puede explicar debido a la producción de CO₂ que se genera la cual es disipada en el medio. Los °Brix disminuyen progresivamente debido también a la producción y disipación en el medio del CO₂, disminuyendo la cantidad de solidos disueltos en el medio, incidiendo directamente sobre el valor de los °Brix.

3.2. Destilación simple de jugo de caña

Tabla 5. Rendimiento de aguardiente de 20°Gay Lussac, de cada una de las 15 corridas experimentales.

Numero de experimento	Dilución de Cachaza (mL)	Aguardiente de 20°GL (mL)	Rendimiento (mL de aguardiente) mL de guarapo
1	3000	937.5	0,313
2	3000	750	0,250
3	3000	486	0,162
4	3000	788	0,263
5	3000	1055	0,351
6	3000	890	0,297
7	3000	600	0,200
8	3000	1005	0,335
9	3000	1044	0,348
10	3000	815	0,272
11	3000	1156.5	0,385
12	3000	959.5	0,320
13	3000	1115	0,372
14	3000	1100	0,367
15	3000	1109	0,370

Fuente: Elaboración Propia

3.3. Rendimiento de aguardiente aplicado al diseño estadístico Box-Behnken

Tabla 6. Resultado de cada una de la 15 corridas experimentales.

Número de experimento	Variables			Rendimiento de aguardiente (mL aguardiente) mL dilución de cachaza	Orden de producción
	(X ₁) Aireación (h)	(X ₂) (NH ₄) ₂ SO ₄ (g/ L dilución de cachaza)	(X ₃) Levadura de chicha de jora (mL/ L dilución de cachaza)		
1	0.5	0.5	15	0,313	9
2	0.5	1.5	15	0,250	13
3	1.5	0.5	15	0,162	15
4	1.5	1.5	15	0,263	12
5	0.5	1.0	10	0,351	5
6	0.5	1.0	20	0,297	10
7	1.5	1.0	10	0,200	14
8	1.5	1.0	20	0,335	7
9	1.0	0.5	10	0,348	6
10	1.0	0.5	20	0,272	11
11	1.0	1.5	10	0,385	1
12	1.0	1.5	20	0,320	8
13	1.0	1.0	15	0,372	2
14	1.0	1.0	15	0,367	4
15	1.0	1.0	15	0,370	3

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla 6 se puede apreciar que con los valores de las variables del experimento 11 se ha obtenido el mayor rendimiento de aguardiente.

Tabla 7. Análisis de varianza para rendimiento de aguardiente

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Cuadrado medio	Razón-F	Valor-P
A:Aireación	0.007442	1	0.007442	6.01	0.0579
B:sulfato de amonio	0.00189113	1	0.00189113	1.53	0.2715
C:Levadura de chicha	0.000561125	1	0.000561125	0.45	0.5308
AA	0.0236062	1	0.0236062	19.05	0.0073
AB	0.006724	1	0.006724	5.43	0.0672
AC	0.009604	1	0.009604	7.75	0.0387
BB	0.00673478	1	0.00673478	5.44	0.0671
BC	0.00003025	1	0.00003025	0.02	0.8819
CC	0.0000680064	1	0.0000680064	0.05	0.8241
Error total	0.00619492	5	0.00123898		
Total (corr.)	0.0616537	14			

Fuente: Elaboración Propia

El valor-P menor de 0,05 (95% de confianza) indica que son variables influyentes en el rendimiento de aguardiente.

Tabla 8 Coeficiente de regresión para rendimiento de aguardiente

Coeficiente	Estimado
Constante	= 0.4475
Aireación	= 0.120667
Sulfato de amonio	= 0.191917
Levadura de chicha de jora	= -0.027525
AA	= -0.319833
AB	= 0.164
AC	= 0.0196
BB	= -0.170833
BC	= 0.0011
CC	= 0.000171667

Fuente: Elaboración Propia

Con los valores experimentales obtenidos al ejecutar la matriz del diseño estadístico de Box-Behnken para la optimización de la producción de aguardiente a partir de cachaza, se realizó un análisis de regresión y se obtuvo la ecuación del modelo que mejor se ajusta a estos resultados, la cual viene dada por:

$$\text{Rendimiento de aguardiente} = 0.4475 + 0.120667 \cdot \text{Aireación} + 0.191917 \cdot \text{sulfato de amonio} - 0.027525 \cdot \text{levadura de chicha} - 0.319833 \cdot \text{Aireación}^2 + 0.164 \cdot \text{Aireación} \cdot \text{sulfato de amonio} + 0.0196 \cdot \text{Aireación} \cdot \text{levadura de chicha} - 0.170833 \cdot \text{sulfato de amonio}^2 + 0.0011 \cdot \text{sulfato de amonio} \cdot \text{levadura de chicha} + 0.000171667 \cdot \text{levadura de chicha}^2$$

En la figura 2 se muestra la influencia de tres variables independientes, siendo la más influyente la aireación y la menos influyente la levadura de chicha de jora, pero la interacción de la aireación y el sulfato de amonio, mejora el rendimiento de aguardiente.

Gráfico de Pareto estandarizado para Rendimiento de aguardiente

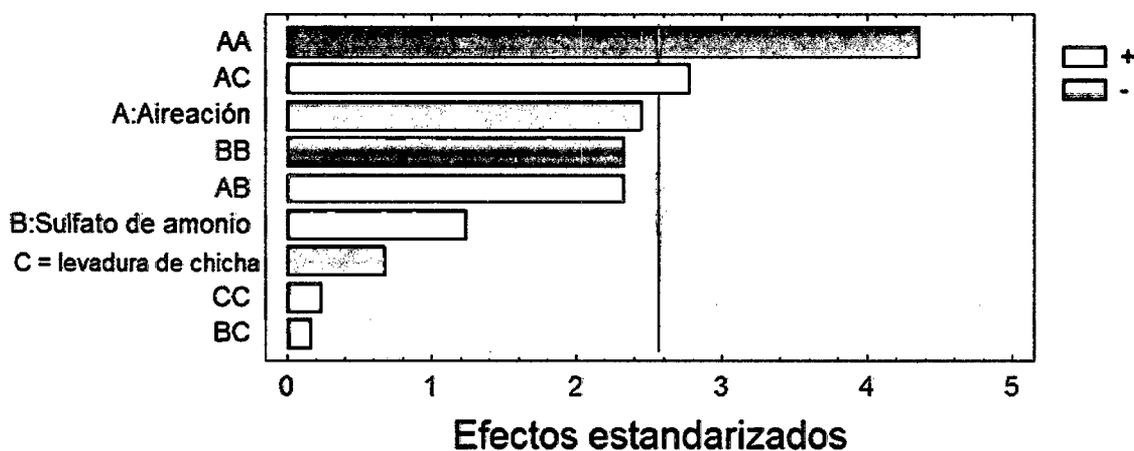


Figura 2.- Diagrama de Pareto estandarizado para rendimiento de aguardiente. Fuente: Elaboración propia.

Tabla 9. Parámetros óptimos para el rendimiento de aguardiente.

Valor opimo = 0,402496

Factor	Bajo	Alto	Óptimo
Aireación	0,5	1,5	0,738109
Sulfato de amonio	0,5	1,5	0,948242
Levadura de chicha de jora	10,0	20,0	10,0

Fuente: elaboración propia

En la figura 3 se muestra que a una concentración de sulfato de amonio (g/L de dilución de cachaza) versus la aireación (horas) y con una cantidad de 10 mL de chicha de jora se obtienen el máximo rendimiento de aguardiente.

