

CAPÍTULO I
INTRODUCCION

CAPÍTULO 1

INTRODUCCION

1.1. ANTECEDENTES

El alcohol etílico o etanol es un alcohol que se presenta como un líquido incoloro e inflamable con un punto de ebullición de 78 °C. Puede mezclarse con agua en cualquier proporción, y forma con ella una mezcla azeotrópica.

Normalmente el etanol se concentra por destilación de disoluciones diluidas. El de uso comercial contiene un 95% en volumen de etanol y un 5% de agua. Ciertos agentes deshidratantes extraen el agua residual y producen etanol absoluto. El etanol tiene un punto de fusión de -114,1°C, un punto de ebullición de 78,5°C y una densidad relativa de 0,789 a 20°C. (Salomon,2007)

Gran parte del etanol que se produce en el mundo es, de hecho, derivado del petróleo. Se elabora fácilmente a partir de la hidrólisis del etileno, un importante petroquímico y el bioetanol de materiales contemporáneos como materiales orgánicos (ej. Maíz trigo, papa, caña, etc.)

El bioetanol es un producto químico obtenido a partir de la fermentación de los azúcares que se encuentran en los productos vegetales, tales como cereales, remolacha, caña de azúcar o biomasa. Estos azúcares están combinados en forma de sacarosa, almidón, hemicelulosa y celulosa. (García C y García L,2006)

El bioetanol y el etanol sintético son químicamente indistinguibles – ambos tienen el mismo compuesto, C_2H_5OH . La única diferencia entre los dos es la composición isotópica de los átomos de carbono. (Tamers,2006)

1.2. BIOENERGIA.

La conversión de energía solar en energía química, que se realiza en los vegetales durante la fotosíntesis, es uno de los fenómenos más fascinantes de la naturaleza. En la planta iluminada por el sol, la fugaz radiación solar se transforma en productos estables, absolutamente esenciales a la vida en nuestro planeta. Y, desde el principio de la

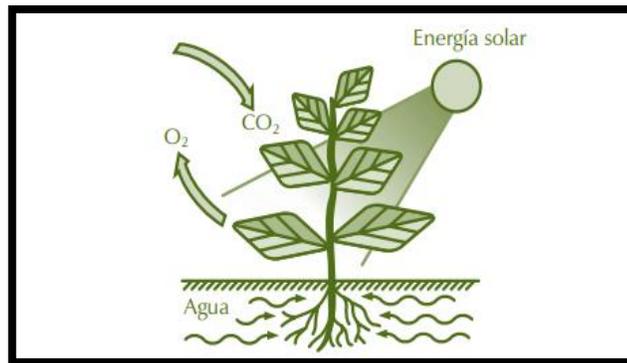
humanidad, fue la simbiosis con el mundo vegetal lo que garantizó el suplemento de alimentos, energía y materias primas de amplio uso, permitiendo, a lo largo de milenios, que aumenten los niveles de bienestar y productividad económica. (Carvalho, et al.,2008)

La producción de biomasa, como resultado de la reacción de fotosíntesis, depende esencialmente de la energía solar y de la presencia de agua y dióxido de carbono (CO₂), y tiene lugar en las células vegetales de las estomas de las hojas, en la cual agua y dióxido de carbono se combinan para formar una molécula de glucosa (un azúcar simple) y oxígeno. (Carvalho, et al.,2008)



Según (Carvalho, et al.,2008). Afirma que, en esta reacción, en términos energéticos, la formación de 1 Kg de azúcar corresponde a la fijación de cerca de 17,6 MJ (mega joules) de energía solar, equivalente a cerca de medio litro de gasolina.

Figura 1-1 Proceso de fotosíntesis



Fuente: Carvalho, et al., (2008)

1.3. EL BIOETANOL COMO ADITIVO DE LA GASOLINA.

El etanol para el uso como combustible del transporte ha estado creciendo constantemente desde los años 80. A medida que crecía la producción, se añadió etanol a los suministros de gasolina para reemplazar el plomo, el benceno, el tolueno y el xileno del potenciador de octano cuando se estaban retirando del suministro de gasolina

debido a preocupaciones de toxicidad. La Ley de Aire Limpio de 1990 incrementó aún más la cuota de mercado del combustible mezclado con etanol debido al uso obligatorio de combustibles oxigenados en gasolina reformulada (RFG) en ciertas áreas de los Estados Unidos para ayudar a reducir las emisiones de monóxido de carbono. RFG se refiere a cambios extensos en las propiedades de la gasolina que reducen las emisiones de compuestos orgánicos volátiles y tóxicos en las áreas de no cumplimiento del ozono. Los oxigenados de combustible, como el etanol, añaden oxígeno químico al combustible, lo que favorece una combustión más completa, reduciendo así las emisiones de CO. Las emisiones de escape de los hidrocarburos también se reducen a menudo. Hoy en día, el etanol es el oxigenado más utilizado para RFG. El etanol tiene un octano de mezcla de 113 y es ampliamente utilizado en la creación de gasolina de octanaje regular de sub-octano de base de las existencias o el aumento de los combustibles de octanaje regular para el nivel de octano medio. Esta adición de etanol a la gasolina para aumentar el octanaje es una alternativa a las operaciones de refinado más severas que hacen del etanol uno de los potenciadores de octano más rentables disponibles para el refinador y la licuadora hoy en día. A partir de 2015, Estados Unidos desnaturalizó la capacidad de producción de etanol de combustible ha crecido a más de 15 millones de galones (EERC, 2017).

1.3.1. ALCOHOL ANHIDRO DESNATURALIZADO.

Alcohol anhidro desnaturalizado es el que, mediante la acción de agentes químicos deshidratantes o de tecnologías de separación apropiadas, alcanza una graduación 100,0% v/v de alcohol.

Actualmente, existen diversas tecnologías para deshidratar mezclas de compuestos orgánicos, por ejemplo:

- Destilación azeotrópica
- Destilación extractiva
- Destilación extractiva salina

1.3.2. MEZCLAS COMUNES DE ETANOL Y COMBUSTIBLES MEZCLADOS CON ETANOL.

El etanol como combustible. Es el etanol que ha sido desnaturalizado con 2-5% de gasolina sin plomo. Esta mezcla también se conoce como E95-E98 o alcohol combustible. El etanol de combustible desnaturalizado es uno de los principales productos de transporte ferroviario de mercancías en los Estados Unidos. Actualmente hay tres combustibles comunes mezclados con etanol. El más común es E10, una mezcla de 90% de gasolina / etanol al 10% y disponible a nivel nacional. La **United States Environmental Protection Agency o Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (US. EPA)** ha aprobado E15, una mezcla de etanol al 85% de gasolina / 15% para su uso en 2001 y vehículos más nuevos. También encontrará Ethanol Flex-Fuels en el mercado que van desde E51-E85, este combustible se vende para uso en vehículos de combustible flexible (US.EPA,2019).

1.4. LA IMPORTANCIA DE LA MATERIA PRIMA.

Veamos la importancia de la materia prima. De acuerdo con el estudio de F.O. Licht, el año 2003, un 61% del alcohol ya era producido a partir de cultivos para obtener azúcar, sean estos de caña, remolacha o melazas; el resto se produce a partir de cereales, siendo el maíz aquel grano que domina esta categoría. Hay varias maneras de ver el tema desde el punto de vista de la materia prima, siendo las más importantes:

- 1) el rendimiento por área;
- 2) su rendimiento por masa o peso;
- 3) el costo por litro de Etanol

En los EE.UU. el maíz es la materia prima predominante para la producción del Etanol; los rendimientos por hectárea son los menores en la comparación; una posición media corresponde a la caña de azúcar producida en Brasil, sin embargo, los rendimientos más altos por hectárea son aquellos de la remolacha, especialmente cuando la misma es aquella que fue producida en Francia u otro país

Tabla I-1 Rendimiento por área, rendimiento por masa y costo de la materia prima

	RENDIMIENTO POR ÁREA (LT/HA)	RENDIMIENTO POR MASA (LT/TON)	COSTO DE LA MATERIA PRIMA (CENT. USD/LT)
Remolacha	7000	100	25
Caña de azúcar	6000	70	8
Maíz	3000	380	24

Fuente: F. O. Licht datos para Francia (remolacha), Brasil (caña de azúcar) y Estados Unidos (maíz) e la Unión Europea.

1.5. POLITICAS GUBERNAMENTALES PARA LA PRODUCCION DE BIOCOMBUSTIBLE EN BOLIVIA.

El Estado debe crear políticas públicas para un desarrollo sostenible de la industria de los biocombustibles a partir de diferentes fuentes o materias prima como ser caña de azúcar, remolacha y maíz, etc.

1.5.1. LEY N° 303/2018-2019 DE ADICTIVOS DE ORIGEN VEGETAL.

Permite la producción, almacenaje, transporte, comercialización y mezcla de Aditivos de Origen Vegetal (gasolina y alcohol) con la finalidad de sustituir gradualmente la importación de Insumos y Aditivos, y Diésel OÍ, precautelando la seguridad alimentaria y energética con soberanía.

Esta ley 303/2018-2019 de adictivos de origen vegetal también tiene el objetivo de rehabilitar suelos degradados para cultivos destinados a la producción de Aditivos de Origen Vegetal.

1.6. PRODUCCION DE REMOLACHA ROJA EN LATINOAMERICA.

Según la tabla I-2 los ministerios de agricultura y ganadería de los países latinoamericanos la remolacha roja o de mesa. En los últimos años la producción en los países latinoamericanos a incrementando su producción.

Tabla I-2 Producción y Rendimiento de la Remolacha

País	Rendimiento	2017-2018	2018-2019
Bolivia	7,87 (t/ha)	5894 (t)	5394 (t)
Ecuador	19 (t/ha)	3177 (t)	6103 (t)
Perú	17 (t/ha)	32274 (t)	35186 (t)
Colombia	19,6 (t/ha)	12499 (t)	15131(t)

Fuente: Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), 2020

1.7. PRODUCCIÓN DE REMOLACHA ROJA EN TARIJA.

La producción de remolacha en Tarija del 2015 al 2020 según el Instituto Nacional de Estadísticas (INE), ha crecido en 12,32% (ver tabla)

Tabla I-3 Superficie cultivada, producción y rendimiento de la remolacha

Descripción	2015-2016	2016-2017	2017-2018	2018-2019	2019-2020
Superficie (Ha)	43	44	44	44	44
Producción (T)	237	246	242	247	245
Rendimiento(T/ha)	5.512	5.591	5.552	5.581	5.562

Fuente: Instituto Nacional de Estadísticas (INE), 2021

La producción de remolacha roja en el departamento de Tarija en la campaña de 2016-2017 alcanzo 246 toneladas que se cultivan en una superficie de 44 hectáreas con un rendimiento de 5.591 toneladas por hectárea.

1.8. OBJETIVOS

1.8.1. OBJETIVO GENERAL

- ❖ Obtener bioetanol a escala laboratorio por fermentación alcohólica a partir de la remolacha roja producida en el departamento de Tarija. Para el uso como adictivo en la gasolina.

1.8.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Caracterizar la materia prima y efectuar el análisis fisicoquímico de la remolacha roja (Beta Vulgaris)
- ❖ Determinar las principales variables de operación del proceso en la fermentación alcohólica
- ❖ Determinar las principales variables de operación en el proceso de destilación alcohólica mediante el proceso de rectificación.
- ❖ Caracterizar el producto final obtenido en la destilación alcohólica
- ❖ Efectuar el análisis estadístico en el proceso de fermentación alcohólica y destilación alcohólica con el programa estadístico SPSS

1.9. JUSTIFICACIÓN

Se propone el proyecto de obtención de bioetanol por fermentación alcohólica a partir de la remolacha roja producida en el departamento de Tarija debido a la necesidad de encontrar nuevas fuentes de energía y la creciente demanda de hidrocarburos derivados del petróleo.

La obtención de alcohol a partir de una fuente renovable hace viable el proyecto sumado las nuevas políticas gubernamentales y la reciente promulgación de la **LEY N° 303/2018-2019 DE ADICTIVOS DE ORIGEN VEGETAL**, que tiene el objetivo de sacar un combustible cuya mezcla sea de alcohol y gasolina “súper etanol 92” al mercado nacional.

Un estudio realizado por **F. O. Licht** el 2003 determino el rendimiento de alcohol por masa de distintas materias primas como ser: maíz y la caña de azúcar obteniendo los siguientes resultados de cada tonelada métrica de remolacha (*beta vulgaris*) se obtiene 100 litros de alcohol que es una cantidad mayor a la que se puede obtener de la caña de azúcar y el maíz

A continuación, se mencionan las razones por las cuales este proyecto debe ser realizado:

Aspecto tecnológico: La realización de este proyecto conllevara la implementación de nuevas fábricas cuyo objetivo sea la deshidratación del alcohol etílico a través de tecnología innovadora para no dejar residuos químicos que afectan al medio ambiente. En mercados en la **LEY N° 303/2018-2019 DE ADICTIVOS DE ORIGEN VEGETAL**

Aspecto social: Los productores de remolacha roja en la región entran una nueva alternativa para la venta de sus productos como materia prima para la elaboración de bioetanol garantizando la compra del mismo esto conllevara a la ampliación de nuevas tierras agrícolas y la generación de nuevos empleos en la región eliminado la migración de las zonas rurales a las ciudades mejorando la calidad de vida de los agricultores y de las zonas rurales

Aspecto ambiental: Los biocombustibles son uno de los combustibles alternativos que disfrutan de unas ventajas más claras y que se obtienen a partir de productos agrícolas, no contienen azufre y por lo tanto no forman el anhídrido sulfuroso, uno de los principales causantes de la lluvia ácida.

El uso del alcohol anhidro como adictivo en la gasolina mejorará el octanaje del hidrocarburo (súper etanol 92) mejorando la eficiencia de combustión en las cámaras de combustión y disminuirá la cantidad de CO que se emite a la atmosfera

Al utilizar el alcohol anhidro como adictivo en la gasolina trae los siguientes beneficios reducción de un 30% de emisión de CO y disminución del 10% en reducción de las emisiones de CO₂ a la atmósfera.

CAPÍTULO II
MARCO TEÓRICO

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. DESCRIPCIÓN DE LA MATERIA PRIMA

La remolacha (*Beta vulgaris* ssp. *vulgaris*) es la raíz profunda, grande y carnosa que crece en la planta del mismo nombre y que se consume como hortaliza. Su piel superficial es fina y suave y puede ser de varios colores, desde rosáceo violáceo y anaranjado rojizo hasta marrónáceo. La pulpa es de sabor dulce y generalmente es de color rojo oscuro carmesí con tintes purpúreos. En ocasiones presenta círculos concéntricos de color blanco siendo ésta una característica indeseable. No obstante, algunas variedades de remolacha poseen la carne blanca o amarilla.

Existen tres variedades de remolacha de las cuales la remolacha común o roja es la que se consume como hortaliza. Las otras dos son la remolacha azucarera y la remolacha forrajera. La primera es de color blanquecino y su cultivo para obtener azúcar no tuvo lugar hasta el siglo XVI. La remolacha forrajera es utilizada fundamentalmente en la alimentación animal. (Empresas Media .2019).

Figura 2-1 La remolacha (*beta vulgaris*)



Fuente: De Remolacha (2017)

La remolacha es un alimento bajo en aporte energético con un contenido y lípidos y proteínas escaso. Por cada 100 gramos de producto fresco comestible se obtiene un valor energético de 25-41 kcal. Tras el agua, son los hidratos de carbono su componente

mayoritario. Destacan las vitaminas del grupo B y en especial el ácido fólico, siendo esta última hallada en grandes cantidades. Sin embargo, es una de las verduras con menor contenido en vitamina C y A. (Empresas Media .2019).

No se aconseja congelar la remolacha cruda pues durante la descongelación se reblandece, pero sí puede hacerse una vez hervidas. Se pueden conservar entre 4 y 6 meses a 0°C y 95% de humedad relativa. (Empresas Media .2019).

2.1.1. DESCRIPCIÓN TAXONÓMICA DE LA PLANTA DE REMOLACHA

La remolacha, *Beta Vulgaris* variedad *saccharifera* Alef., pertenece a la familia de las quenopodiáceas y al género *Beta*, es una especie dicotiledónea bienal.

Tabla II-1 Taxonomía de la planta de remolacha

Reino	Vegetal
Phylum	Telemophytae
División	Telemophytae
Subdivisión	Anthophyta
Clase	Angiospermae
subclase	Dicotyledoneae
Grado Evolutivo	Archichlamydeae
Grupo de Ordenes	Corolinos
Orden	Centrospermales
Familia	Chenopodiaceae
Nombre científico	<i>Beta vulgaris</i> L. var: <i>rapacea</i> (Koch)Aellen
Nombre común	Remolacha

Fuente: Informe taxonómico de laboratorio de suelos, Facultad de Agronomía UAJMS, Ing. Ismael Acosta, 2016.

Tabla II-2 Clasificación de la raíz de la Remolacha

Origen	Normal
Forma	Tuberosa
Medio	Terrestre
Duración	Bianual
Consistencia	Carnosa
Sistema Radicular	Halorizo

Fuente: Informe taxonómico de laboratorio de suelos, Facultad de Agronomía UAJMS, Ing. Ismael Acosta, 2016.

2.1.2. TIPOS DE REMOLACHA

No todas las remolachas son de color rojo-morado; existen variedades con diferentes tamaños y colores, incluyendo remolachas amarillas y hasta deslumbrantes remolachas rayadas. Conoce a continuación las características principales de los tipos de remolachas más populares:

2.1.2.1. REMOLACHAS ROJAS O MORADAS

Estas son las remolachas más comunes. Tienen un sabor dulce-terroso, y su característica más especial es el color rojo-vino intenso. Se pueden utilizar de muchas formas en la cocina, ya sea como ingrediente en ensaladas, en guisos, sopas, salteado de vegetales, cremas de verduras, etc. (Leyva.2018).