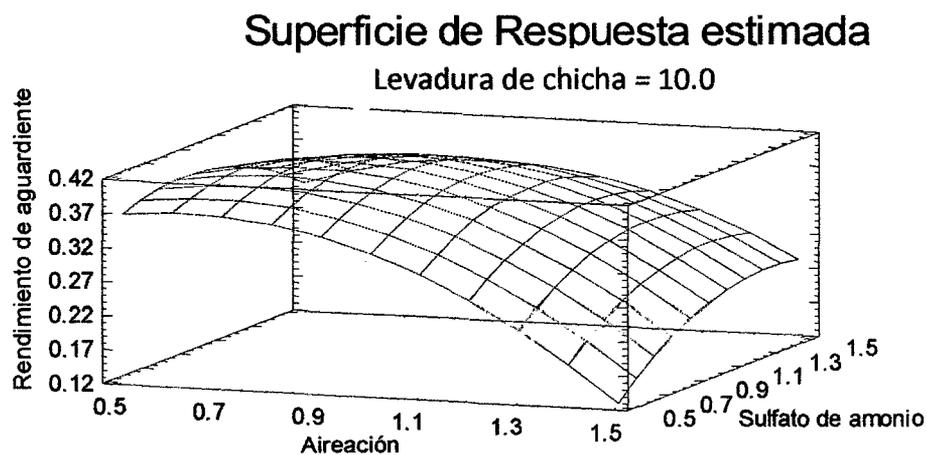


Figura 3.- Representación gráfica para rendimiento de aguardiente optimizado bajo un modelo de superficie respuesta. Fuente: Elaboración propia.

En la figura 4 se representa el punto de máximo rendimiento de aguardiente lo cual se obtiene con los valores medio en concentración de sulfato de amonio, aireación baja y con una concentración de 10 mL de levadura chicha de jora como agente fermentativo.

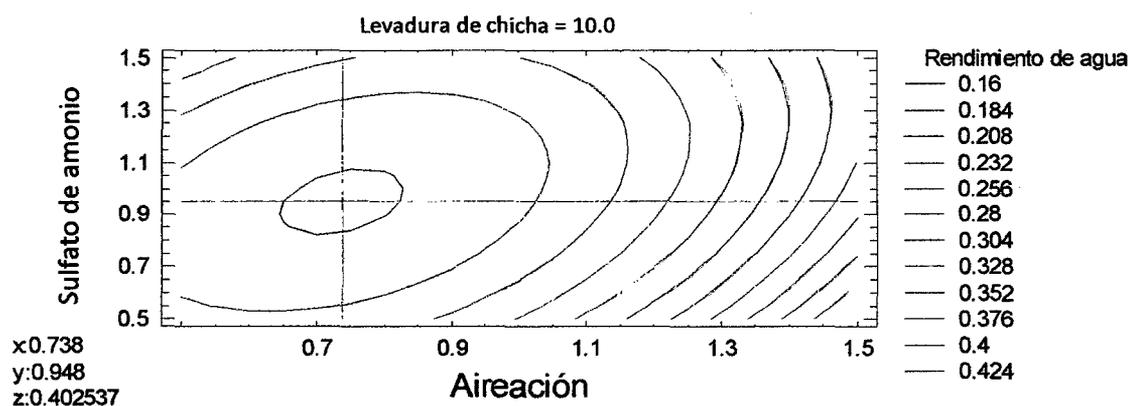


Figura 4.- Representación gráfica para rendimiento de aguardiente bajo un modelo contorno superficie. Fuente: Elaboración Propia.

Tabla 10. Parámetros óptimos para producción de aguardiente a partir de cachaza de caña de azúcar.

Parámetros del proceso de fermentación de cachaza	
Volumen inicial de la cachaza (L)	3,0
pH	4,8
Sulfato de amonio (g/L)	1,0
Aireación 0,333 vvm (h)	1,0
Levadura de chicha de jora (mL)	10
Temperatura del ambiente	18-22
Tiempo (horas)	96,0
Volumen de aguardiente a obtener mL	385.23
Rendimiento de aguardiente %	

IV. DISCUSIÓN

Con una hora de aireación a 0,333 vvm se ha obtenido el mayor rendimiento de aguardiente. La aireación se realiza con la finalidad de incrementar la biomasa de *Saccharomyces cerevisiae* esto se realiza en sustratos que contienen azúcares reductores, una vez incrementada la biomasa esta coloniza rápidamente el sustrato. En anaerobiosis, la *S. cerevisiae* convierte los azúcares reductores en etanol y CO₂. En el presente trabajo de investigación se determinó que con una hora de aireación se obtuvo el mayor rendimiento de aguardiente.

A medida que avanza la fermentación, se aprecia en la tabla 4, que la densidad de va disminuyendo, los azúcares reductores aumentan debido a la hidrolización de la sacarosa presente en el sustrato; los °Brix disminuyen debido a que durante la biocomercion de la sacarosa en etanol realizado por la acción de la *S. cerevisiae* se produce CO₂ gaseosos que sale del sustrato en fermentación, perdiéndose masa.

Con la mayor concentración de sulfato de amonio (1.5 g/L), si se asocia a una hora de aireación empleada en el presente trabajo de investigación, pudimos obtener el mayor rendimiento de aguardiente, resultado que se favorece más si se emplea el valor más bajo de levadura de chicha de jora (10 mL/L sustrato), tal como podemos apreciar en la figura 2 de superficie respuesta obtenida con el software Statgraphics.

La tabla 7 de análisis de varianza, particiona la variabilidad de rendimiento de aguardiente en piezas separadas para cada uno de sus efectos, entonces la significancia estadística de cada efecto comparando su cuadrado medio contra un estimado del error experimental en este caso, 2 efectos tienen un p-valor menor que 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero con un nivel de confianza del 95,0 %.

En la presente investigación, el máximo rendimiento fue de 385,5 ml etanol de 20 °GL/L de dilución de cachaza y se ha obtenido con los valores de las variables del experimento 60 minutos de aireación a 0.333 vvm, 1,5g de (NH₄)₂SO₄ por litro de dilución de cachaza y 10 ml de levadura de chicha de jora con 106 cél.Lev./ml por litro de dilución de cachaza. Barrena et al. (2010), Obtuvieron un máximo

rendimiento de aguardiente de 350 ml de 20 °GL/L de guarapo con los siguientes valores de las variables: 2 horas de aireación a 0,333 vvm, 0,5 gramos de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ por litro de jugo de caña de azúcar y 3,0 gramos de azúcares reductores por litro de jugo de caña de azúcar (contenido promedio de jugo de caña de azúcar recién extraído). Tabaco & Tejana (2012), obtuvieron un máximo rendimiento de 367 ml de aguardiente de 20 °GL/L de guarapo con los siguientes valores de las variables: 1 hora de aireación a 0,45 vvm, 1,0 gramo de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ por litro de jugo de caña de azúcar y 9,0 gramos de azúcares reductores por litro de jugo de caña de azúcar y 9,0 gramos de azúcares reductores por litro de jugo de caña de azúcar. Carrión & Huaman (2008), determinación los parámetros óptimos para la obtención de etanol a partir de la fermentación del almidón de la papa (*solanum tuberosum*) Yungay, usando *saccharomyces cerevisiae* MIT L-51 : 20% p/v de azúcares reductores, 0,18 g de sulfato de amonio/ L de sustrato y un tiempo de 72 horas de fermentación a 33 °C, dando un rendimiento de 94,67 gg de etanol/L de sustrato. Con el cual se demuestra que materias primas diferentes tienen comportamientos diferentes durante la fermentación con cantidades variables del sulfato de amonio y tiempo de aireación, además que también influye la temperatura del proceso de fermentación.