Figura 2-2 Remolacha roja



Fuente: De Remolacha (2017)

2.1.2.2. REMOLACHA FORRAJERA

Como bien puede intuirse por su nombre, esta variedad se utiliza en la alimentación del ganado. Tiene gran importancia principalmente en la alimentación del ganado vacuno dedicado a la producción de leche, además puede servir para alimentar al ganado porcino y otros. Desde el punto de vista nutritivo constituye un excelente alimento pues es muy rico en azúcares por lo tanto es muy energético, rico en fibras, vitaminas y otras sustancias naturales. Hay que considerar que esta planta por su época de siembra, produce alimento para el ganado en una época en la que hay poco alimento para el mismo. Además, se trata de una planta capaz de resistir temperaturas muy frías sin ser dañada. (Leyva.2018)

Figura 2-3 Remolacha forrajera



Fuente: De Remolacha (2017)

2.1.2.3. REMOLACHA RAYADA

Esta es una variedad italiana donde es conocida como **Chioggia** o **Bassano remolachas**. Cuenta con bandas de colores claro y oscuro que se alternan en su interior lo que le da un aspecto de caramelo de bastón. Debe su nombre a un pueblo de pescadores en el norte de Italia donde comenzó a cultivarse desde **1800**. Se introdujo en Estados Unidos desde 1840. También puede encontrarse con el nombre de Raya de Caramelo o remolacha Bull Eye. (Leyva.2018).

Figura 2-4 Remolacha Rayada



Fuente: De Remolacha (2017)

2.1.2.4. REMOLACHA AMARILLA

También conocida como remolacha dorada posee una raíz esférica, de color amarillo y sabor un poco más dulce que él se hermana la remolacha roja. Esto hace que muchos comensales la prefieran a la hora de preparar una ensalada es una variedad cultivable durante todo el año. La **remolacha amarilla** también posee altos niveles de hierro, potasio, ácido fólico entre otros por lo que sino la has comido ya viene siendo hora de incluirla en tu dieta. (Leyva.2018).

Figura 2-5 Remolacha Amarilla



Fuente: De Remolacha (2017)

2.1.2.5. REMOLACHA AZUCARERA

Como su primer nombre lo indica está destinada a la obtención de azúcar. Esta planta es muy resistente por lo que puede ser cultivada en una gran variedad de climas. Durante su primera estación de crecimiento, produce una gran raíz de almacenamiento (de 1 a 2 kilogramos) teniendo alrededor del 15 al 20 por ciento de sacarosa. Se debe realizar una cosecha antes del florecimiento, esto es debido que el florecimiento del segundo año, la raíz reducirá su tamaño. (Leyva.2018).

Los principales productores de remolacha azucarera en el mundo son Francia, EU, Alemania y Rusia en ese orden. En los Estados Unidos, el estado de Míchigan, donde cada año se organiza el **Festival del Azúcar de Michigan**, y como región Sebewaing, en este propio estado. Los ciclos de producción son cortos, llegando a tener 3 cosechas en el año. Su eficiencia en productividad es alta, ya que en un kilogramo de semillas se encuentran unas 100mil plantas. En la actualidad, su cosecha es muy automatizada. (Leyva.2018).

Figura 2-6 Remolacha azucarera



Fuente: De Remolacha (2017)

2.1.3. COMPOSICIÓN FISICOQUÍMICA DE LA REMOLACHA ROJA

La remolacha es un alimento de bajo contenido energético. Tras el agua, los hidratos de carbono son el componente más abundante. Éstos son en su totalidad azúcares (de los más altos junto con la zanahoria y el puerro). Es buena fuente de fibra (una ración

cubre el 17% de las recomendaciones para hombres y el 25% para mujeres). De sus vitaminas destacan los contenidos en folatos, equivalen al 45% de las ingestas recomendadas al día (IR/día) para hombres y mujeres de 20 a 39 años con actividad física moderada. En relación con los minerales, es una hortaliza fuente de potasio (17% de las IR/día para hombres y mujeres en el rango de edad y actividad física descritos). Este mineral contribuye al funcionamiento normal del sistema nervioso y de los músculos. (Arroyo,M.et.al. 2018).

En la tabla se muestra la composición fisicoquímica de la remolacha roja obtenida del departamento de agricultura de los estados unidos (USDA)

Tabla II-3 Composición fisicoquímica de la remolacha roja

NUTRIENTE	UNIDAD	VALOR POR 100 GR DE MUESTRA
Calorías	Kcal	58
Carbohidratos	Gr	13
Fibra	Gr	3,8
Proteína	Gr	2,19
Grasas	Gr	0,23
Grasas polinsaturadas	Gr	0,082
Grasas monoinsaturadas	Gr	0,044
Grasas saturadas	Gr	0,037
Agua	gr	87,58
MINERALES		
Potasio	Mg	442
Sodio	Mg	106
Fosforo	Mg	54
Magnesio	Mg	31
Calcio	Mg	22
Hierro	Mg	1,09
Zinc	Mg	0,48
VITAMINAS		
Vitamina A	Mg	45
Vitamina C	Mg	6,7

Fuente: United States Department of Agriculture (2019)

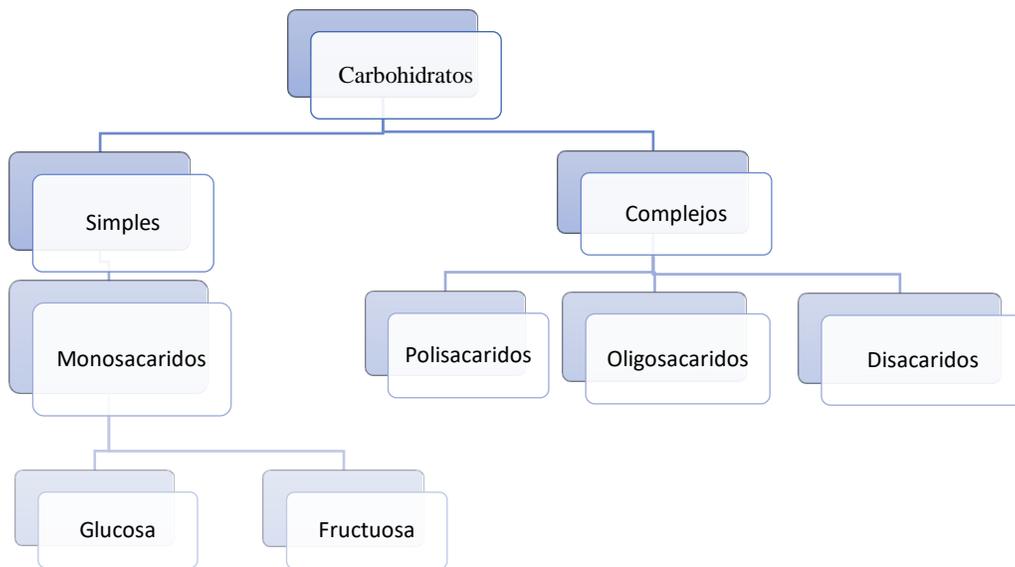
2.2. CARBOHIDRATOS

Los carbohidratos, también conocidos como glúcidos, hidratos de carbono y sacáridos son aquellas moléculas orgánicas compuestas por carbono, hidrógeno y oxígeno que resultan ser la forma biológica primaria de almacenamiento y consumo de energía.(Ucha.2009).

2.2.1. CLASIFICACIÓN DE CARBOHIDRATOS.

Los carbohidratos se clasifican en función del número de unidades de sacárido (la forma más simple de carbohidrato); los monosacáridos son aquellos que no se pueden dividir en una forma más simple, los disacáridos pueden hacerlo en dos moléculas de monosacáridos, los oligosacáridos producen de 3 a 10 unidades y los polisacáridos desde 10 a más de 10000 unidades de monosacáridos. (Caamaño, A.et al. 2015).

Figura 2-7 Clasificación de Carbohidratos



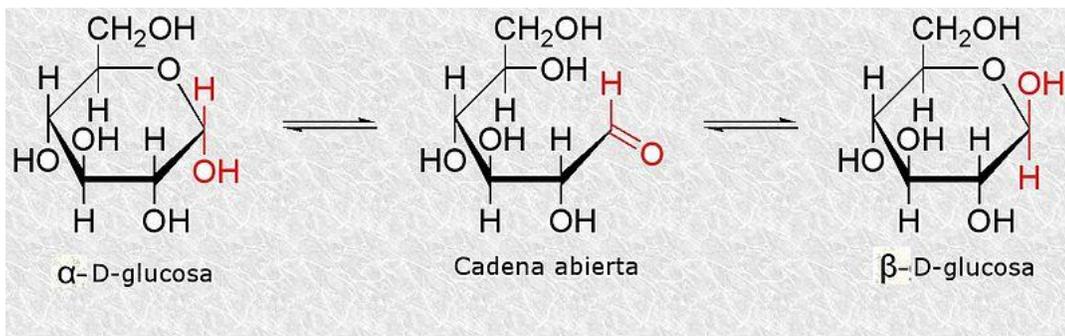
Fuente: Caamaño, A.et al. (2015)

2.2.1.1. MONOSACARIDOS.

Los **monosacáridos** son moléculas relativamente pequeñas que constituyen la base estructural de carbohidratos más complejos. Estos varían en términos de su estructura y de su configuración estereoquímica. (Gelambi,2003)

El ejemplo más distinguido de un monosacárido, y también el más abundante en la naturaleza, es la d-glucosa, formada por seis átomos de carbono. La glucosa es una fuente indispensable de energía y es el componente básico de ciertos polímeros, como el almidón y la celulosa. (Gelambi,2003)

Figura 2-8 Isómeros de monosacáridos



Fuente: Gelambi (2003)

Los monosacáridos son compuestos derivados de aldehídos o cetonas y contienen al menos tres átomos de carbono en su estructura. No pueden sufrir procesos de hidrólisis para descomponerse en unidades más simples. (Gelambi,2003)

De manera general, los monosacáridos son sustancias sólidas, de color blanco y de apariencia cristalina con sabor dulce. Como son sustancias polares, son altamente solubles en agua e insolubles en disolventes no polares. (Gelambi,2003)

Pueden enlazarse con otros monosacáridos por medio de enlaces glicosídicos y formar una diversidad de compuestos, de gran importancia biológica y estructuralmente muy variados. El número tan alto de moléculas que pueden formar los monosacáridos hace posible que sean ricos tanto en información como en función. De hecho,

los carbohidratos son las biomoléculas más abundantes en los organismos. (Gelambi,2003)

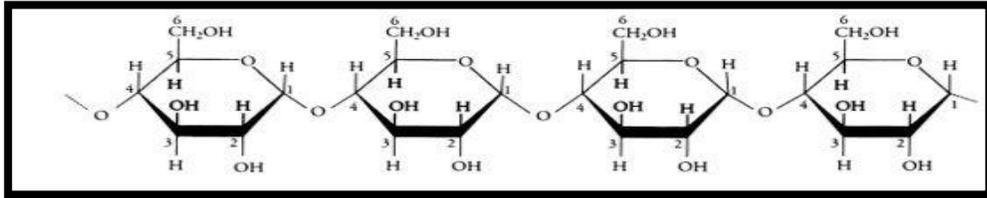
2.2.1.2. POLISACARIDOS.

Los polisacáridos son largas moléculas de hidratos de carbono formadas por la unión de numerosas unidades individuales de monosacáridos unidas entre sí por enlaces glicosídicos. Los polisacáridos son carbohidratos, y por lo tanto contienen carbono, hidrógeno, y oxígeno y tienen la fórmula general $C_x(H_2O)_y$.(Ruelas S.,2013).

Convencionalmente, se ha considerado polisacárido a aquel polímero constituido por más de 10 monosacáridos unidos por distintos enlaces glucosídicos; los compuestos de menos de 10 monosacáridos (entre 2 y 9) son los oligosacáridos. A pesar de esta distinción, la gran mayoría de los polisacáridos naturales contienen cientos de monómeros y, en ocasiones, varios miles. No producen verdaderas soluciones, sino más bien dispersiones de tamaño coloidal; puros no tienen color, aroma o sabor. Su peso molecular, que puede llegar a ser hasta de millones, es en realidad un promedio de los pesos, puesto que las moléculas no son iguales y siempre presentan una distribución de valores. (Ruelas S.,2013).

Los polisacáridos se encuentran como cadenas lineales, o bien, ramificadas, que a su vez pueden estar integradas por un solo tipo de monosacárido (homopolisacarido), como por ejemplo el almidón y la celulosa, o también por varios tipos de monosacáridos (heteropolisacarido), como es el caso de la mayoría de las gomas. De cualquier manera, sus componentes siempre están unidos regularmente con una secuencia y estructura repetitivas, representando polímeros con un alto grado de ordenación. (Ruelas S.,2013).

Figura 2-9 Estructura de la amilosa



Fuente: Corchon, A. (2014)

2.2.1.3. OLIGOSACARIDOS

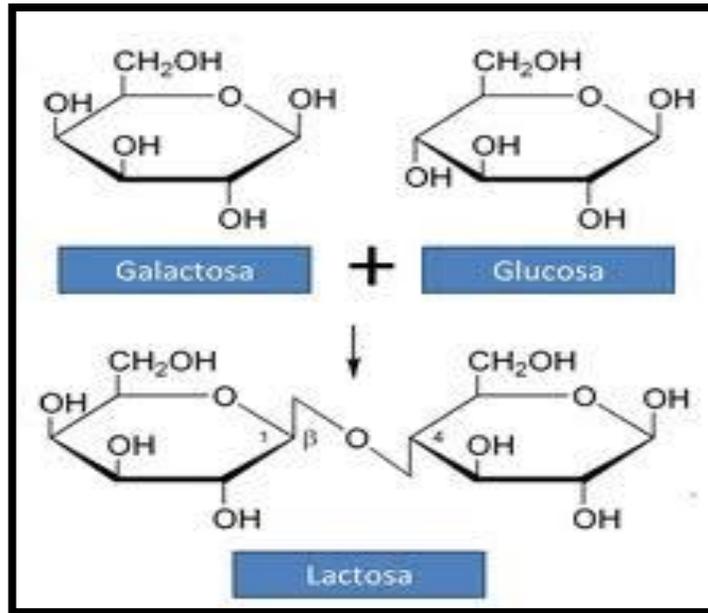
Los oligosacáridos son moléculas constituidas por la unión de dos a nueve monosacáridos cíclicos mediante el enlace de tipo glucosidico.

El grupo más importante de los oligosacáridos son los disacáridos o azúcares dobles que son la unión de dos monosacáridos, mediante la pérdida de una molécula de agua.

Los oligosacáridos se dividen en:

- ❖ Lactosa es la unión de (glucosa + galactosa) proviene de la azúcar de leche

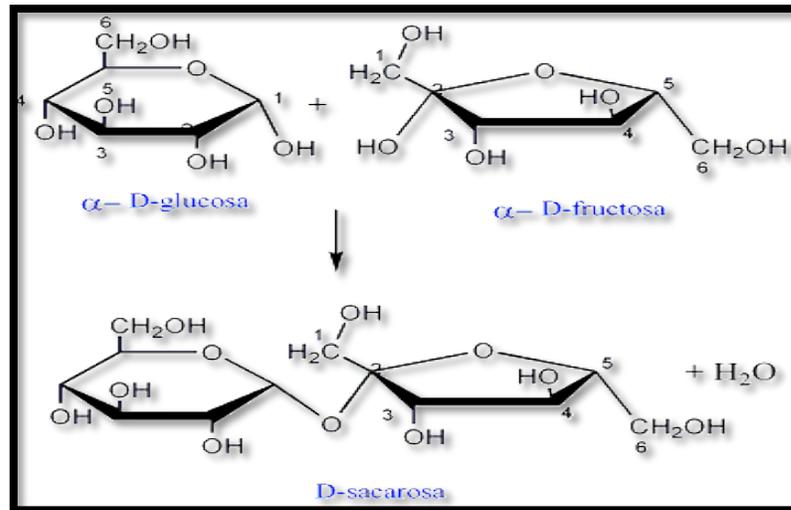
Figura 2-10 Estructura molecular de la lactosa



Fuente: Universidad Manuela Beltrán (UMB), 2013

- ❖ Sacarosa: proviene de (glucosa + fructuosa) aparecen en los productos azucarados como la remolacha y la caña de azúcar

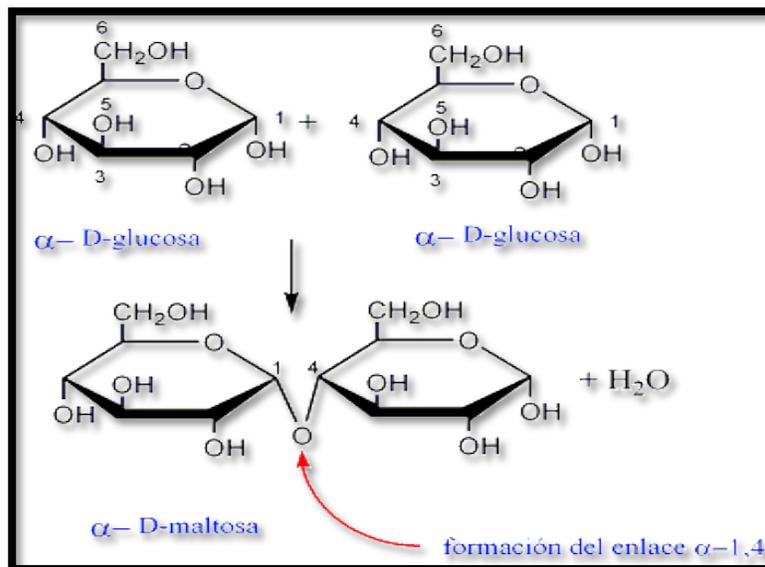
Figura 3-11 Estructura molecular de la sacarosa



Fuente: Universidad Manuela Beltrán (UMB) ,2013

- ❖ Maltosa es la unión entre (glucosa + glucosa) obtenida de la azúcar de malta

Figura 2-12 Estructura molecular de la Maltosa



Fuente: Universidad Manuela Beltrán (UMB) ,2013

2.3. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

La fermentación tiene por objeto modificar la condición química de la materia susceptible de transformación, como los azúcares, por acción de la levadura, convirtiéndola en alcohol etílico y gas carbónico (CO₂). Este proceso va acompañado de una disminución del peso del mosto, conociéndose como atenuación del porcentaje de extracto que se modifica durante el transcurso de la fermentación.