Según los parámetros óptimos para rendimiento de etanol (tabla 09), se deduce de manera general que la mayor concentración de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ es la que permite mayor rendimiento de etanol. Mientras que el tiempo de aireación es influyente para el rendimiento de etanol tal como muestra en el análisis de varianza (tabla 07) y en la figura 1 del diagrama de Pareto estandarizado. Sin embargo la interacción de la concentración de sulfato de amonio con la cantidad de fermento de chicha de jora (106 cel. Lev/ml), manteniendo constante la aireación, se obtiene los mejores rendimiento de etanol (experimentos 11 y 13, 14 y 15). Manteniendo constante la cantidad de fermento de chicha de jora y interaccionando el tiempo de aireación con la cantidad de sulfato de amonio (experimentos 5 y 9), se obtiene un rendimiento de aguardiente aceptable en comparación a los otros tratamientos no mencionados.

V. CONCLUSIONES

- El máximo rendimiento de aguardiente fue de 0,385 mL de 20 °GL/mL de cachaza con los siguientes valores de las variables: 1 hora de aireación a 0,333 vvm, 1,5 gramos de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ por litro de cachaza y 10 ml de levadura de chicha de jora por litro de cachaza.
- Las variables más influyentes para la producción de aguardiente a partir de cachaza es la aireación y el $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Sulfato de amonio).
- A una concentración de 1,5 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ /L de cachaza, es aquella que nos ha permitido obtener el mayor rendimiento de aguardiente.
- El tiempo de fermentación para obtener mayor cantidad de aguardiente fue de 96 horas.
- El objetivo principal del presente trabajo de investigación fue obtener aguardiente a partir de Cachaza lo cual se logró exitosamente.
- Este proyecto tiene como finalidad dar una alternativa de desarrollo a la industria panelera en nuestra región.

VI. RECOMENDACIONES

Los productores paneleros para poder obtener un máximo rendimiento de aguardiente a partir de cachaza deben de seguir la siguiente secuencia de trabajo

- Recolectar la cachaza en el momento de la producción y no almacenar por mucho tiempo para evitar una fermentación natural.
- Realizar análisis previos a la materia obtenida como son pH, °Brix y densidad.
- Realizar una dilución de la cachaza obtenida y llegar a los 21 °Brix.
- Pasteurizar la cachaza una vez realizada la dilución respectiva.
- Corregir el pH a 4,8.
- Suplementar 1,5 g de sulfato de amonio por litro de cachaza diluida.
- Adicionar 10 mL de levadura de chicha de jora el cual se utilizó como agente fermentativo.
- Airear por el espacio de una hora al sustrato con 0,333 vvm.
- Fermentar por un espacio de 72 a 96 horas.
- Realizar la destilación respectiva en un alambique o equipo de destilación simple de acuerdo a la cantidad fermentada.
- Deben de contar con un alcoholímetro para determinar el momento en el cual deben de detener la destilación. De esta manera se estará obteniendo un producto estándar con respecto al contenido alcohólico de 20 ° GL.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barrena Gurbillon, M.A., O.A. Gamarra T. y J.L. Maicelo Q. 2010. Estandarización de la producción de aguardiente en la región de Amazonas. Investigaciones amazonenses. Revista oficial de investigación Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Volumen 5 – N° 1 enero – julio 2011.
- Bertolini L.; Zambonelli L.; Giudici P. y Castellari L. (1996). Higher alcohol production by cryotolerant *Saccharomyces* strains. American Journal of Enology and Viticulture. Vol 47, N° 3, 343-345.
- Brock, T.D. & Madigan. 1993. Microbiología. 6ta. Edic. Edit. Prentice Hall Hispanoamericana S.A. México.
- Cueva P.H. & Huayama S.P.M. 2007. Elaboración de bebida alcohólica a partir de jugo de naranja (*Citrus sinensis* (L) Osbeck) suplementado con panela y sulfato de amonio, fermentado con *Saccharomyces cerevisiae* MIT-L-51. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agroindustrial. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza – Amazonas. Perú
- Gálvez, L. O. (Ed) (1990). La industria de los derivados de la caña de azúcar. ICIDCA MINAZ. La Habana, Cuba.
- González, W.J. 1998. Estudio de prefactibilidad para instalar en Costa Rica una planta de producción de ETBE. Proyecto de graduación Lic. Ing. Química. San José, Costa Rica. 272p.
- Guillaume G. 2004. Bases científicas y tecnológicas de la enología. 1ra Ed. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza-España.
- Hernández, MT. 2007. Tendencias actuales de la producción de bioetanol. Boletín Electrónico N° 08. Facultad de ingeniería – Universidad Rafael Landívar. Cuba.



- Rojas S. A. A. & Rojas S. E. 2014. Influencia del tiempo de aireación, concentración de azúcares reductores en la producción de etanol a partir de mucilago de café (*Coffea arabica*). Tesis para obtener el título de Ingeniero Agroindustrial. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza – Amazonas. Perú
- Solano, G., Cobos, V., Fernández, J., Ramírez, R., Cabrales, D., 2001. Elaboración y evaluación de productos industriales para la alimentación animal. Revista Cuba de Ciencia Agrícola, Vol.35, núm. 4, pp. 345-348, Instituto de Ciencia Animal Cuba.
- Solano, L., (1989); jugo de caña, dos fuentes de proteína y dos nieles proteicos en la alimentación de cerdos en leante-ceba. Reporte de investigación CIPAV: cali(2):91-1001
- Tabaco T. N. & Tejada CH. E. 2012. Influencia del tiempo de aireación, concentración de azúcares reductores y sulfato de amonio sobre el rendimiento de aguardiente de 20 °GL. Tesis para obtener el título de Ingeniero Agroindustrial. Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza – Amazonas. Perú

Anexos

ANEXO 1

CONTEO DE CÉLULAS DE LEVADURA EN EL INOCULO UTILIZANDO LA CÁMARA DE NEUBAUER

Para el conteo de células de levadura se procedió según el manual de prácticas de microbiología básica de Hernando Valencia, (2004).

Procedimiento

1. Se tomó la cámara y se fijó sobre ella la laminilla.
2. Con una pipeta Pasteur se tomó la muestra del cultivo a examinar.
3. Se depositó suavemente el líquido al borde de la laminilla (o en la ranura dispuesta) y se cargó por capilaridad el volumen exacto requerido.
4. Se enfocó a mayor aumento. Se ajustó la intensidad luminosa para observar tanto las células como las líneas de la cámara. Luego se pasó al objetivo de 40x.
5. Se contó los cuadrados de las esquinas (sub divididos en 16 cuadrados secundarios), y el central, cuyo volumen es de mm^3 .

Se utilizó la siguiente fórmula

$$\frac{\text{numero de celulas}}{mL \text{ o } cm^3} = \frac{(A_1 + A_3 + C_1 + C_3 + B_2)/5}{\text{factor de dilucion} \times 10^{-4} cm^3}$$

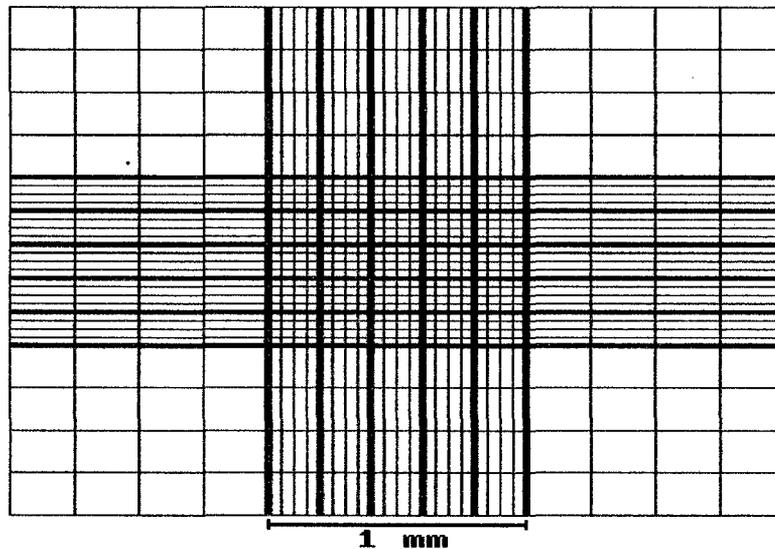


Figura 5.- Esquema de la cuadrícula de una cámara de Neubauer

$$\frac{\text{numero de celulas}}{mL \text{ o } cm^3} = \frac{(12+8+9+11)/5}{10^{-2} \times 10^{-4} cm^3} = 10^7$$

ANEXO 2

DESCRIPCIÓN DE CADA UNA DE LAS ETAPAS DEL PROCESO PARA OBTENER AGUARDIENTE A PARTIR DE LA DILUCIÓN DE LA CACHAZA

Después de realizar la disolución a 21 °Brix se procederá a incorporar el ácido cítrico para regular el pH hasta 4,8.

Filtrado: se utilizara un tamiz o colador, con la finalidad de retirar las impurezas que se encuentran en el mosto.

Pasteurización: se realizara a 85 °C durante 15 minutos, con la finalidad de disminuir la carga microbiana o eliminar microorganismos no deseados en el proceso de fermentación.

Enfriamiento: Se disminuyo la temperatura de la dilución a 30 °C mediante una agitación, con el objetivo de acondicionar la dilución adicionar el fermento.

Estandarizaron: Adición de la levadura de chicha de jora, sulfato de amonio y aireación: se adiciono el fermento de chicha de jora, el sulfato de amonio y la aireación en función al diseño estadístico establecido.

Fermentación: el proceso de fermentación dura 96 horas dentro de los parámetros adecuados como son temperatura y otros.

Destilación: se realizó en un equipo de destilación simple.

ANEXO 3

SUPERFICIE DE RESPUESTA PARA RENDIMIENTO DE AGUARDIENTE

Superficie de Respuesta estimada

Levadura de chicha = 20.0

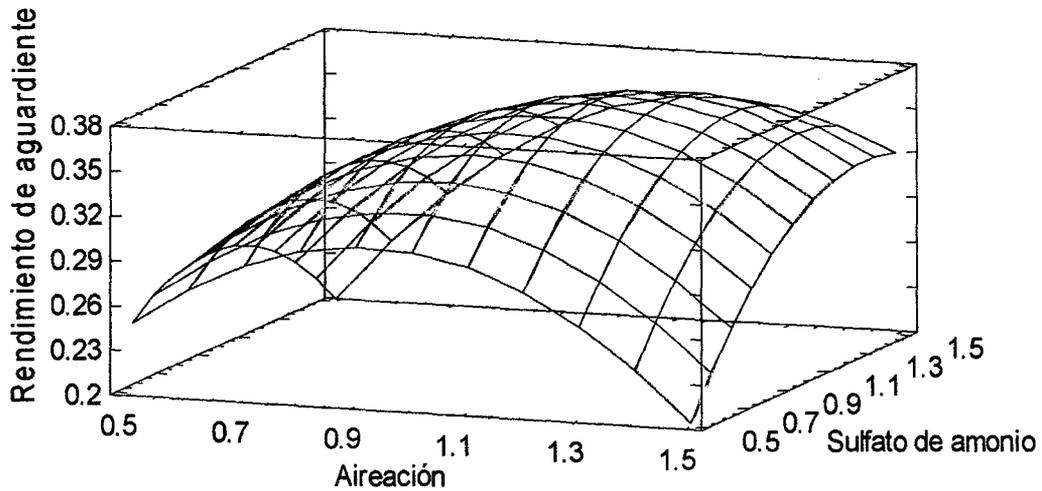


Figura 6.- Superficie respuesta para rendimiento de aguardiente con una concentración de levadura de chicha de jora de 20 mL / L de sustrato

Superficie de Respuesta estimada

Levadura de chicha = 15.0

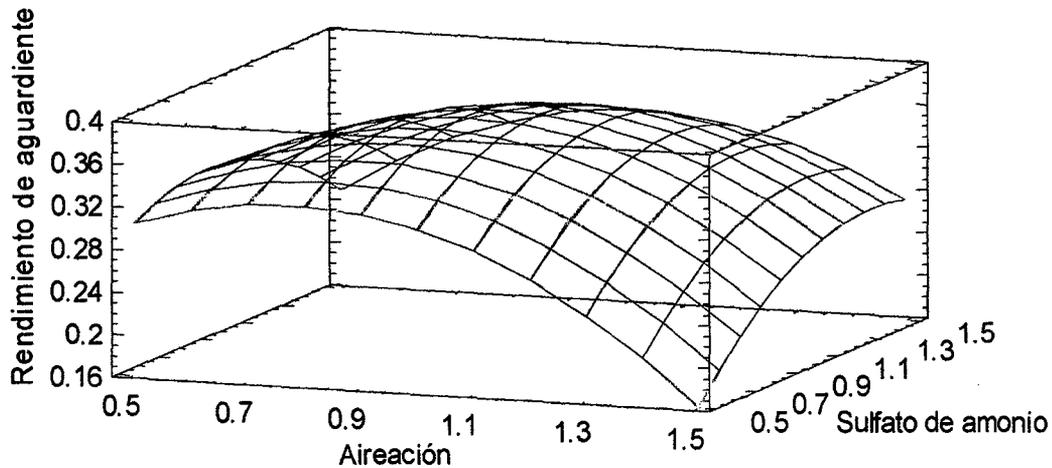


Figura 7.- Superficie respuesta para rendimiento de aguardiente con una concentración de levadura de chicha de jora de 15 mL / L de sustrato