A medida que la fermentación alcohólica transcurre (3°GL) la población de levadura decrece y va siendo sustituida como población dominante por *S. Cereviciae*, particularmente del tipo *Ellipsoideus*; cuando alcanza los (6°GL) la población inicial desaparece. Al final de la fermentación predominan cepas altamente resistentes al alcohol como *S. bayanus* y *S. Cereviciae* como *uvarum* y en ocasiones *Italicus* (Villada, P. 2010).

Las levaduras transforman los azúcares mayoritarios del mosto (fructosa, glucosa) en etanol y CO₂; paralelamente transforma al principio de la fermentación parte de los azúcares en glicerina y ácido pirúvico dando lugar a la denominada fermentación glicero - piruvica: el ácido pirúvico a su vez da lugar a otros productos secundarios que se forman principalmente cuando existe una deficiencia de tiamina en el medio. Además, se produce por rutas alternativas otros ácidos orgánicos entre los que se destacan el ácido málico, succínico y fumarico, que posteriormente puede sufrir transformaciones por reacciones químicas (láctica, succínico y málico generan respectivamente, lactato de etilo, succinato de dietilo y malato de dietilo) o microbiológica por acción de las bacterias malolácticas (Villada, P. 2010).

Para que la fermentación alcohólica se produzca de manera favorable son necesarias varias condiciones, comprendidas en tres formas:

- ❖ Condiciones biológicas: levaduras, su selección, desarrollo y acción.
- ❖ Condiciones físicas: temperatura, presión y operación mecánica.
- ❖ Condiciones químicas: ácidos, oxígeno, sustancias y proceso químicos.

2.3.1. CINÉTICA DE FORMACIÓN DEL ALCOHOL ETÍLICO

El proceso por el cual las células degradan las moléculas de alimento para obtener energía recibe el nombre de respiración celular.

La respiración celular es una reacción exergónica, donde parte de la energía contenida en las moléculas de alimento es utilizada por la célula para sintetizar trifosfato de adenosina (ATP). Decimos parte de la energía porque no toda es utilizada, sino que una parte se pierde (Márquez, S. 2008).

La respiración ocurre en distintas estructuras celulares. La primera de ellas es la glucólisis que ocurre en el citoplasma. La segunda etapa dependerá de la presencia o ausencia de O_2 en el medio, determinando en el primer caso la respiración aeróbica (ocurre en las mitocondrias), y en el segundo caso la respiración anaeróbica o fermentación (ocurre en el citoplasma) (Márquez, S. 2008).

2.3.1.1. GLUCÓLISIS

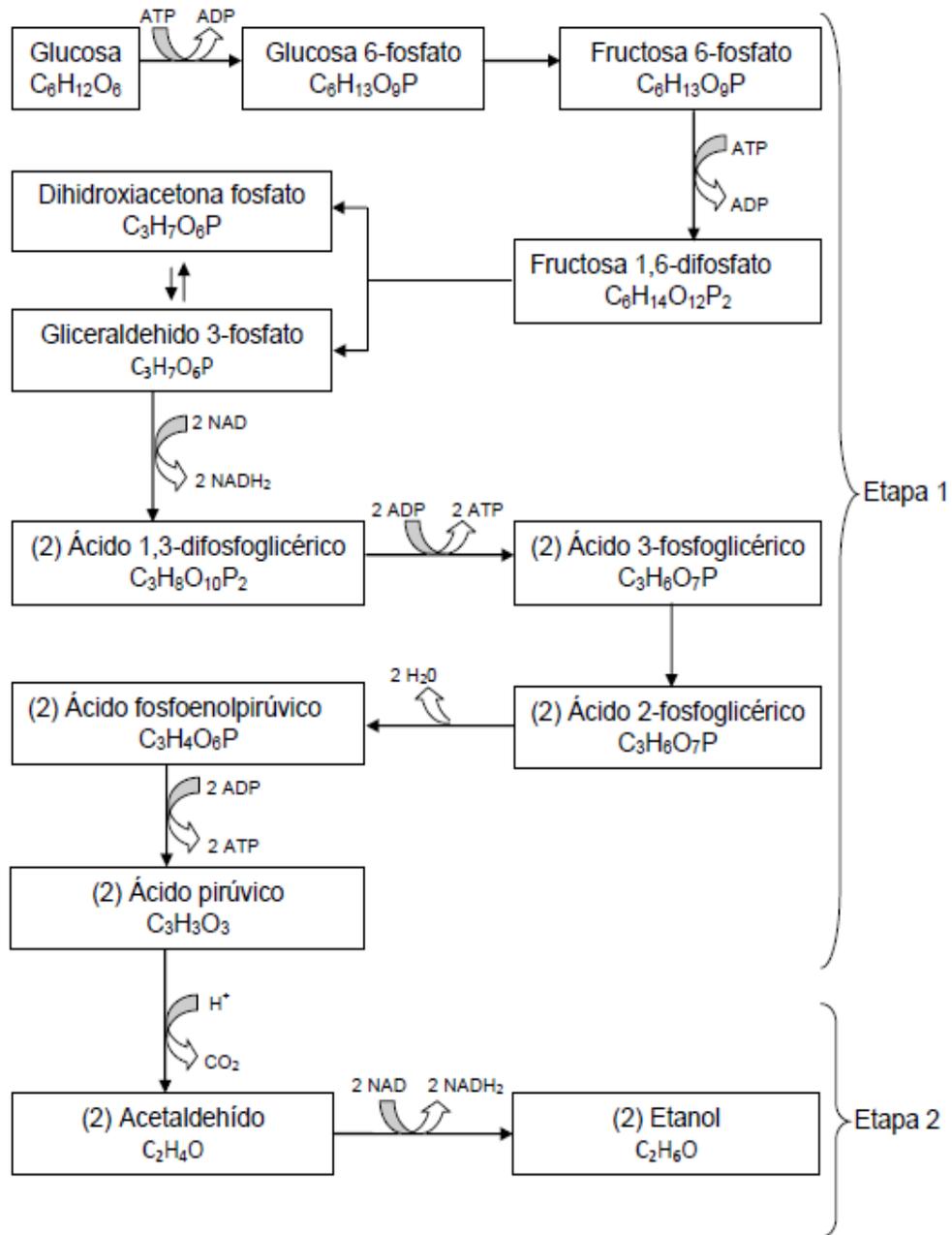
La glucólisis o escisión de la glucosa, tiene lugar en una serie de nueve reacciones, cada una catalizada por una enzima específica, hasta formar dos moléculas de ácido pirúvico, con la producción concomitante de ATP. La ganancia neta es de dos moléculas de ATP, y dos moléculas de dinucleótido de nicotinamida y adenina (NADH) por cada molécula de glucosa (Márquez, S. 2008).

Las reacciones del glucólisis se realizan en el citoplasma, como ya adelantáramos y pueden darse en condiciones anaerobias; es decir en ausencia de oxígeno.

Los primeros cuatro pasos del glucólisis sirven para fosforilar (incorporar fosfatos) a la glucosa y convertirla en dos moléculas del compuesto de 3 carbonos gliceraldehído fosfato (PGAL). En estas reacciones se invierten dos moléculas de ATP a fin de activar la molécula de glucosa y prepararla para su ruptura (Márquez, S. 2008).

Como ejemplo se muestra la ruta metabólica de formación del alcohol por acción de una levadura (ver figura 4-13)

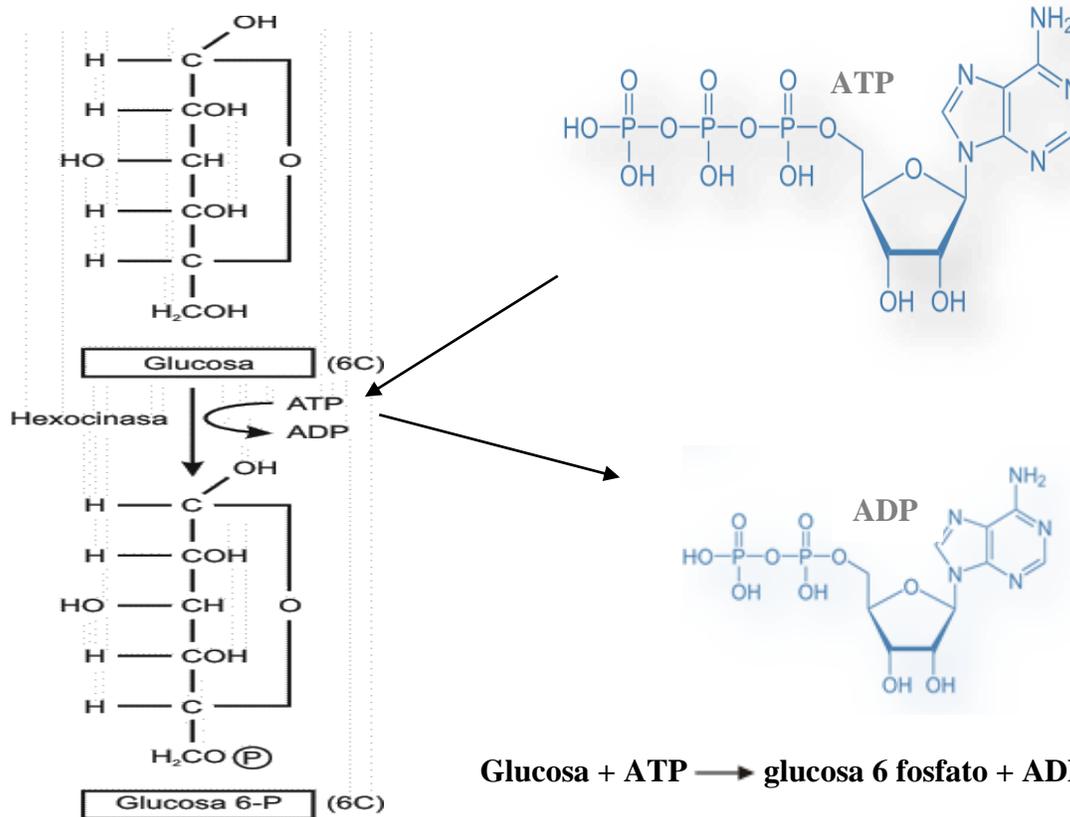
Figura 2-13 Ruta metabólica de formación del alcohol



Fuente: Márquez, S. 2008

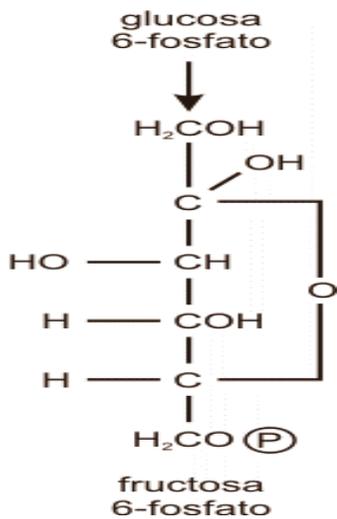
Ruta metabólica de formación de la glucosa a ácido pirúvico requiere nueve pasos que describiremos a continuación:

Paso 1 La serie de reacciones glucolíticas se inicia con la activación de la glucosa (Márquez, S. 2008).



La reacción del ATP con la glucosa para producir glucosa 6-fosfato y Adenosín difosfato (ADP) es exergónica. Parte de la energía liberada se conserva en el enlace que une al fosfato con la molécula de glucosa que entonces se energiza (Márquez, S. 2008).

ATP o trifosfato de adenosina es un nucleótido fundamental en la obtención de energía celular. Está formado por una base nitrogenada (adenina) unida al carbono 1 de un azúcar de tipo pentosa, la ribosa, que en su carbono 5 tiene enlazados tres grupos fosfato. Es la principal fuente de energía para la mayoría de las funciones celulares.



Paso 2

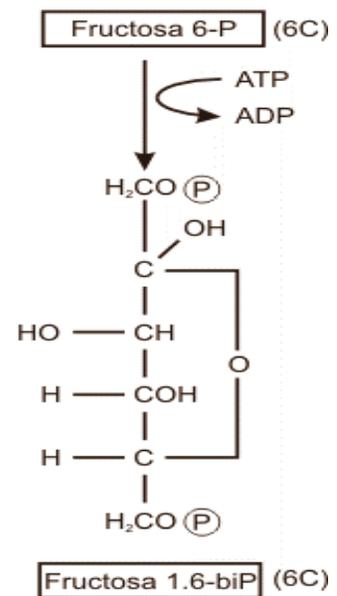
La glucosa 6-fosfato sufre una reacción de reordenamiento catalizada por una isomerasa, con lo que se forma fructosa 6-fosfato (Márquez, S. 2008).

Paso 3

La fructosa 6-fosfato acepta un segundo fosfato del ATP, con lo que se genera fructosa 1,6-difosfato; es decir fructosa con fosfatos en las posiciones 1 y 6.

La enzima que regula esta reacción es la fosfofructocinasa (Márquez, S. 2008).

Nota: hasta ahora se han invertido dos moléculas de ATP y no se ha recuperado energía.

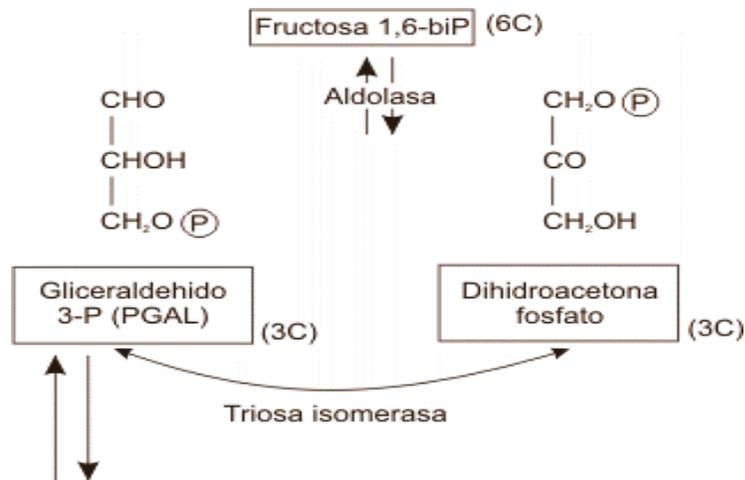


La fosfofructocinasa o fosfofructoquinasa es la enzima quinasa que fosforila a la fructosa 6-fosfato en la glicólisis.

Esta enzima cataliza la transferencia de un grupo fosfato desde el ATP a la fructosa 6-fosfato para formar un derivado bisfosfato. (Márquez, S. 2008).

Paso 4

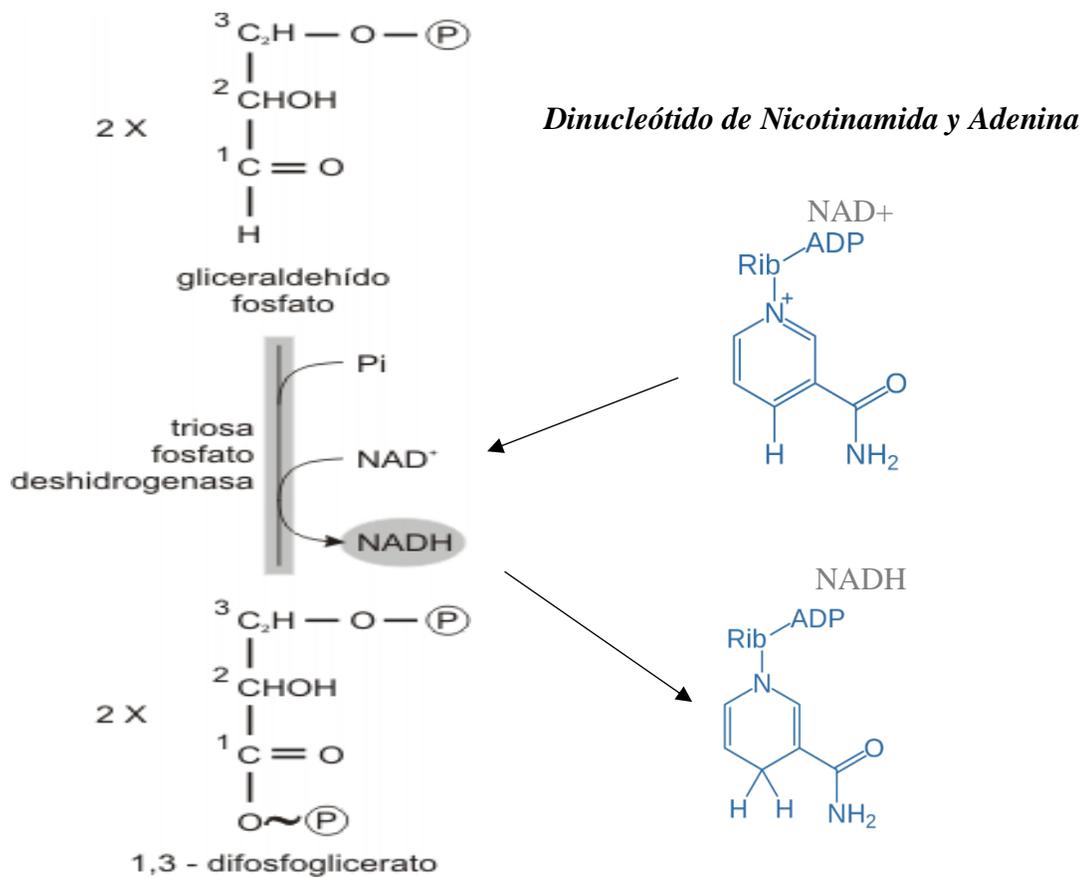
La fructosa 1,6 -difosfato se divide luego en dos azúcares de 3 carbonos, gliceraldehído 3-fosfato y dihidroxiacetona fosfato. La dihidroxiacetona fosfato es convertida enzimáticamente (isomerasa) en gliceraldehído 3 fósforo. Todos los pasos siguientes deben contarse dos veces para tener en cuenta el destino de una molécula de glucosa (Márquez, S. 2008).