Superficie de Respuesta estimada

Levadura de chicha = 10.0

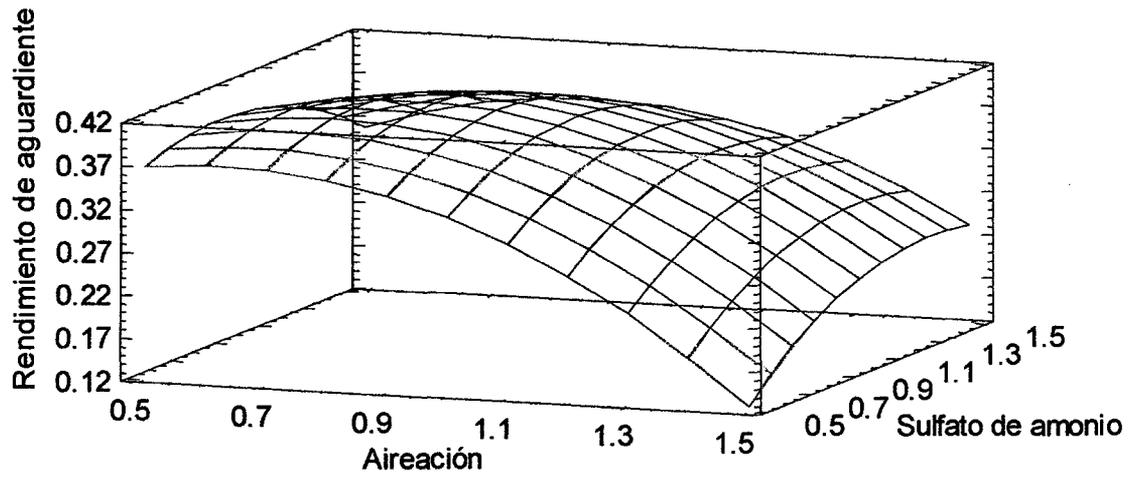


Figura 8.- Superficie respuesta para rendimiento de aguardiente con una concentración de levadura de chicha de jora de 10 mL / L de sustrato

ANEXO 4

CONTORNO DE SUPERFICIE DE LA RESPUESTA ESTIMADA PARA RENDIMIENTO DE AGUARDIENTE.

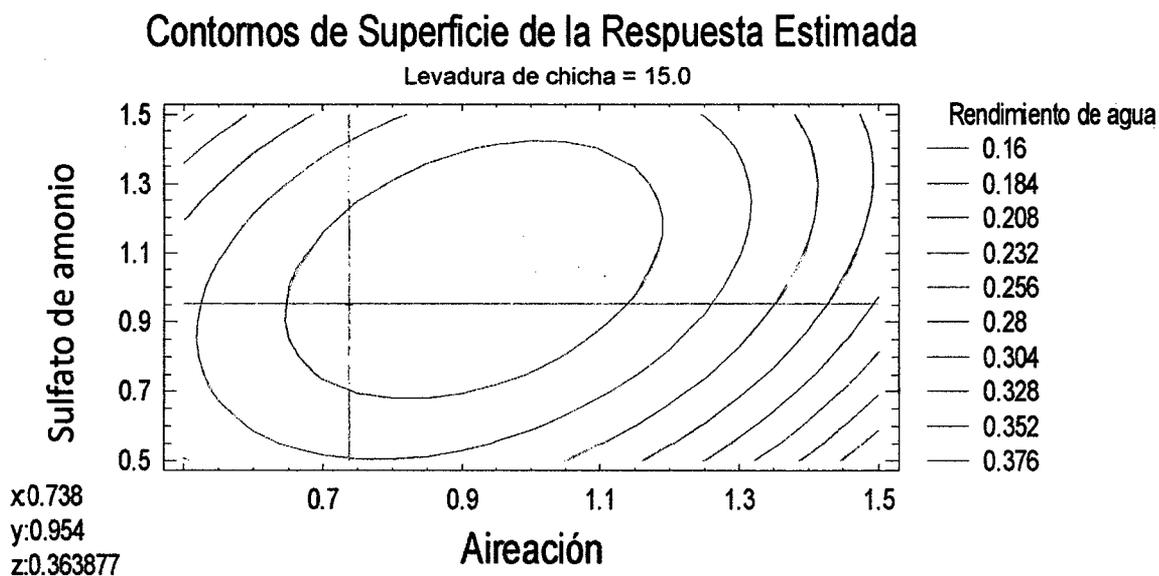


Figura 9.- Contorno de superficie respuesta estimada para rendimiento de aguardiente con una concentración de levadura de chicha de jora de 15 mL / L de sustrato

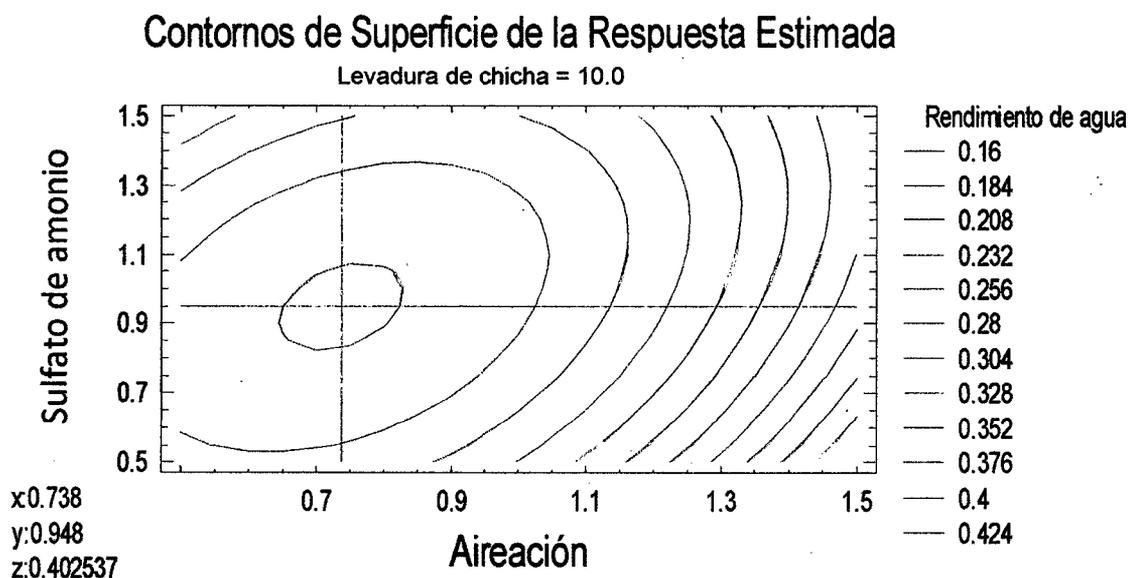


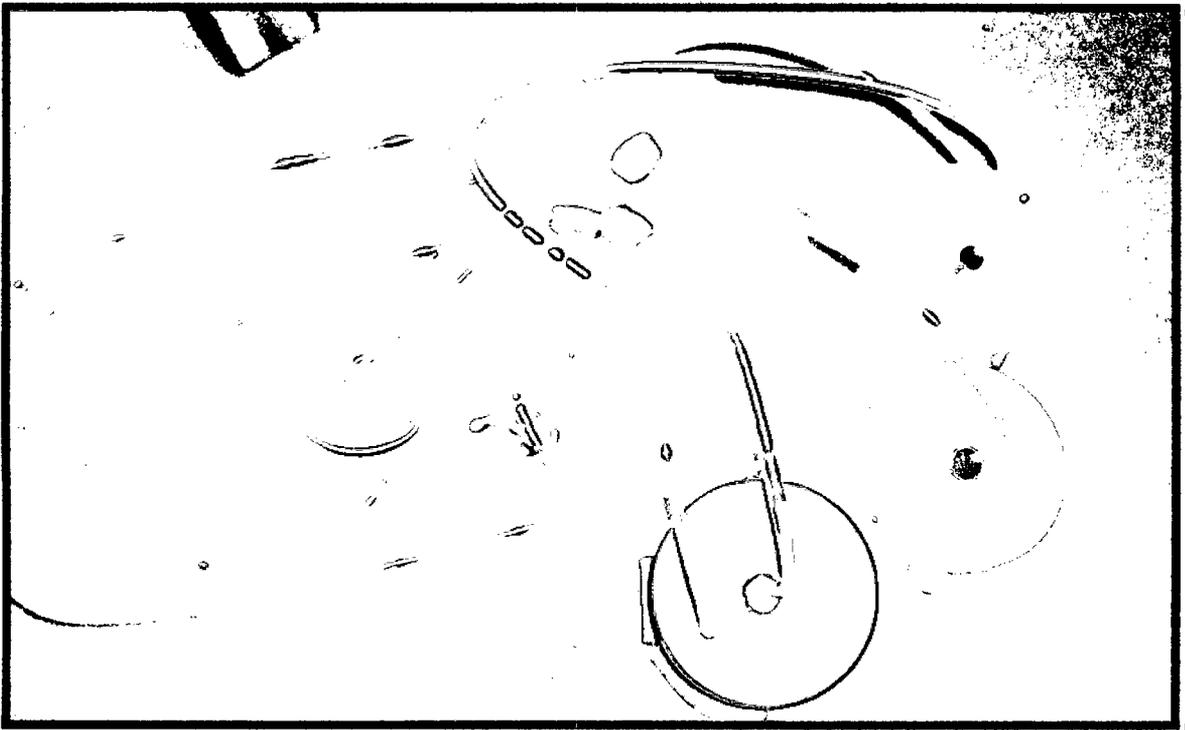
Figura 10.- Contorno de superficie respuesta estimada para rendimiento de aguardiente con una concentración de levadura de chicha de jora de 10 mL / L de sustrato

ANEXO 5

ARMADO DE LOS BIORREACTORES



Fotografía 1.- Armado de los biorreactores



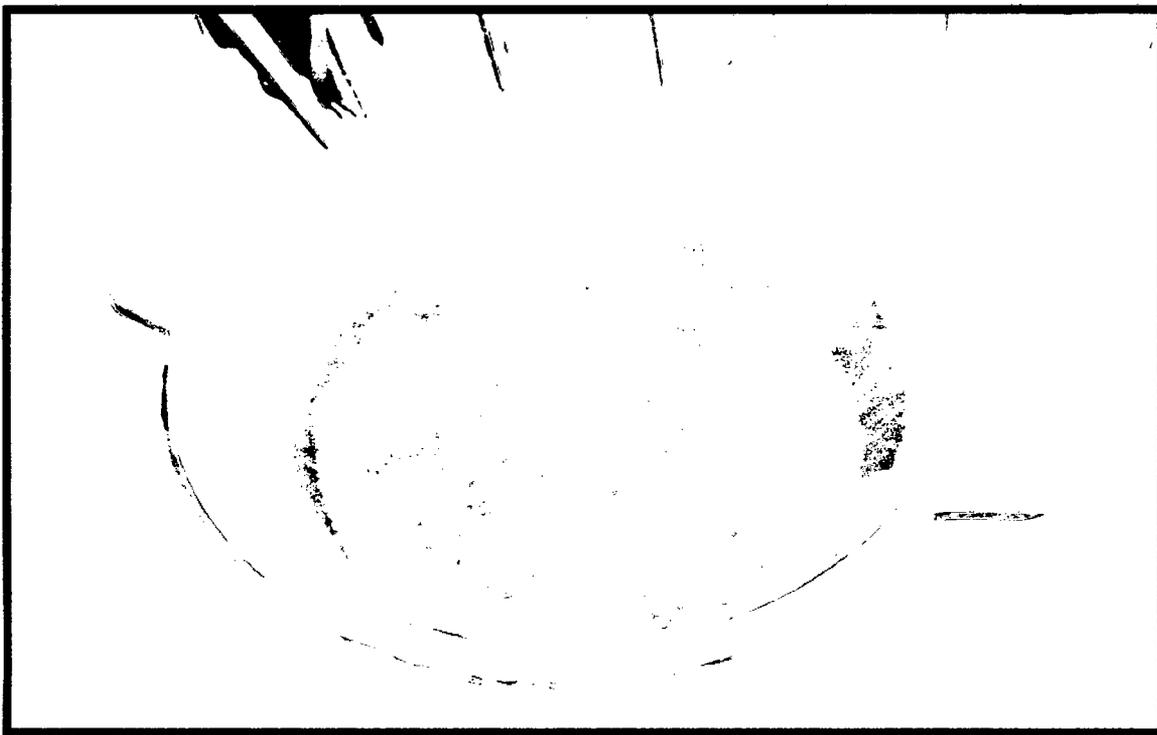
Fotografía 2.- Biorreactores

ANEXO 6

OBTENCIÓN DE LA CACHAZA



Fotografía 3.- Obtención de alcohol



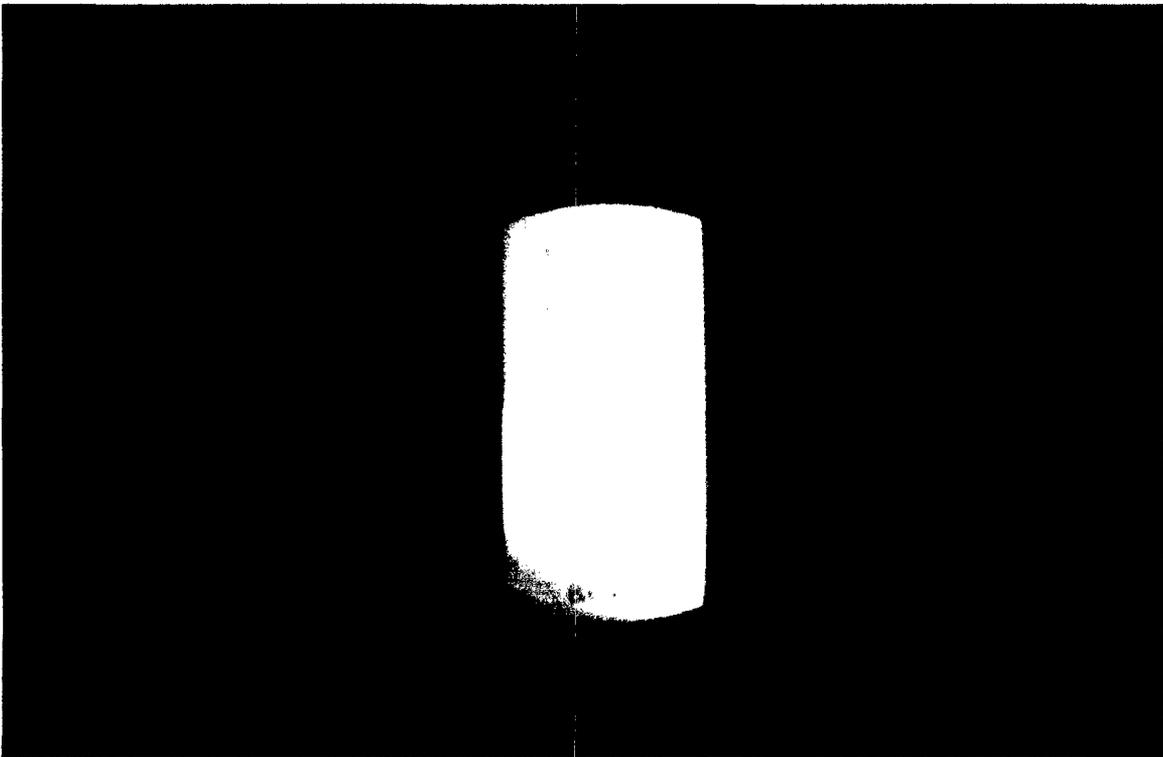
Fotografía 4.- Muestra de cachaza

ANEXO 7

ANÁLISIS DE LA MUESTRA (CACHAZA)