Se debe recordar que hasta el momento no se ha obtenido ninguna energía biológicamente útil. En reacciones subsiguientes, la célula recupera parte de la energía contenida en el Gliceraldehído 3-fosfato (PGAL).

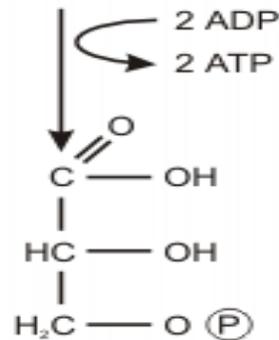
Paso 5

Las moléculas de PGAL se oxidan, es decir, se eliminan átomos de hidrógeno con sus electrones, y el NAD⁺ se reduce a NADH. Esta es la primera reacción de la cual la célula cosecha energía. El producto de esta reacción es el fosfoglicerato. Este compuesto reacciona con un fosfato inorgánico (Pi) para formar 1,3 difosfoglicerato. El grupo fosfato recién incorporado se encuentra unido por medio de un enlace de alta energía (Márquez, S. 2008).



Paso 6

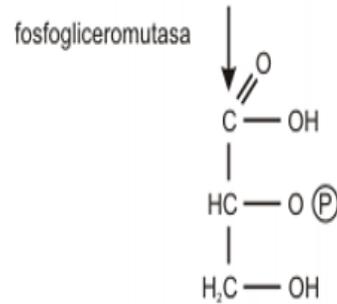
El fosfato rico en energía reacciona con el ADP para formar ATP. (En total dos moléculas de ATP por molécula de glucosa). Esa transferencia de energía desde un compuesto con un fosfato, de alta energía se conoce como fosforiación (Márquez, S. 2008).



Dos ácido 3- fosfoglicérico

Pasó 7

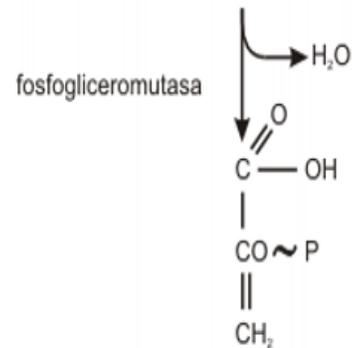
El grupo fosfato remanente se transfiere enzimáticamente de la posición 3 a la posición 2 (ácido 2-fosfoglicérico) (Márquez, S. 2008).



Dos ácido 2 - fosfoglicérico

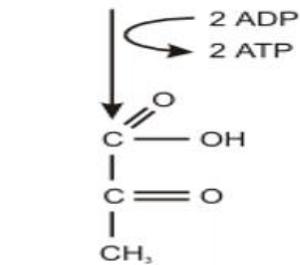
Pasó 8

En este paso se elimina una molécula de agua del compuesto 3 carbonos. Este reordenamiento interno de la molécula concentra energía en la vecindad del grupo fosfato. El producto es el ácido fosfoenolpirúvico (PEP) (Márquez, S. 2008).



Dos ácido fosfoenolpirúvico

Dos ácido fosfoenolpirúvico



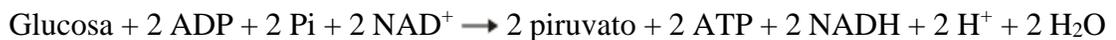
Dos ácido pirúvico

Hacia la acetilcoenzima A

Paso 9

El ácido fosfoenolpirúvico tiene la capacidad de transferir su grupo fosfato a una molécula de ADP para formar ATP y ácido pirúvico. (Dos moléculas de ATP y ácido pirúvico por cada molécula de glucosa) (Márquez, S. 2008).

Ecuación de la glucólisis



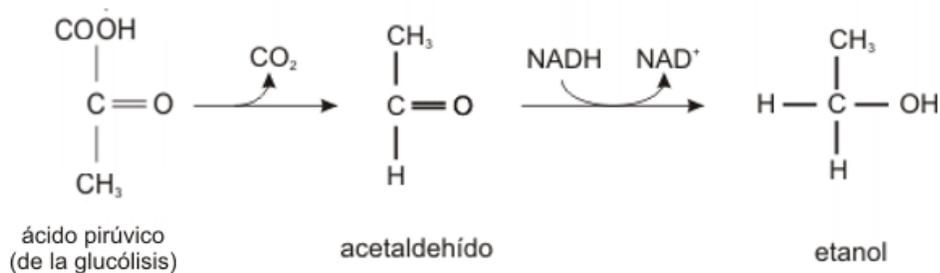
2.3.1.2. VÍAS ANAERÓBICAS

El ácido pirúvico puede ingresar o ser consumida por varias vías. Las dos son anaeróbicas (sin oxígeno) y se denomina fermentación alcohólica y fermentación láctica. A la falta de oxígeno, el ácido pirúvico puede convertirse en etanol (alcohol etílico) (ver figura 4-14) o ácido láctico (ver figura 4-15) según el tipo de célula.

2.3.1.3. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

El ácido pirúvico formado en la glucólisis se convierte anaeróticamente en etanol. En el primer caso se libera dióxido de carbono, y en el segundo se oxida el NADH y se reduce a acetaldehído (Márquez, S. 2008).

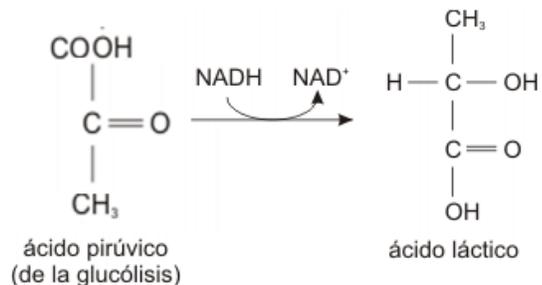
Figura 2-14 Formación del etanol a partir del ácido pirúvico



2.3.1.4. FERMENTACIÓN LÁCTICA

En esta reacción el NADH se oxida y el ácido pirúvico se reduce transformándose en ácido láctico.

Figura 2-15 Formación del ácido láctico a partir del ácido pirúvico



El rendimiento estequiométrico teórico para la transformación de glucosa en etanol es de 0.511 g de etanol y 0.489 g de dióxido de carbono por 1 gramo de glucosa. Este valor fue cuantificado por Gay Lussac.

En realidad, es difícil obtener este rendimiento porque, como se mencionó anteriormente, la levadura utiliza glucosa para la producción de otros metabolitos indispensables para su crecimiento y desarrollo. El rendimiento experimental varía entre el 90 y el 95 % del teórico, es decir, de 0.469 a 0.485 g/g (Vázquez. H. 2007).

2.4. LEVADURAS EN LA FERMENTACIÓN

Se denomina levadura a cualquiera de los diversos hongos microscópicos unicelulares que son importantes por su capacidad para realizar la fermentación de hidratos de carbono, produciendo distintas sustancias.

2.4.1. LA LEVADURA SACCHAROMYCES CEREVISIAE

Es la especie de mayor uso en la industria vinícola. Se describe normalmente como un anaerobio facultativo, de modo que crece tanto en condiciones aeróbicas como anaeróbicas, es capaz de emplear un amplio rango de sustratos entre mono-, di-, y oligo-sacáridos, así como etanol, acetato, glicerol y hasta lactatos; siendo la glucosa su fuente de carbón preferida, la cual metaboliza a etanol (ver figura 4-16). Se trata generalmente de levaduras apiculadas, es decir con forma de limón, que tienen un bajo poder fermentativo (hasta 4-5 % Vol.) (Dickinson, J. 2003).

Figura 2-16 Saccharomyces cerevisiae



Fuente: Dourbano (2015)

2.4.2. LA LEVADURA SACCHAROMYCES CARLSBERGENSIS

Se desarrolla en el mosto de fermentación de la cerveza. Fermenta glucosa, maltosa y sacarosa (Dickinson, J. 2003).

2.4.3. LA LEVADURA SACCHAROMYCES PASTORIANUS

Una vez que se han superado los 4-5 %Vol. de alcohol, otras especies de levaduras dominan el proceso como es el caso de *Saccharomyces pastorianus* y otras.

Hay 3 variedades, una de ellas produce vinos secos de sabor áspero. Las otras actúan sobre la cerveza produciendo líquidos turbios y de sabor amargo (Dickinson, J. 2003).

2.4.4. LA LEVADURA WILLIA ANÓMALA

Se aisló en una levadura de cerveza. Forma velo gris en la superficie de los líquidos y produce olor a esencias y frutas. Fermenta la glucosa, pero no descompone la maltosa y sacarosa (Dickinson, J. 2003).

Dado que la mayoría de las levaduras sólo actúan sobre la glucosa mientras que, muy pocas lo hacen sobre la maltosa y la dextrina, en la obtención de alcohol a escala industrial hay que recurrir a hongos ricos en amilasas (proteínas) que hidrolizan el almidón y la dextrina. Algunos de estos hongos prosiguen la transformación descomponiendo los azúcares obtenidos en alcohol, como el *Aspergillus oryzae* que produce el sake (alcohol de arroz) (Dickinson, J. 2003).

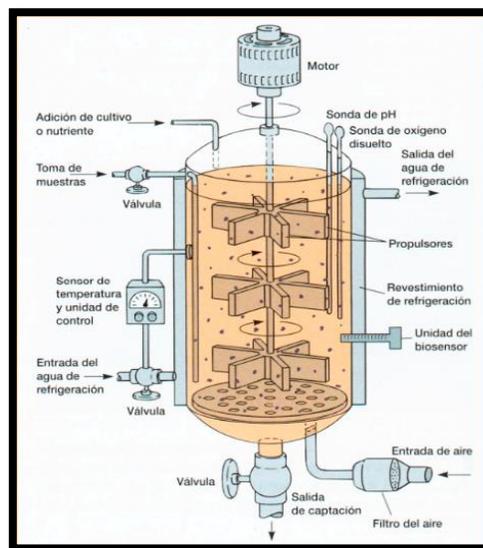
2.5. TIPOS DE FERMENTACION

El mantenimiento de un ambiente aséptico y de condiciones aeróbicas son, probablemente, los dos puntos de mayor relevancia que hay que considerar. Los fermentadores más ampliamente utilizados a nivel industrial están provistos de mecanismos de agitación, dispersión y aireación, así como de sistemas para el control de la temperatura, pH y formación de espuma.

2.5.1. FERMENTACIÓN DISCONTINUA

Una fermentación discontinua o batch puede ser considerada como un sistema cerrado (ver figura 4-17). Al inicio de la operación se añade la solución esterilizada de nutrientes y se inocula con el microorganismo, permitiendo que se lleve a cabo la incubación en condiciones óptimas de fermentación. A lo largo de toda la fermentación no se añade más nutrientes. En algunas ocasiones se añade un agente antiespumante y ácidos o bases para controlar el pH de la fermentación. (Mateos, P. 2010).

Figura 2-17 Reactor Batch



Fuente: Darwin, 2010.

2.5.2. FERMENTACIÓN CONTINÚA

En la fermentación continua se establece un sistema abierto. La solución nutritiva estéril se añade continuamente al reactor y una cantidad equivalente del cultivo, con los microorganismos, se saca simultáneamente del sistema (Mateos, P. 2010).

De este tipo tenemos los siguientes:

- ❖ Tanque Agitado.
- ❖ Columnas empacadas con enzima inmovilizada.
- ❖ Torres de lecho fluidizado donde el flujo del medio mantiene suspendidos los microorganismos.

Además, tomando en cuenta el estado físico de la mezcla reaccionante, los fermentadores se pueden dividir en:

- ❖ Homogéneos. -En los cuales las reacciones ocurren en una sola fase.
- ❖ Heterogéneos. - Donde se presentan en dos o más fases.

2.6. DESTILACIÓN

La destilación es una operación unitaria que consiste en la separación de los componentes de una mezcla líquida (en la que todos los compuestos son más o menos volátiles) por evaporación y condensación sucesivas. La separación se basa en la diferencia de volatilidades absolutas de los componentes, lo que tiene como consecuencia la formación de un vapor de composición diferente a la del líquido del que procede (Ocon, J. 2005).

Lógicamente, cuanto mayor sea la diferencia de volatilidades mayor será la separación que se puede conseguir (Ocon, J. 2005).

Los distintos métodos empleados en la destilación se pueden clasificar en los siguientes:

2.6.1. DESTILACIÓN SIMPLE

Consiste en la evaporización parcial de una mezcla con producto de vapor más rico en componentes más volátiles que la mezcla líquida inicial quedando un residuo líquido más rico en componente menos volátiles; se puede llevar a cabo de dos maneras (Ocon, J. 2005).

2.6.1.1. DIFERENCIAL O ABIERTA

Este método de destilación es el que se efectúa normalmente en los laboratorios cuando se trabaja sin reflujo. llenando continuamente los vapores producidos hasta un condensador. La operación se realiza calentando la mezcla líquida inicial hasta su temperatura de ebullición y retirando continuamente los vapores producidos. A medida que transcurre la operación el líquido se empobrece en componente más volátil elevándose continuamente la temperatura de ebullición de la mezcla; del mismo modo

los vapores producidos son cada vez más pobre en componente más volátil y su temperatura de condensación aumenta continuamente (Ocon, J. 2005).

2.6.1.2. CERRADA O DE EQUILIBRIO

En este caso el líquido se lleva a una temperatura intermedia entre la de principio y fin de ebullición, dejando que la fase vapor formada alcance el equilibrio con la fase líquida a aquella temperatura. Por aplicación de un balance de materia aplicado a todo el sistema y al componente más volátil, llegamos a la expresión (Ocon, J. 2005).

$$L/V = (y - x_o) / (x_o - x)$$

que nos da la relación entre las cantidades de líquido residual L y la cantidad de vapor V, en función de la composición inicial del líquido x_o , y la composición del líquido y vapor en equilibrio a la temperatura y presión dada, x y y .

Sobre el diagrama de ebullición, construido a la presión de la operación, se leen directamente las composiciones del líquido y de vapor en equilibrio, en función de la composición del líquido inicial y de la temperatura de trabajo (Ocon, J. 2005).

También podemos mencionar otros métodos de destilación simple que son:

- Condensación parcial.
- Condensación diferencial o abierta.

2.6.2. DESTILACIÓN POR RECTIFICACIÓN

La operación por rectificación consiste en hacer circular en contracorriente el vapor de una mezcla con el condensado procedente del mismo vapor, en un aparato denominado columna de rectificación (Ocon, J. 2005).

Las partes esenciales de una columna de rectificación son; la columna propiamente dicha, que es donde se verifica el contacto íntimo entre el líquido y el vapor; calderín, situado en la base de la columna en donde se hace hervir la mezcla a separar; y el condensador de reflujo situado en la cúspide de la columna, que se encarga de suministrar el líquido descendiente para su contacto con el vapor (Ocon, J. 2005).

Para lograr el íntimo contacto entre las fases líquidas y vapor al objeto de establecer el intercambio de materia entre ambas fases interesa que la superficie y el tiempo de

contacto sean suficientes; en la práctica este contacto se logra con dos dispositivos diferentes: el de los platos de borboteo que retiene el líquido a treves del cual se va a obligar a pasar el vapor, y el de los cuerpos de relleno, que llenan el interior de la columna verificándose el contacto entre las fase sobre la superficie de estos cuerpos de relleno (Ocon, J. 2005).

Podemos mencionar los siguientes procesos de destilación por rectificación:

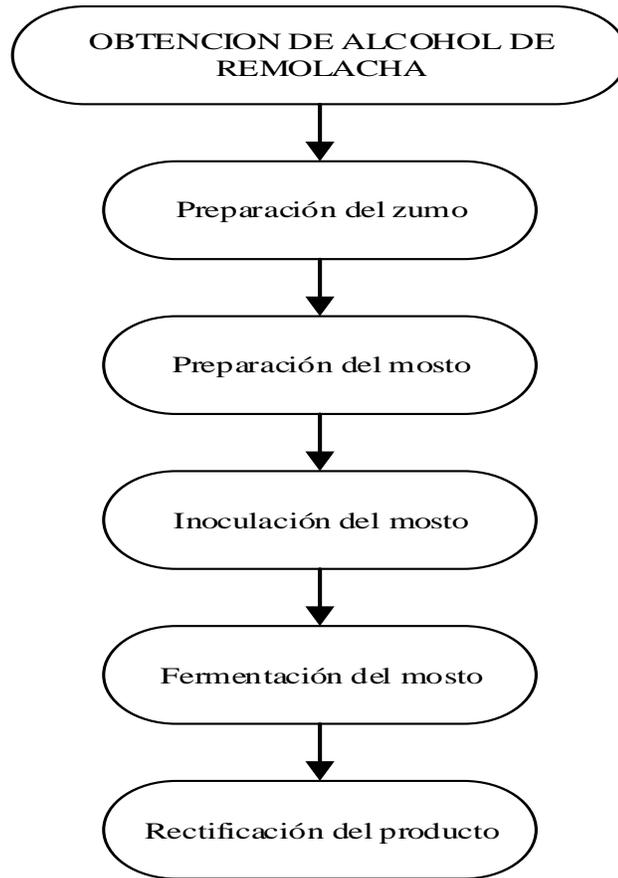
- Rectificación continúa.
- Rectificación descontinua.
- Destilación con arrastre de vapor.

2.7. METODO PARA LA ELABORACION DE ALCOHOL A PARTIR DE LA REMOLACHA

De acuerdo a Brito, et al (2016). la elaboración de alcohol de remolacha mediante los procesos de fermentación y destilación, tiene como objetivo principal la obtención de alcohol superior al 90%.

Para la elaboración de alcohol a partir de la remolacha se parte de un proceso de fermentación. (Brito, et al.2016).

Figura 2-18 Proceso de obtención de alcohol de remolacha



Fuente: Brito, et al.2016

Preparación del zumo. - Extraer 86 litros de zumo de remolacha azucarera *Beta vulgaris* L. El zumo debe ser preparado por licuefacción de remolacha previamente lavada y cortada los tallos y cualquier imperfección, posteriormente tamizada para retener la fracción de sólidos de tamaño considerable. Todas las operaciones se deben realizar en condiciones asépticas y con materiales previamente lavadas para asegurar la inocuidad del producto. (Brito, et al.2016).

Preparación del mosto. - Acondicionar 14 lt de agua a los 86 lt de zumo de remolacha para obtener la concentración de sólidos deseado, el agua debe estar previamente tratada para asegurar la inocuidad del producto. La mezcla se puede realizar en el equipo, previamente al lavado del mismo. (Brito, et al.2016).

Inoculado del mosto. - A la mezcla se procede adicionar la levadura (20gr de levadura solida disuelta en agua a 30 °C hasta eliminar la totalidad de grumos) mas 200 g de sulfato de amonio como agente bio estimulante. (Brito, et al.2016).

Fermentación del mosto. - El proceso de fermentación del mosto se lo realiza con el equipo cerrado con la tapa hermética procurando que los empaques no se dañen, ajustar los tornillos de sujeción evitando el sobreesfuerzo de los mismos para limitar los daños internos por la dilatación. A continuación, se enciende el equipo y se configura el sistema automático para que la temperatura se mantenga en 30°C, con esto se logra fermentar el 80% de la sacarosa en un tiempo de fermentación de 12 horas por batch. (Brito, et al.2016).

Rectificación del producto. - Para incrementar el grado alcohólico y la pureza del producto de la fermentación se debe realizar una destilación fraccionada hasta el grado alcohólico deseado. (Brito, et al.2016).

Para este propósito se analizó inicialmente el tipo de remolacha más adecuada para los procesos fermentativos, esto se lo hace por un muestreo a nivel de los mercados La Condamine, La Merced, San Alfonso y La Esperanza de la ciudad de Riobamba, determinando el mayor porcentaje de sólidos en la remolacha 13,66 %. (La remolacha fue adquirida en el Mercado Mayorista, ubicado en la ciudad de Riobamba en la provincia de Chimborazo). Se buscó un lote de remolacha que provenga del mismo sistema de cultivo, presente con el mismo tiempo de cosecha, es decir, se procuró obtener una materia prima lo más homogénea e idónea posible para el sistema de fermentación. Una vez determinadas las cantidades de zumo de remolacha y agua se procedió a la medición de la velocidad de reacción, para lo cual, se preparó 100 L de mosto, se añadió 200 g de levadura, previamente disuelta en 500 mL de agua a 32 °C (hidratada y activada), 200 g de sulfato de amonio y se procedió a fermentar en a una temperatura de 30 °C por un lapso de 12 horas. Cada hora se tomó una muestra del mosto de 20 mL, al mismo que se determina el grado alcohólico obtenido, siendo del 12 %, además se determinó las variables óptimas de operación como son temperatura de fermentación 30°C; pH 4,3; tiempo y agitación por intervalos de 10 min durante 2

min a una velocidad de 20 RPM. El producto obtenido en el proceso de fermentación con el 12 % de alcohol se alimenta a la torre de destilación hasta obtener un grado alcohólico (López E, 2013) de 94 %, a una temperatura de ebullición de 76 °C, de esta manera se ha cumplido con el objetivo planteado al inicio de la investigación. (Brito, et al.2016).

CAPÍTULO III
PARTE EXPERIMENTAL

CAPÍTULO III

PARTE EXPERIMENTAL

El presente trabajo de investigación aplicada ha sido desarrollado en las instalaciones del Laboratorio de Operaciones Unitarias (LOU), dependiente del Departamento de Procesos Industriales Biotecnológicos y Ambientales (DPIBA) de la Facultad de Ciencias y Tecnología.

3.1. ANÁLISIS DE LA MATERIA PRIMA REMOLACHA ROJA

La remolacha empleada para la obtención de bioetanol es la variedad roja que es producida en el departamento de Tarija, adquirida en el mercado local donde se determinó los análisis fisicoquímicos, almidón grados °brix, azúcares reductores y azúcares totales

Tabla III-1 Análisis fisicoquímicos y complementarios de la remolacha roja

ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS		
Carbohidratos	%	8,487
Humedad	%	86,827
Cenizas	%	0,183
Grasas	%	3,252
Proteínas	%	1,251
ANÁLISIS COMPLEMENTARIOS		
Almidón	gr/100gr	3,64
Azúcares Reductores	%	0,37
Azúcares Totales	%	23,61
Sólidos solubles	°Brix	17.6

Fuente: CEANID 2020

3.2. DESCRIPCIÓN DEL MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

El proceso de obtención de bioetanol a nivel laboratorio, por fermentación alcohólica de la remolacha roja contempla los siguientes procesos: proceso de fermentación alcohólica y destilación alcohólica por rectificación.

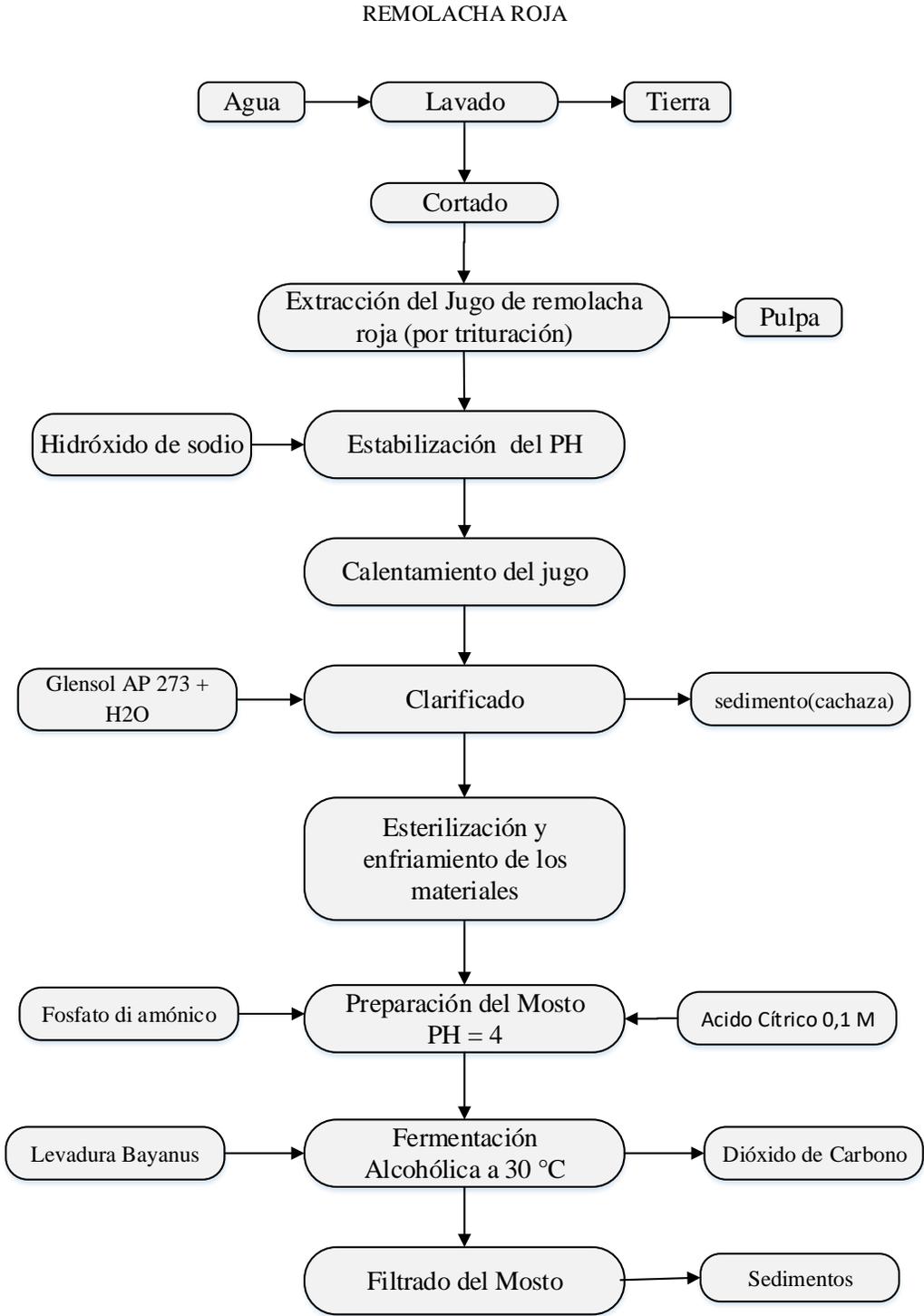
3.3. HIPÓTESIS

Es posible obtener bioetanol por fermentación alcohólica a partir de los azúcares reductores que contiene la remolacha roja.

3.4. PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

En la figura 3-1 se muestra el proceso de fermentación alcohólica a partir del jugo de remolacha roja

Figura 3-1 Diagrama de bloques del proceso de fermentación alcohólica a partir de la remolacha roja producida en el departamento de Tarija

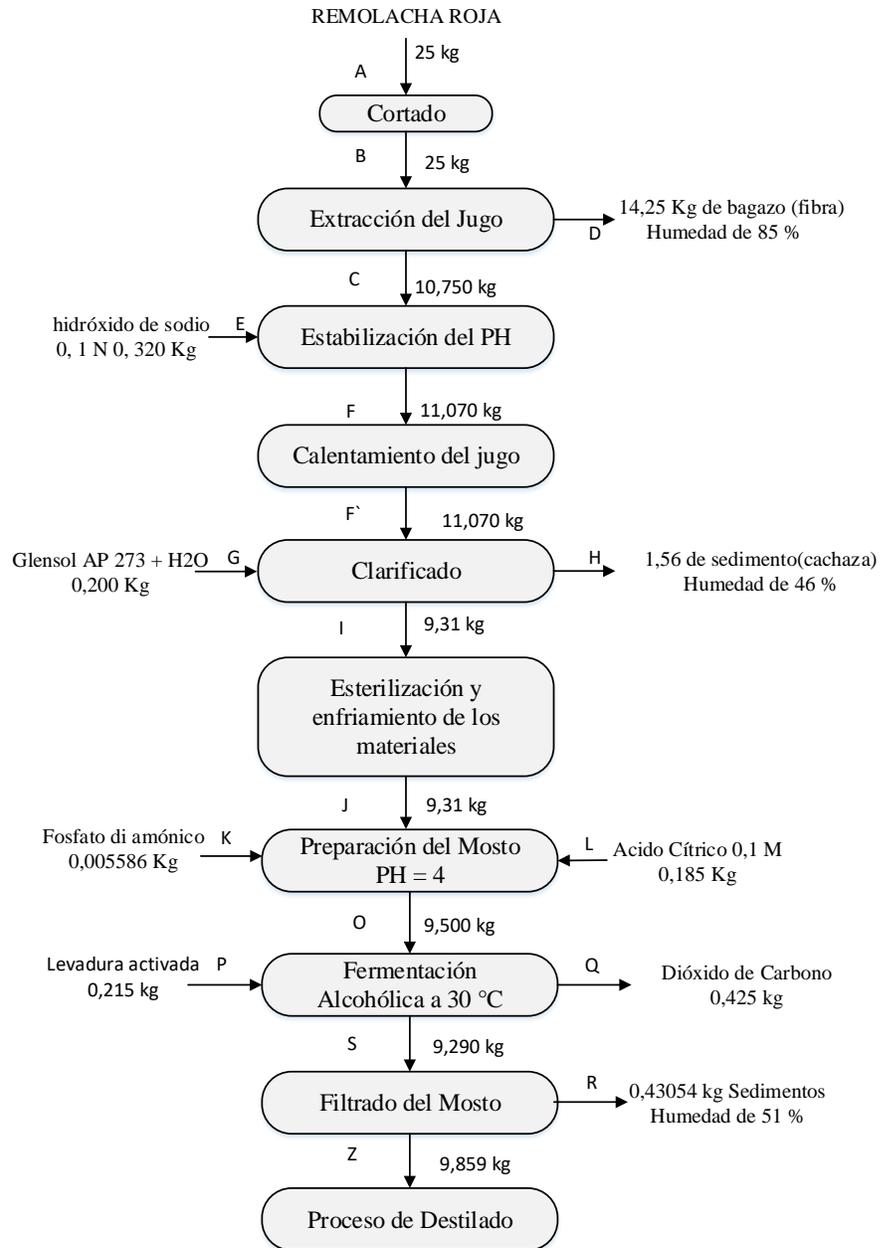


Fuente: Elaboración propia,2020

3.4.1. BALANCE DE MATERIA GENERAL

En la figura 3-2 se muestra el balance de materia del proceso de fermentación alcohólica

Figura 3-2 Balance de materia del proceso de fermentación alcohólica



Fuente: Elaboración propia, 2020

Balance global: $A+E+G+K+L+P=D+H+Q+R+Z$

3.5. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA A PARTIR DE LA REMOLACHA ROJA

3.5.1. LAVADO

Una vez seleccionada la remolacha se procedió al lavado para eliminar lodos y residuos vegetales (hojas, raíces, etc.).

3.5.2. CORTADO Y PESADO

Al concluir la etapa de lavado se procedió a pesar 25 Kg de remolacha. Se procedió al cortado en pequeños trozos para poder facilitar su extracción del jugo, como se muestra en la figura 3-3 y 3-4.

Figura 3-3 Pesado de la Muestra



Fuente: Elaboración propia

Figura 3-4 Cortado de la materia prima



Fuente: Elaboración propia

3.5.3. EXTRACCIÓN DEL JUGO DE REMOLACHA

El jugo de cada muestra de remolacha roja se obtiene con una extractora de jugo Philips (ver figura 3-5) uso doméstico que permite extraer la mayor cantidad de jugo y tener una menor pérdida de esta.

Figura 3-5 Extractora de jugo



Fuente: Elaboración propia

3.5.4. ESTABILIZACIÓN DEL pH

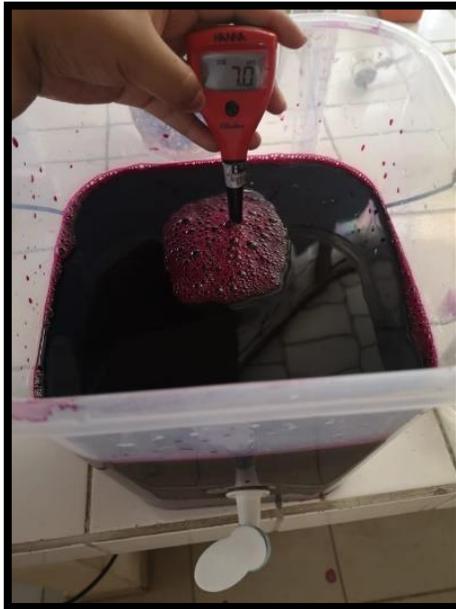
Para proceder al clarificado el jugo de remolacha debe cumplir con un pH 7, de esta forma se regula el pH con hidróxido de sodio (NaOH) 1 N que fue preparado en el laboratorio de operaciones unitarias (LOU) y valorado con la solución patrón de ácido clorhídrico (HCl) 1 N. (ver figura 3-6 y 3-7).

Figura 3-6 Adición del Hidróxido de Sodio



Fuente: Elaboración propia.

Figura 3-7 Lectura del pH del jugo de remolacha



Fuente: Elaboración propia.

3.5.5. CALENTAMIENTO DEL JUGO

Una vez estabilizado el pH del jugo se procedió a calentar el jugo a una temperatura de 75 °C con ayuda de un calentador eléctrico. Este proceso se lo realiza para ayudar al clarificado del jugo para acortar el tiempo que los sólidos se precipiten al fondo.

3.5.6. CLARIFICADO

El floculante utilizado para el proceso de clarificación es el GLENSOL AP 273 es un polímero aniónico cinético de variado peso molecular, sumamente eficaz en la floculación de sólidos finamente divididos en suspensiones acuosas. Son especialmente utilizados en el proceso de purificación y clarificación.

Se debe preparar el floculante diluyendo 0,026 gr de GLENSOL AP 273 que es el recomendado por el fabricante en 250 ml de agua, misma que debe estar caliente para que el floculante pueda diluirse apropiadamente. Esta mezcla debe agitarse continuamente para evitar un proceso de coagulación que minimizaría la eficiencia del producto.

Para realizar el clarificado se procedió a calentar el jugo de remolacha llegando a una temperatura de 75 °C una vez caliente se añadió el floculante agitando continuamente y posteriormente se deja reposar por alrededor de 10 min para luego proceder a filtrar (ver figura 3-8 y 3-9).

Figura 3-8 Precipitado de los sólidos en suspensión



Fuente: Elaboración Propia

Figura 3-9 Jugo filtrado



Fuente: Elaboración Propia

3.5.7. ESTERILIZACIÓN Y ENFRIAMIENTO DE LOS MATERIALES

La esterilización de los materiales se llevó a cabo en autoclave Raypa (ver figura 3-10) el interior de la autoclave debe contener agua destilada a temperatura ambiente cubriendo la resistencia del equipo, una vez colocado los materiales se procede a cerrar la tapa y programar el equipo a 120^aC y una presión de 1.5 bares.

Figura 3-10 Autoclave Raypa



Fuente: Elaboración propia.

3.5.8. PREPARACIÓN DEL MOSTO

Una vez esterilizado los materiales se procedió a introducir 9,5 litros de mosto con un grado brix de 16,6 En un reactor (Polipropileno PP de 10 litros).

Se emplea fosfato diamonico ((NH₄)₂HPO₄), como único nutriente en el proceso, para asegurar el aporte de nitrógeno y fosfato al mosto en cantidades de 0,6 gr/l

Una vez ajustado el pH se calentó el mosto en un termostato J.P. Selecta a temperatura de 30°C.