Fotografía 5.- Análisis de la muestra



Fotografía 6.- °Brix de la muestra (Cachaza)

ANEXO 8

DILUCIÓN Y ESTERILIZACIÓN DE LA MUESTRA



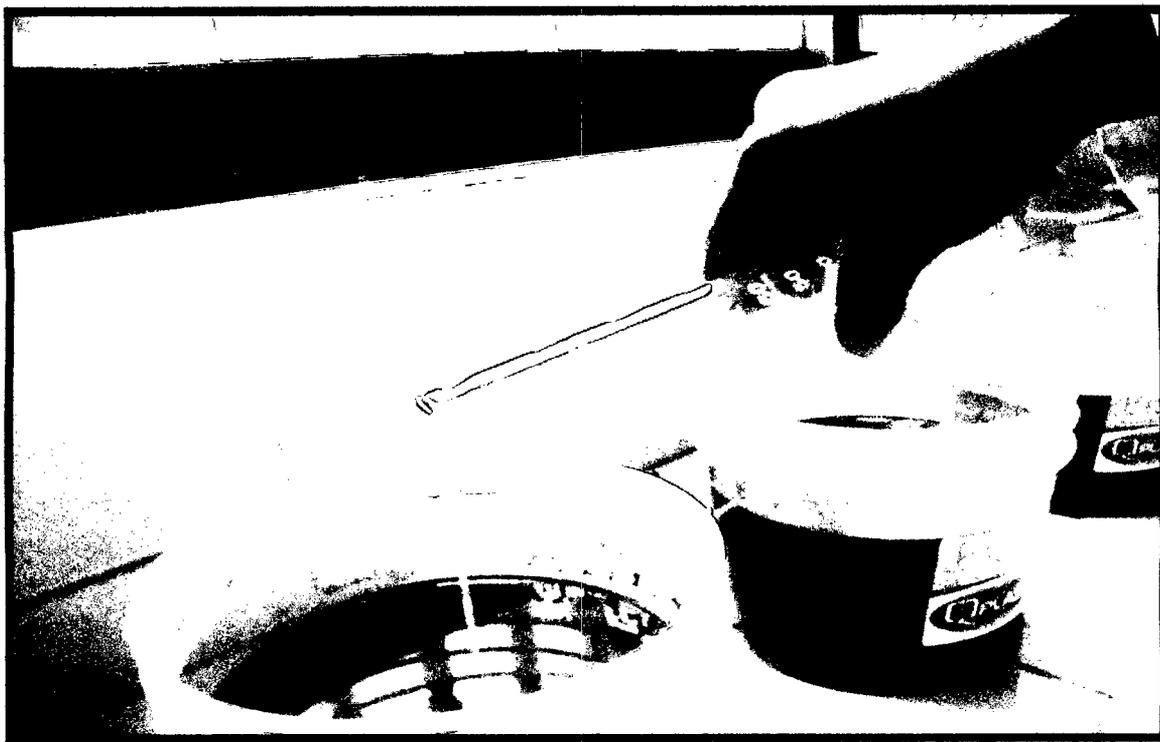
Fotografía 7.- Dilución de la muestra (Cachaza)



Fotografía 8.- Esterilización de la muestra (Cachaza)

ANEXO 9

**ADICIÓN DE LA LEVADURA DE CHICHA DE JORA Y DEL
SULFATO DE AMONIO**



Fotografía 9.- Adición de la levadura de chicha de jora



Fotografía 10.- Adición del sulfato de amonio

ANEXO 10

AIREACIÓN A LA MUESTRA (CACHAZA)



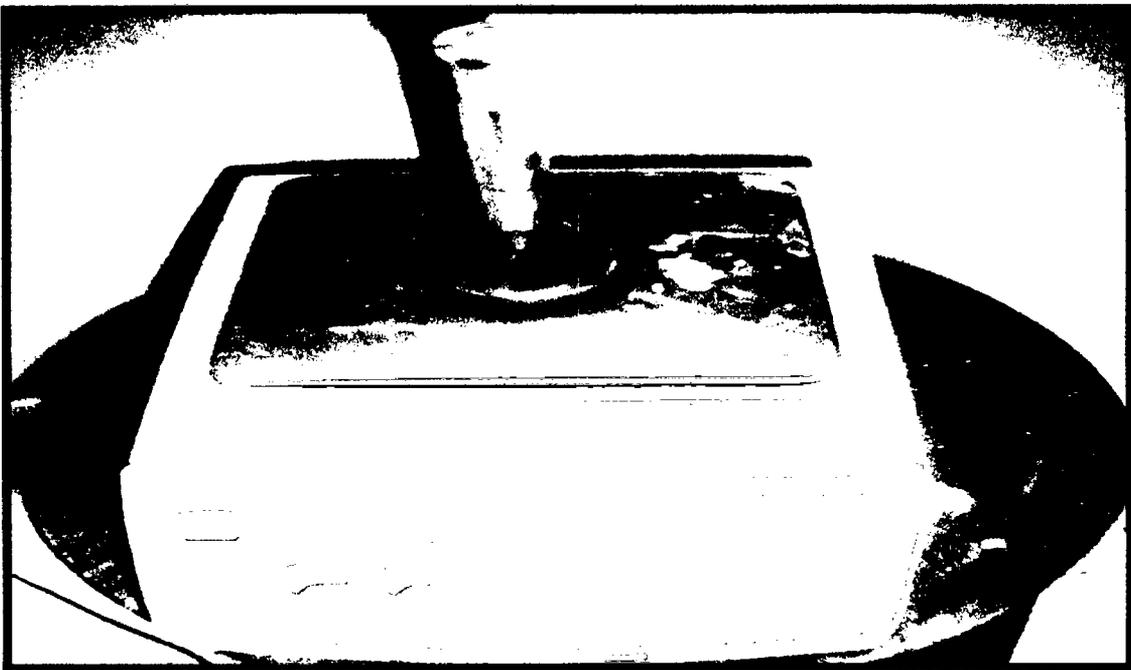
Fotografía 11.- Aireación de la muestra (Cachaza)

ANEXO 11

SEGUIMIENTO DE PROCESO FERMENTATIVO



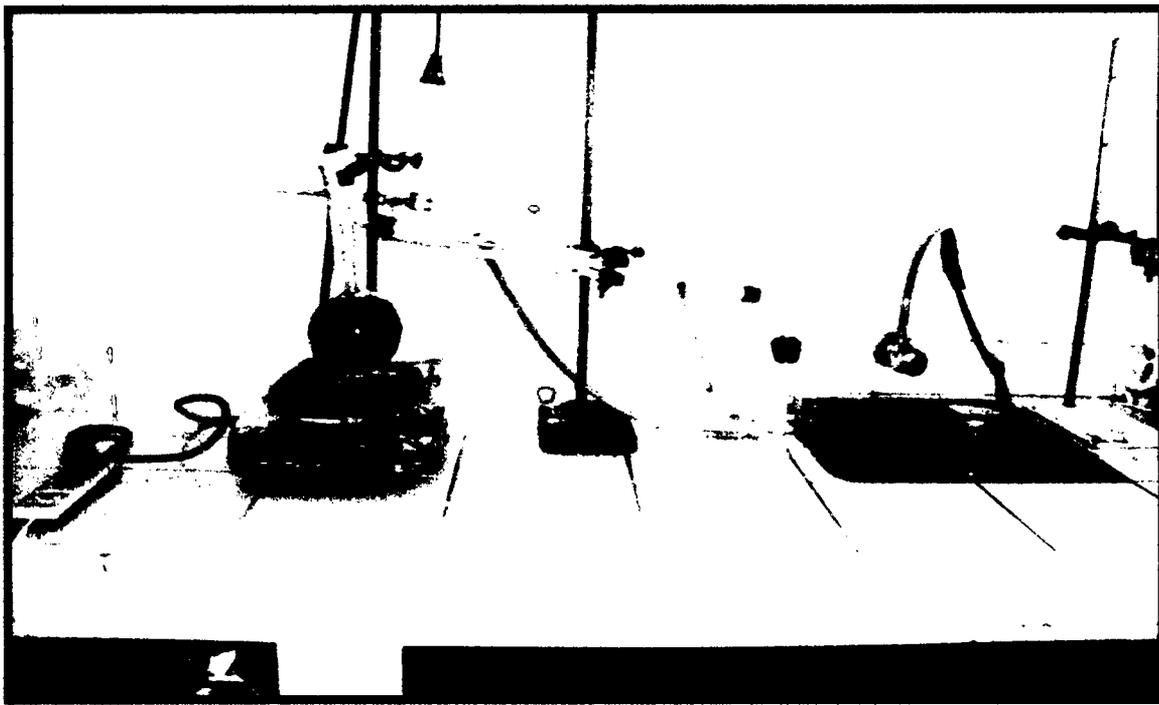
Fotografía 12.- Seguimiento de la fermentación



Fotografía 13.- determinación de la densidad.

Anexo 12

Destilación de la dilución de cachaza



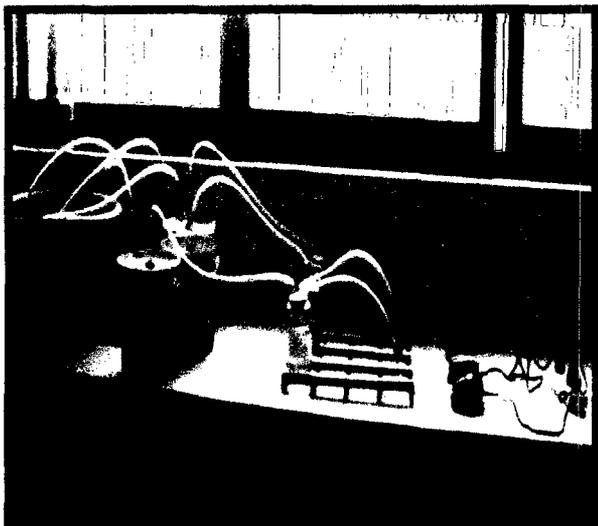
Fotografía 14.- destilación simple



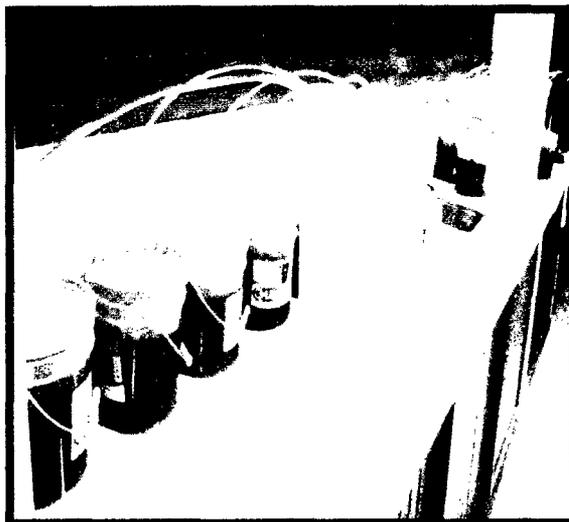
Fotografía 15.- destilado

ANEXO 13

BIORREACTORES CON INYECCIÓN DE AIRE Y SUSTRATO, EN FERMENTACIÓN Y SU DISEÑO



Fotografía 16.- Inyección de aire a los con bioreactores



Fotografía 17.- Biorreactores sustrato en fermentación

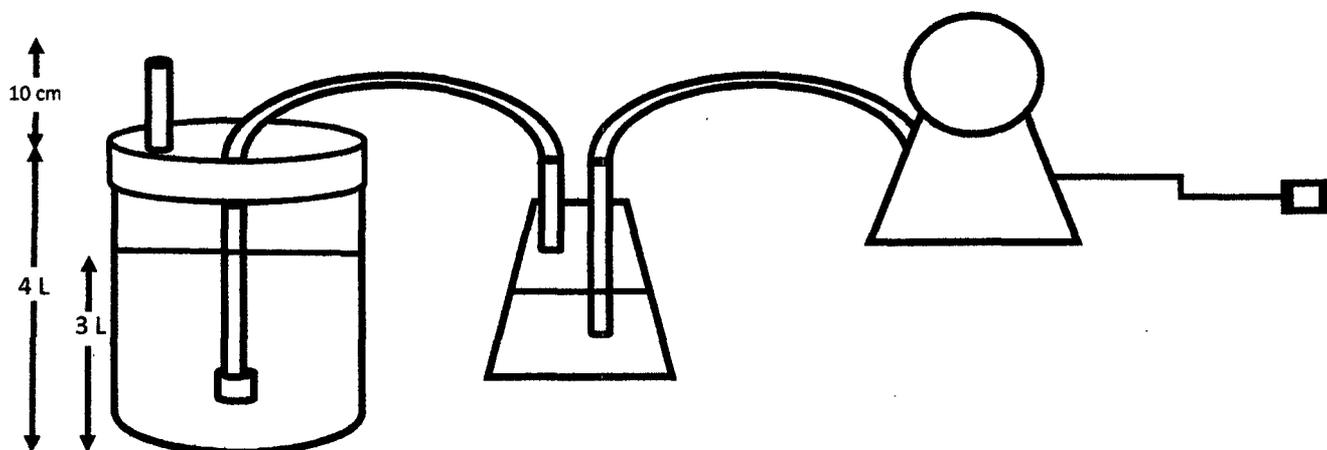


Figura 11.- Diseño del sistema utilizado en la fermentación.