Figura 3-11 Mosto ya preparado



Fuente: Elaboración propia

3.5.8.1. ACTIVACIÓN DE LA LEVADURA SACCHAROMYCES BAYANUS

Activación del cultivo: se prepara 200 ml de solución que contenga 200cm³ de agua destilada, 4 gr de cloruro de sodio (Na Cl) y 8 gr de sacarosa. Se le agrego 3,15 gr de liofilizado de cepa pura de Saccharomyces bayanus se incubo a 38 °C. Se espera el tiempo necesario hasta que se active el inculo que se puede establecer al observar formación de espuma y burbujeo (ver figura 3-12) dióxido de carbono (CO₂).

Nota: Los materiales utilizados para la activación del liofolizado levadura saccharomyces bayanus PB2870 fueron esterilizados para evitar realizar una contaminación cruzada al cultivo.

Figura 3-12 Activación de la levadura



Fuente: Elaboración propia

3.5.9. FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Para el proceso de fermentación se usó levadura *Saccharomyces bayanus* PB2870 previamente activada. Las levaduras actúan sobre los azúcares reductores.

Una vez activada la levadura se adiciona al mosto. Se debe agitar cuidadosamente y posteriormente se procede a tapar el recipiente dejando un orificio de salida para el CO₂ que es un sub producto de la fermentación alcohólica como se puede apreciar en la figura 3-13.

La fermentación generalmente dura unos días dependiendo de las variables de fermentación como ser temperatura, pH y cantidad de levadura entre los más influyentes

A lo largo de la fermentación se tomaron muestra de 200 ml en un intervalo de tiempo de 12 horas para determinar los grados brix del mosto y pH.

Para determinar la conclusión de la fermentación se procede a medir los grados brix con un refractómetro una vez que estos se mantengan constantes se puede deducir que nuestra fermentación finalizo.

Esto debido a que los grados brix varían en el transcurso de la fermentación, al inicio de la fermentación tendrá 16,6 °Brix que será mayor al Brix final 5,4 °Brix debido a la transformación de los azúcares en alcohol etílico y en CO₂. El Brix constante nos indica que ya no existe actividad microbiana(levadura) por ende ya no hay transformación de azúcares reductores en alcohol etílico.

Figura 3-13 Reactor de fermentación



Fuente: Elaboración propia

3.5.9.1. DISEÑO FACTORIAL PARA LA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Para poder determinar las variables significativas en el presente trabajo experimental se plantea un diseño factorial de dos niveles y dos variables o parámetros con dos repeticiones.

Según los estudios realizados por la Dr. Diana Estrada en el tema: investigación de los factores fisicoquímicos que altera el proceso de la fermentación alcohólica son temperatura, pH y oxígeno ya que cada tipo de microorganismo difiere en sus condiciones de desarrollo para una mejor productividad.

De esta manera se tomó como variables más influyentes en el proceso de fermentación alcohólica la temperatura de fermentación y el pH.

Tabla III-2 Variables de control para el proceso de fermentación alcohólica

Nivel	Temperatura de fermentación (°C)	(pH)
superior	30	4,5
inferior	25	4

Fuente: Elaboración propia,2020.

Tomando estos datos como punto de partida se realiza un diseño factorial de 2^2 (dos niveles, dos variables).

$$\text{N}^\circ \text{ variables} = 2$$

$$\text{Niveles} = 2$$

$$\text{N}^\circ \text{ de experimentos} = 2^2 = 4$$

Como se harán dos repeticiones entonces.

$$\text{N}^\circ \text{ de experimentos} = 4 * 2 = 8 \text{ experimentos}$$

Considerando las combinaciones de estas variables se determinarán cuál de ellas es la más significativa cuando se analice la variable respuesta (concentración de alcohol en el mosto).

Tabla III-3 Diseño factorial para el proceso de fermentación

Pruebas	T (°C)	pH (pH)	Concentración de alcohol en el mosto
1	-1	-1	
2	-1	+1	
3	+1	-1	
4	+1	+1	

Fuente: elaboración propia, 2020.

Tabla III-4 Datos del diseño factorial para la fermentación.

Pruebas	T (°C)	pH (pH)	Concentración de alcohol en el mosto
1	25	4	
2	25	4,5	
3	30	4	
4	30	4,5	

Fuente: Elaboración propia.

3.5.10. FILTRADO DEL MOSTO

Posteriormente culminada la fase de fermentación alcohólica se procedió al filtro al vacío de los 9,28 Kg de mostro con un equipo de filtrado equipado con: papel filtro, bomba de vacío modelo A 6611-04, presión de vacío de 80 kPa por un tiempo aproximado de 4 horas. Para eliminar los sólidos presentes.

Figura 4-14 Jugo fermentado



Fuente: Elaboración propia.

Figura 3-15 Proceso de filtrado



Fuente: Elaboración propia.

3.6. CALCULO DEL ALCOHOL EN EL MOSTO FILTRADO

Una vez concluida la fermentación alcohólica se procedió a determinar la cantidad de alcohol en el mosto filtrado.

Para ello se procedió a la toma de muestra de 500 ml del mosto filtrado y con ayuda de un destilador simple (rota vapor) y durante un tiempo de 1 hora a una temperatura de 80 C. con el fin de remover todo el alcohol que existe en la muestra del mosto filtrado.

La cantidad de destilado obtenido debe ser 250 ml para realizar la lectura con un alcoholímetro y así poder determinar la cantidad de alcohol existente en 500 ml de mosto filtrado. (Ver figura 3-16).

Figura 3-16 Equipo de destilación simple



Fuente: Elaboración propia.

3.7. PROCESO DE DESTILACIÓN

Se procedió a realizar la separación del producto de nuestro interés (etanol) mediante el proceso de destilación en una columna de destilación discontinua UOP3BM de ocho platos que cuenta con un hervidor con una capacidad de 12 litros, decantador, consola de control, tanque de recepción y un condensador. (Ver figura 3-17)

Para realizar el proceso de destilación se contó con una masa de mosto filtrado de 9,2846 kg que fueron introducidos al hervidor o reboiler.

Se controló la temperatura de cabeza de la columna y el reflujo con los valores señalados en nuestro diseño factorial planteando.

Se tomó 200 ml de muestra del destilado en una probeta de 300 ml para poder determinar la concentración de alcohol en grados Gay-Lussac (°GL) mediante el uso de un alcoholímetro Nahita (rango 0-100 % vol. Gay-Lussac) calibrado a 20 °C longitud total 290 mm. (Ver figura 3-18)

Figura 3-17 Columna de rectificación



Fuente: Elaboración propia

Figura 3-18 Lectura de grado alcohólico

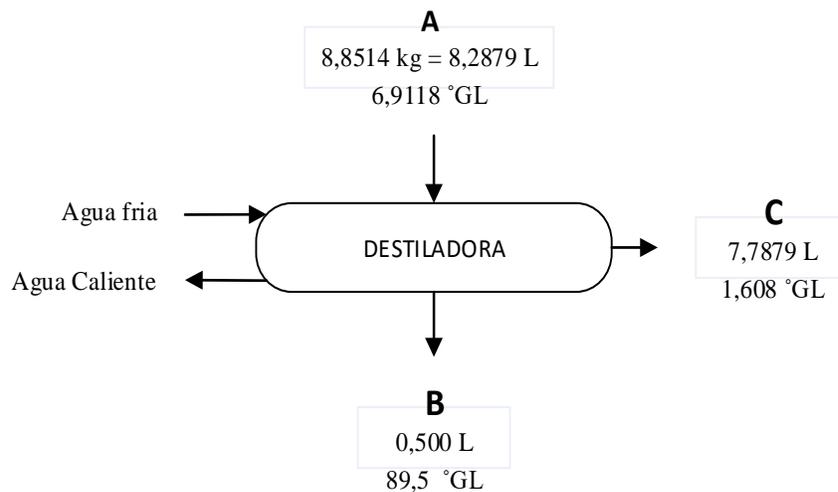


Fuente: Elaboración propia

3.6.1. BALANCE DE MATERIA GENERAL

En la parte del balance de materia en la destilación se debe conocer la concentración de alcohol en la línea de alimentación, producto de cabeza y cola para poder determinar cuánto de alcohol se recupera en el proceso de destilado y poder determinar el rendimiento de la fermentación.

Figura 3-19 Balance de materia del proceso de destilación



Fuente: Elaboración propia.

3.7.1. DISEÑO FACTORIAL PARA EL PROCESO DE DESTILACIÓN

Para poder determinar las variables significativas en el presente trabajo experimental se plantea un diseño factorial de tres niveles y dos variables.

Las variables que más influyen en el proceso de destilación alcohólica mediante el proceso de rectificación son el reflujo y la temperatura de cabeza de la columna de refracción.

Tabla III-5 Variables de control para el proceso de destilación

Nivel	Reflujo	temperatura de cabeza
Superior	9	80
Medio	6	78
Inferior	3	76

Fuente: Elaboración propia

Tomando estos datos como punto de partida se realiza un diseño factorial de 3^2 (dos niveles, dos variables).

$$\text{N}^\circ \text{ variables} = 2$$

$$\text{Niveles} = 3$$

$$\text{N}^\circ \text{ de experimentos} = 3^2 = 9$$

Como se harán dos repeticiones entonces.

$$\text{N}^\circ \text{ de experimentos} = 9 * 2 = 18 \text{ experimentos}$$

Considerando las combinaciones de estas variables se determinarán cuál de ellas es la más significativa cuando se analice la variable respuesta (grados alcohólicos del destilado °GL)

Tabla III-6 Diseño factorial para el proceso de destilación

Pruebas	Reflujo	Temperatura de cabeza (°C)	Grado alcohólico (°GL)
1	+1	+1	
2	0	+1	
3	-1	+1	
4	+1	0	
5	0	0	
6	-1	0	
7	+1	-1	
8	0	-1	
9	-1	-1	

Fuente: Elaboración propia.

Tabla III-7 Diseño factorial para el proceso de destilación

Pruebas	Reflujo	Temperatura de cabeza (°C)	Grado alcohólico (°GL)
1	9	80	
2	6	80	
3	3	80	
4	9	78	
5	6	78	
6	3	78	
7	9	76	
8	6	76	
9	3	76	

Fuente: Elaboración propia.

CAPÍTULO IV
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CUANTIFICACIÓN DE CANTIDAD DE MATERIA ORGÁNICA QUE SE PIERDE EN EL PROCESO DE OBTENCIÓN DE BIOETANOL

Para cuantificar la cantidad de materia orgánica que se pierde en el proceso, se procedió a pesar 1 kg de muestra de nuestra materia prima (remolacha roja) una vez extraído el jugo de la remolacha con la ayuda de una extractora se determinó el peso de la materia orgánica que queda como subproducto. Posteriormente se llevó a una estufa que se encuentra a una temperatura de 60°C en un tiempo determinado, hasta obtener un peso constante de la muestra (ver tabla IV-1)

Para obtener datos precisos se tomaron 5 muestras de 1 kg para poder determinar la cantidad de sub producto que se genera en el proceso.

Se procedió a calcular la humedad relativa para cuantificar la cantidad de agua que existe en cada muestra de residuo sólido de la remolacha para verificar el rendimiento de la materia prima y cuantificar la cantidad de materia orgánica que puede ser procesada como bio abono o combustible para alimentación a las calderas.

Tabla IV-1 Determinación de la humedad del residuo sólido de la remolacha

Muestra	Cantidad de remolacha	Muestra		humedad Relativa %
		peso húmedo del residuo sólido de la remolacha	peso seco del residuo sólido de la remolacha	
1	1 kg	0,590 kg	0,080 kg	86.440%
2	1 kg	0,560 kg	0,070 kg	87.512%
3	1 kg	0,600 kg	0,080 kg	86.663%
4	1 kg	0,560 kg	0,080 kg	85.711%
5	1 kg	0,540 kg	0,080 kg	85.180%
Cantidad de materia seca			0.078 kg	86.332%

Fuente: Elaboración propia.

$$\text{Humedad Relativa (US\%)} = \frac{\text{Peso humedo} - \text{peso seco}}{\text{peso humedo}} * 100$$

$$\text{Humedad Relativa (US\%)} = \frac{0.590 \text{ gr} - 0.080 \text{ gr}}{0.590\text{gr}} * 100 = 86,440 \%$$

Según los resultados obtenidos la cantidad de agua que existe en cada muestra tiene un promedio de 86,332 % de agua y una materia seca de 0,078 kg

si comparamos la humedad del bagazo que procede del proceso de obtención de alcohol de la caña de azúcar que se encuentra en los rangos de 46 a 53 % de humedad (James, C.1987)

La humedad de nuestra materia orgánica es elevada ocasionando perdida de solidos solubles que se encuentra dentro de la fibras o celulosas.

4.2. RESULTADOS DEL PROCESO DE FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

Para poder calcular las variables más influyentes en la fermentación alcohólica. se realizó un diseño factorial de 2 variables y 2 nivel dando como resultados 8 proceso de fermentación alcohólica más sus réplicas.

4.2.1. DATOS OBTENIDOS EN LA PRIMERA FERMENTACIÓN

Se tomó como variables respuesta los grados brix que fueron determinado con ayuda de un refractómetro que se encuentra en el laboratorio de operaciones unitarias (LOU) en la instalación de la universidad autónoma juan Misael Saracho cuyo procedimiento de determinación de °brix se describe en el ANEXO 1

En la primera fermentación alcohólica se tomaron los siguientes valores en las variables pH 4 y temperatura de 25 °C

**Tabla IV-2 Datos obtenidos en la primera fermentación más sus replica
3/6/2019 al 10/6/2019**

pH = 4 Temperatura = 25 °C						
Hora	Primera Fermentación			Replica		
	pH	°C	°BRIX	pH	°C	°BRIX
0	4	25	17,4	4	25	17,8
15	4	25	17,2	4	25	17,4
27	3,9	25	16,3	4	25	17,0
39	3,9	25	16,1	3,8	25	16,5
51	3,8	25	14,3	3,8	25	15,1
63	3,7	25	13	3,7	25	14,5
75	3,7	25	12	3,7	25	12,9
87	3,7	25	10,9	3,7	25	12,1
99	3,7	25	6,2	3,6	25	10,3
111	3,7	25	5,6	3,6	25	7,6
123	3,7	25	5,5	3,6	25	5,6
135	3,7	25	5,4	3,6	25	5,6
147	3,7	25	5,4	3,6	25	5,5
159	3,7	25	5,4	3,5	25	5,5

Fuente: Elaboración propia

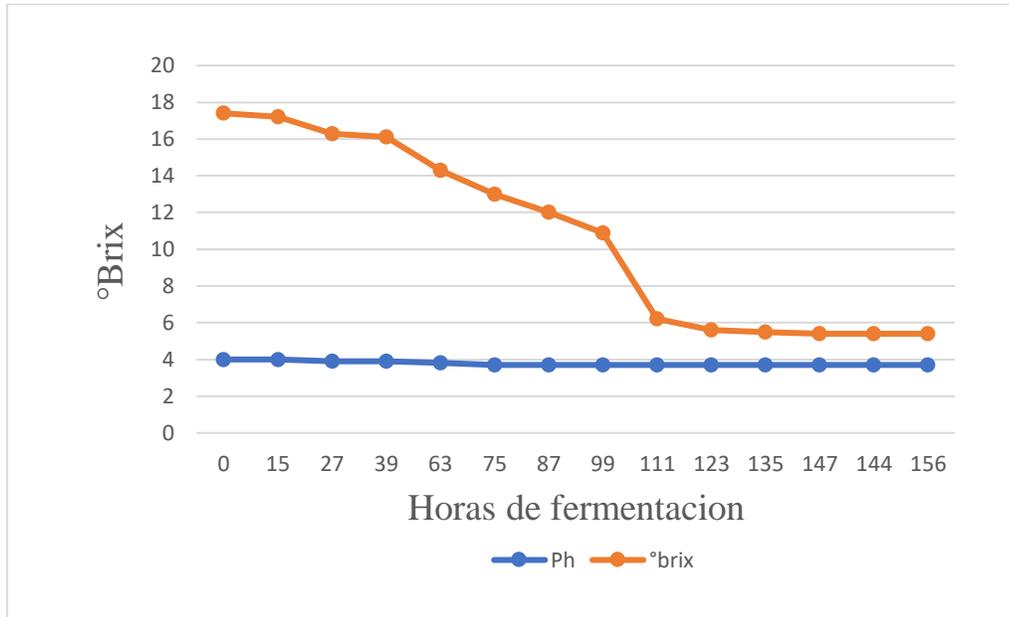
En la primera fermentación alcohólica tuvo una duración de 6 días y 6 horas, pero como se observa en la tabla el grado brix de 5,4 es constante en un tiempo de 135 horas es decir 5 días y 6 horas.

Se observó un descenso en los °Brix y pH en el mosto en el transcurso de los días la disminución de los grados brix se debe a la formación de los azúcares a etanol y dióxido de carbono (CO₂).

Cabe mencionar que los datos obtenidos en la primera fermentación alcohólica y en la réplica tienen unos valores cercanos.

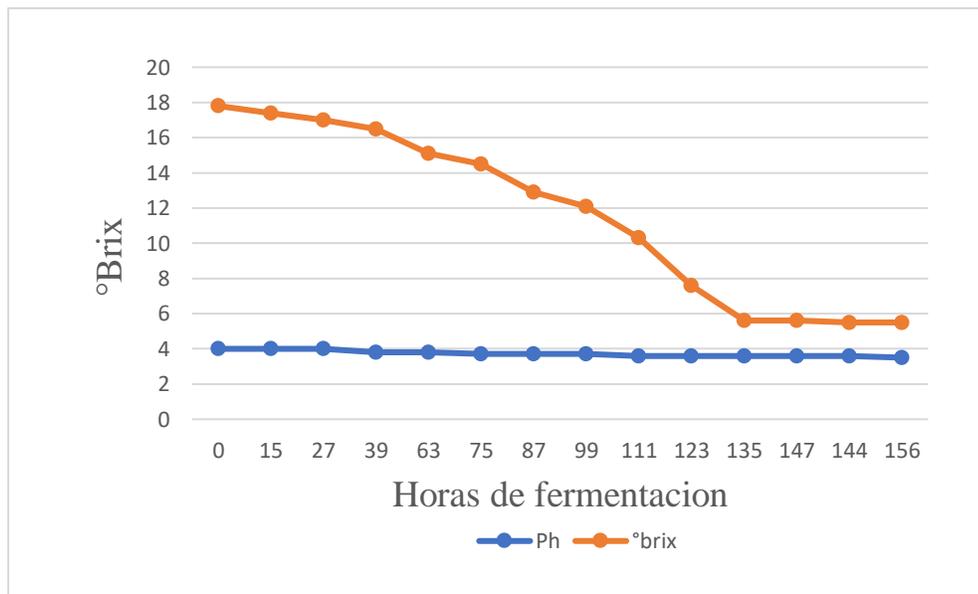
Para poder observar la reducción de los °Brix y el pH se realizó la siguiente grafica °brix vs tiempo de fermentación y pH vs tiempo de fermentación.

Grafica IV-1 Primera fermentación alcohólica



Fuente: Elaboración propia

Grafica IV-2 Replica de la fermentación alcohólica



Fuente: Elaboración propia

4.2.2. DATOS OBTENIDOS DE LA SEGUNDA FERMENTACIÓN

En la segunda fermentación se trabajó con las siguientes variables pH de 4,5 y una temperatura de 25 °C.

**Tabla IV-3 Datos obtenidos de la segunda fermentación más la replica
11/6/2019 al 19/6/2019**

pH = 4,5 Temperatura = 25 °C						
Hora	Segunda Fermentación			Replica		
	pH	°C	°BRIX	pH	°C	°BRIX
0	4,5	25	17	4,5	25	16,1
15	4,4	25	16,8	4,5	25	15,4
27	4,4	25	16,6	4,5	25	15,1
39	4,3	25	16,3	4,3	25	14,8
51	4,3	25	15,5	4,3	25	13,4
63	4,3	25	15,3	4,2	25	12,7
75	4,2	25	14,9	4	25	10,4
87	4,1	25	14	4	25	9,8
99	3,9	25	7,7	4	25	8,2
111	3,9	25	6,1	3,8	25	7,1
123	3,9	25	5,9	3,8	25	6,3
135	3,9	25	5,9	3,8	25	6,3
147	3,9	25	5,9	3,7	25	6,3
159	3,9	25	5,9	3,7	25	6,3

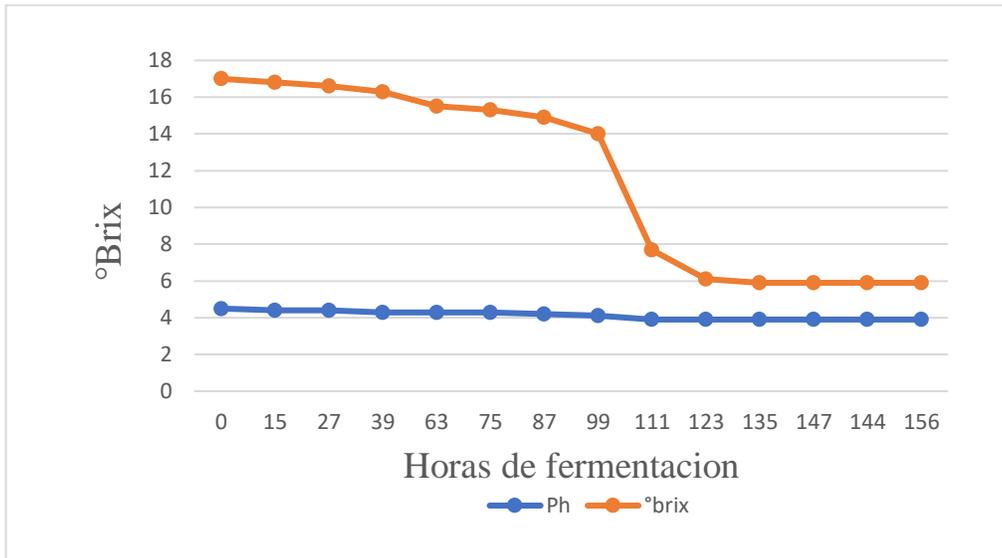
Fuente: Elaboración propia.

En la segunda fermentación alcohólica tuvo una duración de 6 días y 6 horas, pero como se observa en la tabla el grado brix de 5,9 es constante en un tiempo de 123 horas es decir 5 días y 1 horas.

Cabe mencionar que los datos obtenidos en la primera fermentación alcohólica y en la réplica tienen unos valores cercanos.

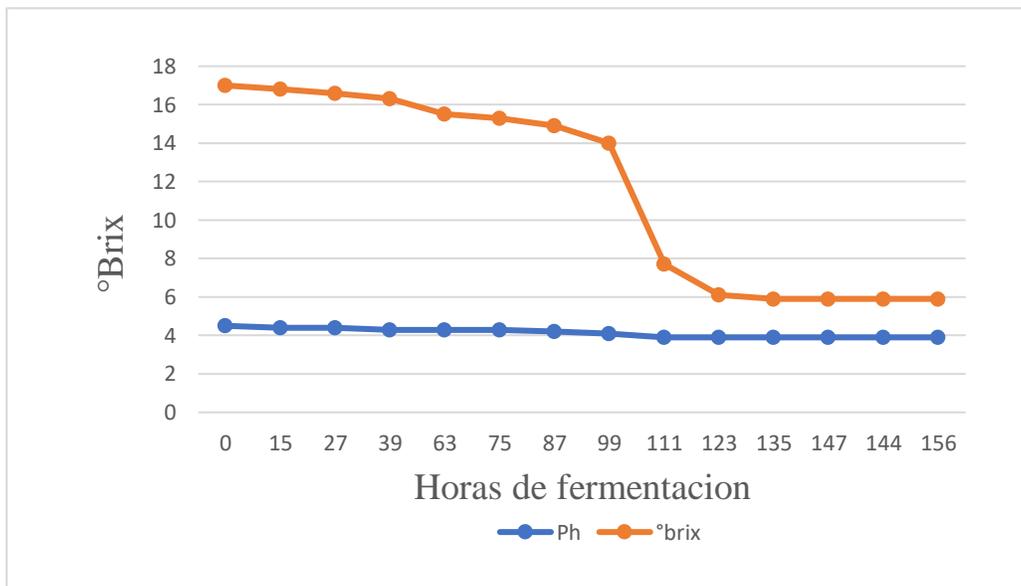
Para poder observar la reducción de los °Brix y el pH se realizó la siguiente grafica °brix vs tiempo de fermentación y pH vs tiempo de fermentación.

Grafica IV-3 Segunda fermentación alcohólica



Fuente: Elaboración propia.

Grafica IV-4 Replica de la segunda fermentación



Fuente: Elaboración Propia

4.2.3. DATOS OBTENIDOS EN LA TERCERA FERMENTACIÓN

En la segunda fermentación se trabajó con las siguientes variables pH de 4 y una temperatura de 30 °C.

**Tabla IV-4 Datos obtenidos de la tercera fermentación más la replica
4/8/2019 al 11/8/2019**

pH = 4 Temperatura = 30 °C						
Hora	Tercera Fermentación			Replica		
	pH	°C	°BRIX	pH	°C	°BRIX
0	4	30	16,6	4	30	17,3
14	4	30	15,13	4	30	16,5
26	4	30	14,63	4	30	15,9
38	4	30	13,47	4	30	15,1
50	3,9	30	12,03	4	30	12,7
62	3,9	30	10,83	4	30	12,3
74	3,8	30	9,05	4	30	10,7
86	3,7	30	8,03	3,8	30	8,9
98	3,7	30	7,06	3,8	30	8,2
110	3,7	30	5,53	3,8	30	7,2
122	3,7	30	5,4	3,8	30	5,4
134	3,7	30	5,4	3,8	30	5,3
146	3,7	30	5,4	3,7	30	5,3

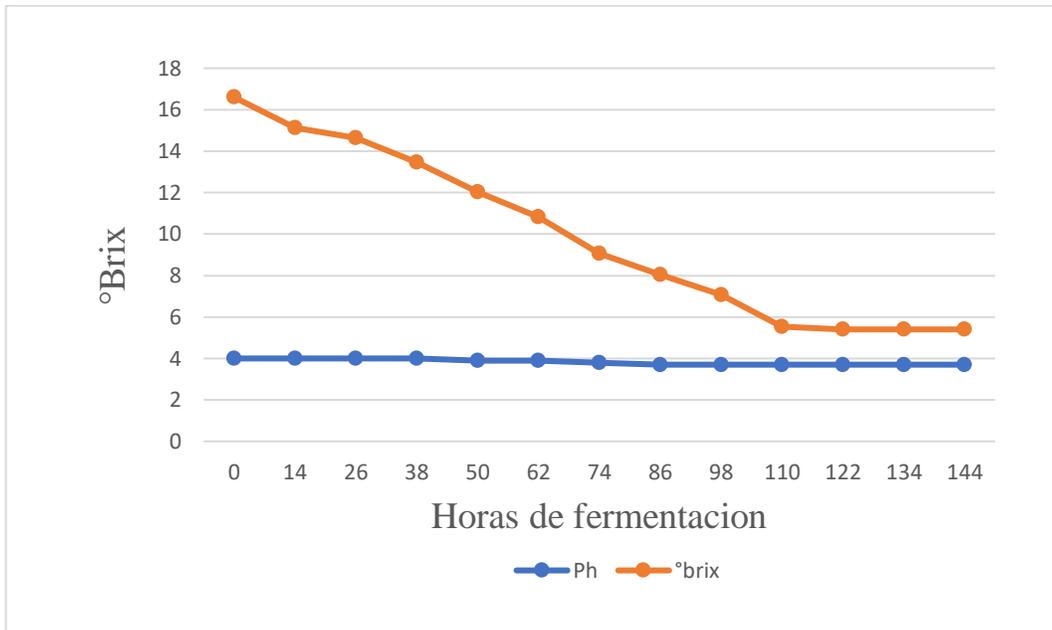
Fuente: Elaboración propia.

En la tercera fermentación alcohólica tuvo una duración de 6 días como se observa en la tabla el grado brix de 5,4 es constante en un tiempo de 122 horas es decir 5 días.

Cabe mencionar que los datos obtenidos en la primera fermentación alcohólica y en la réplica tienen unos valores cercanos.

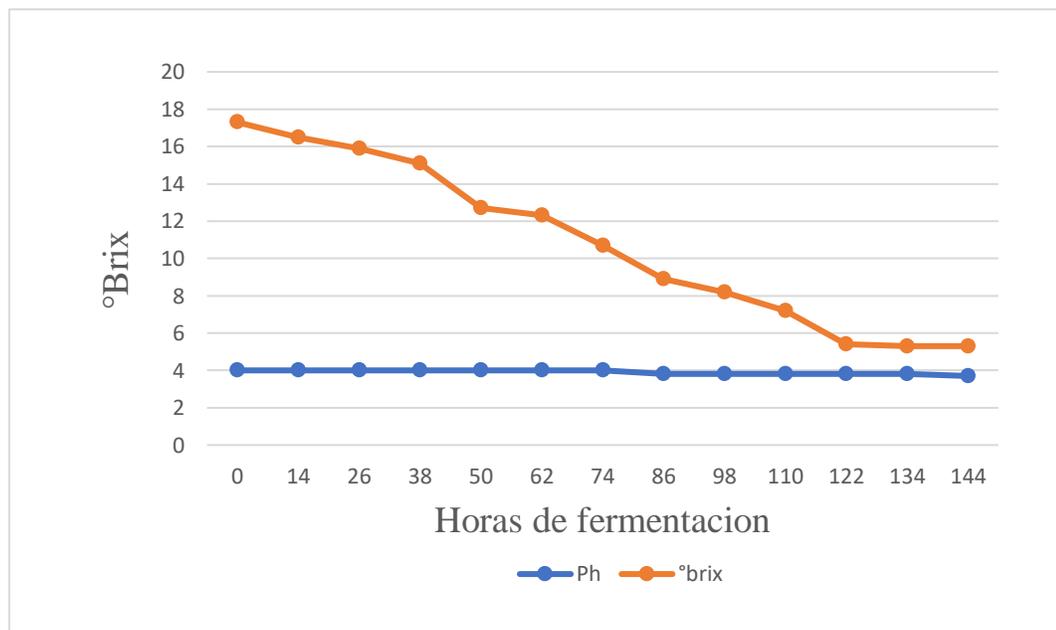
Para poder observar la reducción de los °brix y el pH se realizó la siguiente grafica °brix vs tiempo de fermentación y pH vs tiempo de fermentación.

Grafica IV-5 Tercera fermentación alcohólica



Fuente: Elaboración propia.

Grafica IV-6 Replica de la tercera fermentación



Fuente: Elaboracion propia.

4.3.4. DATOS OBTENIDOS DE LA CUARTA FERMENTACIÓN ALCOHÓLICA

En la segunda fermentación se trabajó con las siguientes variables pH de 4,5 y una temperatura de 30 °C.

**Tabla IV-5 Datos obtenidos de la cuarta fermentación más la replica
13/8/2019 al 20/8/2019**

pH = 4,5 Temperatura = 30 °C						
Hora	Cuarta Fermentación			Replica		
	pH	°C	°BRIX	pH	°C	°BRIX
0	4,5	30	15,9	4,5	30	16,4
14	4,4	30	14,86	4,5	30	16,1
26	4,3	30	14,03	4,5	30	15,8
38	4,3	30	13	4,3	30	15,5
50	4,3	30	10,8	4,3	30	13,2
62	4	30	9,23	4,2	30	11,3
74	3,8	30	8	4,2	30	9,6
86	3,8	30	7,17	4	30	8,2
98	3,8	30	6,33	4	30	7,4
110	3,8	30	5,3	4	30	5,7
122	3,8	30	5,3	3,7	30	5,5
134	3,8	30	5,3	3,6	30	5,5
146	3,8	30	5,3	3,6	30	5,5

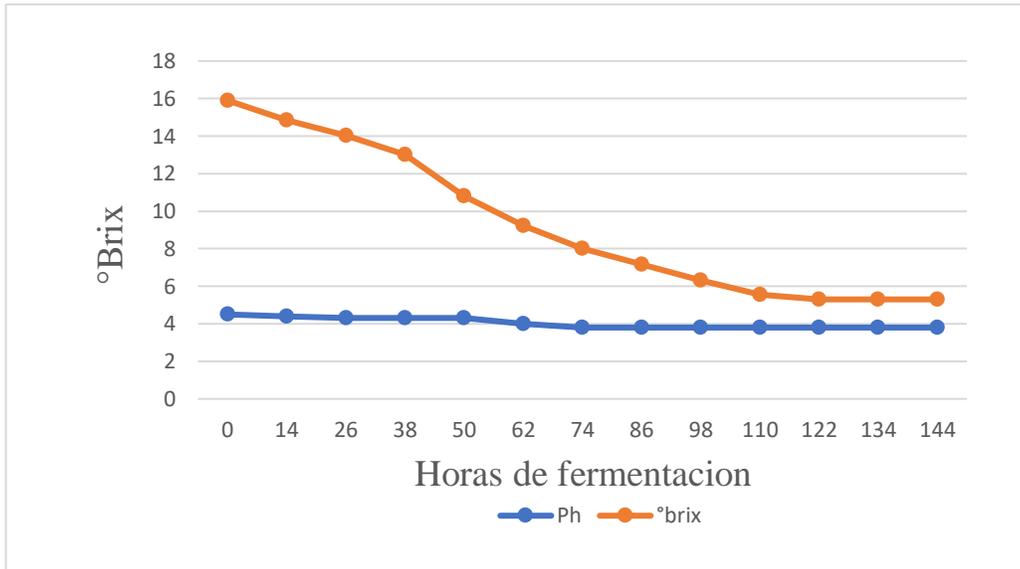
Fuente: Elaboración propia.

En la cuarta fermentación alcohólica tuvo una duración de 6 días como se observa en la tabla el grado brix de 5,3 es constante en un tiempo de 110 horas es decir 4 días y 5 horas

Cabe mencionar que los datos obtenidos en la primera fermentación alcohólica y en la réplica tienen unos valores cercanos.

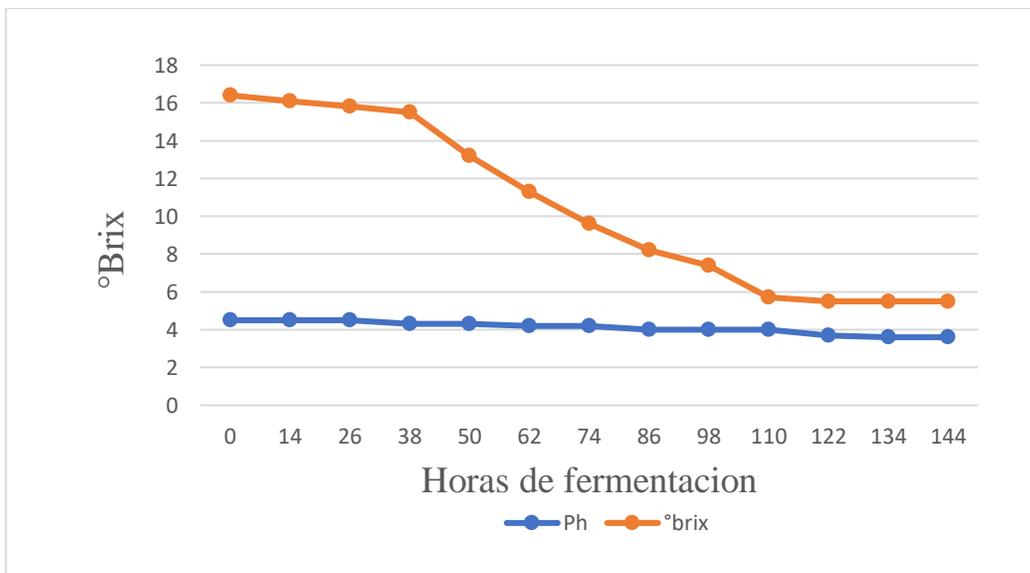
Para poder observar la reducción de los °Brix y el pH se realizó la siguiente grafica °brix vs tiempo de fermentación y pH vs tiempo de fermentación.

Grafica IV-7 Cuarta fermentación alcohólica



Fuente: Elaboración propia.

Grafica IV-8 Replica de la cuarta fermentación



Fuente: Elaboración propia.

4.4. CUANTIFICACIÓN DEL ALCOHOL PRESENTE EN EL MOSTO FILTRADO

Una vez concluida la fermentación alcohólica solo se tiene los datos del brix final y no así de la cantidad de alcohol presente en el mosto.

Para poder calcular la cantidad de alcohol presente en el mosto se procedió a destilar una muestra de 500 ml de mosto filtrado en un destilador simple hasta obtener una muestra de destilado de 250 ml.

La técnica consiste en separar todo el alcohol del mosto en un tiempo determinado por el volumen del destilado es decir hasta obtener 250 ml de destilado quedando en el producto de cola una cantidad insignificante de alcohol como se detalla en el ANEXO 2.

Una vez obtenido los resultados se puede calcular el grado alcohólico del mosto filtrado. Para obtener datos precisos y así poder calcular el rendimiento de la fermentación alcohólica se procedió a destilar 5 muestra de 500 ml. Como se muestra en la tabla VI-6.

Tabla IV-6 Cálculo de alcohol en el mosto filtrado

N	Muestra (ml)	Volumen del Destilado (ml)	Grado alcohólico de la muestra destilada (°GL)	cantidad de alcohol en 500 ml de mosto (ml)
1	500	250	13,8	34,5
2	500	250	12,6	31,5
3	500	250	13,4	33,5
4	500	250	11,3	28,25
5	500	250	13,3	33,25
Promedio			12,88	32,2

Fuente: Elaboración propia.

Una vez conocida la cantidad de alcohol presente en 500 ml del mosto filtrado se puede calcular la cantidad de alcohol que existe en 9,500 kg de mosto con una densidad 1,068 Kg / L

Volumen del mosto filtrado = $9,500 \text{ kg} / 1,068 \text{ kg/L} = 8,895 \text{ Litros}$

Factor muestra = $8,895 \text{ Litros} / 0,5 \text{ Litros} = 17,790$

Cantidad de alcohol presente en 8,895 Litro = $17,790 \times 32,2 \text{ ml} = 572,846 \text{ ml}$ de alcohol existente en el mosto filtrado.

Para poder conocer el grado alcohólico del mosto filtrado se debe emplear la siguiente relación

Volumen del mosto filtrado = 8,895 Litros

Volumen de alcohol existente en el mosto filtrado = 0,572 Litros

Grado alcohólico del mosto filtrado = $(0,572 \text{ L} \times 100\%) / 8,895 \text{ L}$

Grado alcohólico del mosto filtrado = 6,4402 % o 6,4402 GL por definición del grado alcohólico.

4.5. RESULTADOS DEL PROCESO DESTILACIÓN ALCOHÓLICA

Los resultados obtenidos en el proceso de destilación alcohólica utilizado una columna de rectificación de 8 platos.

en la columna de destilación se procedió a trabajar las variables reflujo y temperatura de cabeza como se muestra en la tabla VI-7.

Tabla IV-7 Resultados del proceso de destilado
11/11/2019 al 9/11/2020

Pruebas	Reflujo	Temperatura de cabeza (°C)	Grado alcohólico (°GL)	Grado alcohólico (°GL) Replica
1	9	80	88,5	87
2	6	80	87,5	86,5
3	3	80	77	74
4	9	78	87,5	86,3
5	6	78	89,5	88.5
6	3	78	88.5	85,4
7	9	76	83	80
8	6	76	89	88
9	3	76	57	65

Fuente: Elaboración propia.

Cabe mencionar que las mediciones realizada con el alcoholímetro a cada muestra fuero a una temperatura de 20 grados Celsius. Como indica en el procedimiento ver ANEXO 3.

Los resultados obtenidos en la primera destilación y en la réplica tienen unos valores cercanos dándonos como ganador la prueba número 5 con una concentración de alcohol de 89,5 °GL

4.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DEL DISEÑO FACTORIAL DE LA FERMENTACIÓN ALCOHOL

El análisis de varianza muestra las principales variables que influyen en la variable respuesta. También se dan las transformaciones acerca de las interacciones entre variables que influyen en la fermentación alcohólica, así como la significancia de las mismas. En la tabla VI-8 se muestran los datos introducidos al programa SPSS 17.0 (Staldistical

Package for the Social Sciences) de acuerdo al diseño factorial de la fermentación alcohólica para el cálculo del análisis de varianza.

Donde:

T= Temperatura del Mosto.

pH = pH del mosto

^oBrix = Grados Brix final del mosto

Tabla IV-8 Datos introducidos al programa SPSS 17.0

°N Ensayo	Factores		Variable Respuesta	Replica
	T (°C)	pH	^o Brix	^o Brix
1	-1	-1	5,40	5,50
2	-1	+1	5,90	6,30
3	+1	-1	5,40	5,30
4	+1	+1	5,30	5,50

Fuentes: SPSS 17.0

En la tabla VI-9 se muestra las variables del diseño factorial de la fermentación alcohólica y el número de experiencias para cada variable que está registrada mediante el programa SPSS y realizada en la parte experimental para un diseño de 2² con dos repeticiones siendo un total de 8 experimento con la variable respuesta.

Tabla IV-9 Factores inter-sujetos

		N
Temperatura del mosto	-1,00	4
	1,00	4
Ph del mosto	-1,00	4
	1,00	4

Fuente: SPSS 17.0

4.7. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE RESPUESTA GRADOS BRUX FINAL.

En la tabla VI-10 se puede observar el análisis de la varianza para la variable dependiente o variable respuesta grados brix final tomando en cuenta los factores de temperatura del mosto y pH del mosto y así como sus interacciones.

Tabla IV-10 Análisis de varianza ANOVA (Grados Brix de Fermentación)

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	,745 ^a	3	,248	9,030	,030
Intersección	248,645	1	248,645	9041,636	,000
Temperatura	,320	1	,320	11,636	,027
Ph	,245	1	,245	8,909	,041
Temperatura * Ph	,180	1	,180	6,545	,063
Error	,110	4	,027		
Total	249,500	8			
Total corregida	,855	7			

a. R cuadrado = ,871(R cuadrado corregida = ,775)

Fuente: SPSS 17.0

Aplicando este análisis se puede apreciar que las variables más significativas del proceso de fermentación alcohólica con una confianza del 95%, es decir, variables que poseen un nivel de significancia menor al 5%, son: temperatura del mosto (T °C) (0,027), pH del mosto (pH) (0,041) teniendo que descartar la interacción entre las variables temperatura del mosto (T °C) * pH del mosto (pH) que sobre sale los 5% de seguridad (0,063).

4.8. ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL, MÚLTIPLE

El modelo de regresión establece el modelo matemático que relaciona las variables más influyentes con las variables respuestas. Para el análisis de regresión, se introdujo al programa SPSS 17.0

Tabla IV-11 Variable Introducida/eliminada

Modelo	Variables introducidas	Variables eliminadas	Método
1	Ph del mosto, Temperatura del mosto ^a	.	Introducir

- a. Todas las variables solicitadas introducidas
- b. Variable dependiente: Grados brix

Fuente: SPSS17,0

Tabla IV-12 Resumen del Modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	,813 ^a	,661	,525	,24083

- a. Variables predictoras: (constante), pH del mosto, Temperatura del mosto
- b. Variable dependiente: Grados brix

Fuente: SPSS17,0

Tabla IV-13 ANOVA

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	,565	2	,283	4,871	,067 ^a
	Residual	,290	5	,058		
	Total	,855	7			

- a. Variables predictoras: (constante), pH del mosto, Temperatura del mosto
- b. Variable dependiente: Grados brix

Fuente: SPSS17,0

Tabla IV-14 Coeficiente

Modelo	Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.	Intervalo de confianza de 95,0% para B	
	B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1 (Constante)	5,575	,085		65,475	,000	5,356	5,794
Temperatura del mosto	-,200	,085	-,612	-2,349	,066	-,419	,019
Ph del mosto	,175	,085	,535	2,055	,095	-,044	,394

a. Variable dependiente: Grados brix

Fuente: SPSS17,0

Por lo tanto, a partir de los coeficientes proporcionados por la tabla IV-14 la ecuación matemática es la siguiente.

$$\text{Grados brix} = 5,575 - 0,200 (A) + 0,175 (B)$$

A = temperatura del mosto

B = pH del mosto

A partir de esta ecuación se pudo determinar que la variable más influyente en el proceso de fermentación alcohólica es la variable de temperatura del mosto. esto debido que a mayor temperatura abra un mayor descenso del grado brix del mosto.

4.9. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS DEL DISEÑO FACTORIAL DEL PROCESO DE DESTILACIÓN ALCOHOL

El análisis de varianza muestra las principales variables que influyen en la variable respuesta. También se dan las transformaciones acerca de las interacciones entre variables que influyen en el proceso de destilación alcohólica, así como la significancia de las mismas. En la tabla IV-15 se muestran los datos introducidos al programa SPSS 17.0 (Statistical Package for the Social Sciences) de acuerdo al diseño factorial del proceso de destilación alcohólica para el cálculo del análisis de varianza

Donde:

Reflujo = cantidad de alcohol condensado que regresa a la columna de destilación

Temperatura de cabeza = es la temperatura a la que sale el vapor de la columna de destilación

Grado alcohólico ($^{\circ}$ GL) = concentración de alcohol condensado que sale de la columna de destilación

Tabla IV-15 Datos introducidos al programa SPSS 17.0

$^{\circ}$ N Ensayo	Factores		Variable Respuesta	Replica
	Reflujo	T ($^{\circ}$ C)	$^{\circ}$ GL	$^{\circ}$ GL
1	+1	+1	88,5	87
2	0	+1	87,5	86,5
3	-1	+1	77	74
4	+1	0	87,5	86,3
5	0	0	89,5	88,5
6	-1	0	88,5	85,4
7	+1	-1	83	80
8	0	-1	89	88
9	-1	-1	57	65

Fuentes: SPSS 17.0

En la tabla IV-16 se muestra las variables del diseño factorial del proceso de destilación alcohólica y el número de experiencias para cada variable que está registrada mediante el programa SPSS 17,0 y realizada en la parte experimental para un diseño de 3^2 con dos repeticiones siendo un total de 18 experimento con la variable respuesta.

Tabla IV-16 Factor inter-sujetos

		N
Reflujo	-1,00	6
	,00	6
	1,00	6
Temperatura de Cabeza	-1,00	6
	,00	6
	1,00	6

Fuente: SPSS 17.0

4.10. ANÁLISIS DE VARIANZA PARA LA VARIABLE RESPUESTA GRADOS ALCOHÓLICO FINAL.

En la tabla IV-17 se puede observar el análisis de la varianza para la variable dependiente o variable respuesta grados alcohólico. tomando en cuenta los factores de temperatura de cabeza y reflujo y así como sus interacciones.

Tabla IV-17 Análisis de variación ANOVA (variable dependiente: Grado alcohólico)

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	1354,381 ^a	8	169,298	31,001	,000
Intersección	123041,069	1	123041,069	22530,409	,000
Reflujo	627,581	2	313,791	57,459	,000
Tcabeza	343,054	2	171,527	31,409	,000
Reflujo * Tcabeza	383,746	4	95,936	17,567	,000
Error	49,150	9	5,461		
Total	124444,600	18			
Total corregida	1403,531	17			

a. R cuadrado = ,965 (R cuadrado corregido = ,934)

Fuente: SPSS 17.0

Aplicando este análisis se puede apreciar que las variables más significativas del proceso de destilación alcohólica con una confianza del 95% son las variables reflujo y temperatura de cabeza, así como sus interacciones son significante debido a los valores obtenidos.

4.11. ANÁLISIS DE REGRESIÓN LINEAL, MÚLTIPLE

El modelo de regresión establece el modelo matemático que relaciona las variables más influyentes con las variables respuestas. Para el análisis de regresión, se introdujo al programa SPSS 17.0

Tabla IV-18 Variable Introducidas/Eliminadas

Modelo	Variables introducidas	Variables eliminadas	Método
1	RT, Temperatura de Cabeza, Reflujo ^a	.	Introducir

- a. Todas las variables solicitadas introducidas
- b. Variable dependiente: Grados Alcohólico

Fuente: SPSS17,0

Tabla IV-19 Resumen del modelo

Modelo	R	R cuadrado	R cuadrado corregida	Error típ. de la estimación
1	,605 ^a	,366	,230	7,971

- a. Variables predictoras: (constante), RT, Temperatura de cabeza, Reflujo
- b. Variable dependiente: Grados alcohólico

Fuente: SPSS17,0

Tabla IV-20 ANOVA

Modelo		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
1	Regresión	513,982	3	171,327	2,696	,086 ^a
	Residual	889,549	14	63,539		
	Total	1403,531	17			

- a. Variables predictoras: (constante), RT, Temperatura de cabeza, Reflujo
- b. Variable dependiente: Grados alcohólico

Fuente: SPSS17,0

Tabla IV-21 Coeficientes

Modelo		Coeficientes no estandarizados		Coeficientes tipificados	t	Sig.	Intervalo de confianza de 95,0% para B	
		B	Error típ.	Beta			Límite inferior	Límite superior
1	(Constante)	82,678	1,879		44,005	,000	78,648	86,707
	Reflujo	5,450	2,301	,504	2,368	,033	,515	10,385
	Temperatura de Cabeza	3,208	2,301	,297	1,394	,185	-1,727	8,144
	RT	-2,062	2,818	-,156	-,732	,476	-8,107	3,982

- a. Variable dependiente: Grados alcohólico

Fuente: SPSS17,0

Por lo tanto, a partir de los coeficientes proporcionados por la tabla IV-21 la ecuación matemática es la siguiente.

$$\text{Grados alcohólicos} = 82,678 + 5,450 A + 3,208 B - 2,062 C$$

A = Reflujo

B = Temperatura de cabeza

C = Reflujo * Temperatura

A partir de esta ecuación se puede determinar que la variable más influyente en el proceso de destilación alcohólica es la variable de reflujo. Esto debido que a mayor masa de alcohol condensado retorne a la columna mayor será el grado alcohólico.

CAPÍTULO V
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

- Al realizar los análisis de humedad, azúcares reductores y azúcares totales a la materia orgánica que es un sub producto del proceso de extracción de jugo se pudo determinar los siguientes resultados 86,3 % de humedad, 1,32 azúcares reductores y 4,23 azúcares totales. Dando a concluir que las pérdidas de azúcares o sólidos solubles en el proceso de extracción son elevadas ocasionando que bajan el rendimiento de la materia prima y que el proceso de extracción del jugo es deficiente.
- Como resultado de los ensayos programados por el diseño factorial del proceso de obtención de alcohol a partir de la remolacha roja producida en el departamento de Tarija. La combinación óptima para el proceso es: pH del mosto 4 (-) y temperatura de fermentación 30 °C (+) siendo la mejor combinación del proceso. Al obtener menor concentración de sólidos solubles al final de la fermentación expresado grados brix de 5,35 °brix con un tiempo de fermentación 122 horas.
- Como se observa en las tablas de fermentación alcohólica el pH del mosto fue cambiando con el transcurso de las horas esto debido al aumento de material orgánico y nutriente como nitrógeno azufre y fósforo y los compuestos orgánicos como ser ácidos orgánicos, aldehídos y compuestos fenólicos que actúa como ácidos bajando el pH del mosto.
- A partir de los datos obtenidos en laboratorio y un análisis estequiométrico en el proceso de fermentación alcohólica se pudo cuantificar la cantidad de azúcar

que se transforma en alcohol y dióxido de carbono dando como resultado una eficiencia del reactor de fermentación del 55 %

- Mediante el análisis estadístico con el programa SPSS 17,0 la variable más significate en el proceso de fermentación alcohólica es la variable temperatura del mosto seguida del pH del mosto.

- Como resultado de los ensayos programados por el diseño factorial del proceso de destilación alcohólica. La combinación óptima para el proceso es: reflujo de 6 segundo y temperatura de cabeza 78 °C siendo la mejor combinación del proceso. Al obtener una concentración mayor de alcohol de 89 expresados grados °GL

- Mediante el análisis estadístico con el programa SPSS 17,0 la variable más significate en el proceso de destilación alcohólica son las variables de reflujo y seguida de la temperatura de cabeza, así como sus interacciones entre variable reflujo con temperatura de cabeza.

- Debido a un proceso deficiente de extracción de jugo y un bajo rendimiento en el proceso de fermentación alcohólica del 55%. Esto debido a varios factores como la variación del pH en el mosto de fermentación ocasionando un ambiente ácido perjudicial para el desarrollo de la levadura *saccharomyces bayanus* PB2870 y la falta de un sistema de agitador en el reactor que favorece la eliminación de CO² y mantener el pH como una propiedad intensiva en el mosto. Si comparamos el rendimiento de la fermentación en la industria azucarera que se encuentra en un 80 y 90 % de conversión a azúcares a alcohol. Se concluye que es posible obtener alcohol a partir de la remolacha roja producida en el departamento de Tarija, pero con un bajo rendimiento.

5.2. RECOMENDACIONES

- Realizar el proceso de extracción del jugo de remolacha con un equipo industrial y no así con un extractor doméstico. y poder reducir las pérdidas de azúcares o sólidos solubles y de esa manera se aumentará el rendimiento de la materia prima.
- Extender el estudio concerniente a los sub productos del proceso de obtención de alcohol de la remolacha roja. Como ser elaboración de bio abono a partir de los sólidos recuperados en la clarificación, Recuperar de la materia orgánica como materia prima para la elaboración de papel o producir alimento para ganado a partir de un proceso de hidrolisis
- Para elevar el rendimiento de la materia prima se recomienda realizar un proceso previo de hidrolisis al almidón presente en la remolacha. para aumentar los azúcares reductores o sólidos solubles en el mosto
- Para mejorar el rendimiento del proceso de fermentación alcohólica se recomienda el uso de un reactor industriales para un mejor el control de las variables del proceso.