



UNIVERSIDAD DE CUENCA

Facultad de Ciencias Químicas

Carrera de Ingeniería Química

**“Obtención de etanol a partir de almidón de maíz (*Zea Mays*) variedad zhima
empleando malta diastásica.”**

Trabajo de titulación previo a la obtención
del título de Ingeniero Químico

Autor:

Daniel Alonso Lazo Zhagui

CI: 0107082943

Correo: daniel1994lazo@gmail.com

Directora:

Ing. Daniela Estefanía Zúñiga García.

CI: 0105275226

Cuenca-Ecuador

17-marzo-2022



RESUMEN

El presente trabajo tuvo como objetivo obtener etanol a partir de almidón de maíz (*Zea Mays*) variedad zhima empleando malta diastásica. Cuyo fin es dar otro uso alternativo al maíz que genere un valor agregado. La investigación fue de tipo documental, experimental y cuantitativa. Se realizó un diseño experimental 2^k para obtención de glucosa y etanol que cumpla con la normativa NTE INEN 375. La fase experimental se realizó en una planta piloto en la parroquia San Andrés de Checa. Se realizaron 8 experimentos, en cada uno de los cuales se modificaron las condiciones de temperatura, tiempo de sacarificación y concentración de malta, determinando que el mejor experimento fue el ocho cuyas condiciones indicaron que la temperatura, tiempo y concentración de malta idóneos son 70°C, 60 minutos y 30% p/p respectivamente, el mosto hidrolizado se sometió a fermentación con la adición de levadura seca activa (*Saccharomyces cerevisiae*), ácido cítrico como regulador de pH, y como nutrientes, ácido fosfórico y sulfato de amonio. Posteriormente, se ejecutó doble destilación simple en columna a una temperatura de 78°C. Mediante un análisis cromatográfico de líquidos se obtuvo una concentración de glucosa de 4898,94 mg/l; el análisis de etanol se realizó en Laboratorios MSV, los valores de la graduación alcohólica, acidez total, alcoholes superiores, aldehídos, furfural y metanol se encontraron dentro de los rangos permitidos. Por lo tanto, se demostró que es posible obtener etanol utilizando maíz variedad zhima y malta diastásica aplicando un proceso de hidrólisis enzimática, obteniendo como resultado etanol de grado agrícola, mismo que puede ser utilizado en la producción de bebidas alcohólicas de alta o baja graduación.

Palabras Claves: Zhima. Malta. Destilación. Glucosa. Etanol. Maíz. Diseño experimental. Fermentación.



ABSTRACT

The objective of this work was to obtain ethanol from corn starch (*Zea Mays*) zhima variety using diastatic malt. The purpose of this study was to provide another alternative use for corn that generates added value. The research was documentary, experimental and quantitative. A 2k experimental design was carried out to obtain glucose and ethanol that complies with NTE INEN 375 standards. The experimental phase was carried out in a pilot plant in the parish of San Andrés de Checa. Eight experiments were carried out, in each of which the conditions of temperature, saccharification time and malt concentration were modified, determining that the best experiment was experiment eight, whose conditions indicated that the ideal temperature, time and malt concentration are 70°C, 60 minutes and 30% w/w, respectively. The hydrolyzed wort was subjected to fermentation with the addition of active dry yeast (*Saccharomyces cerevisiae*), citric acid as pH regulator, and as nutrients, phosphoric acid and ammonium sulfate. Subsequently, a simple double column distillation was carried out at a temperature of 78°C. A liquid chromatographic analysis showed a glucose concentration of 4898.94 mg/l; the ethanol analysis was carried out at MSV Laboratories, and the values for alcohol content, total acidity, higher alcohols, aldehydes, furfural and methanol were found to be within the permitted ranges. Therefore, it was demonstrated that it is possible to obtain ethanol using corn variety zhima and diastatic malt by applying an enzymatic hydrolysis process, obtaining as a result agricultural grade ethanol, which can be used in the production of high or low alcoholic beverages.

Key words: Zhima. Malt. Distillation. Glucose. Ethanol. Corn. Experimental design. Fermentation.



ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
ÍNDICE DE CONTENIDOS	3
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABLAS	8
CLÁUSULA DE LICENCIA Y AUTORIZACIÓN PARA PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL.....	9
CLÁUSULA DE PROPIEDAD INTELECTUAL.....	10
DEDICATORIA	11
AGRADECIMIENTOS	12
INTRODUCCIÓN.....	13
OBJETIVOS	15
1 Capítulo I: Marco Teórico	16
1.1 Etanol	16
1.2 Alcohol etílico agrícola	16
1.3 Maíz.....	16
1.3.1 Origen.....	16
1.3.2 Caracterización morfológica del maíz.....	17
1.3.3 Taxonomía del Maíz.....	17
1.3.4 El maíz en Ecuador.....	19
1.3.5 Variedades de maíz en Ecuador	20
1.3.6 El maíz en la provincia del Azuay.....	20
1.3.7 Maíz variedad Zhima.....	21



1.3.8	Composición química del maíz zhima	21
1.4	El almidón	22
1.4.1	Almidón de Maíz.....	22
1.4.2	Composición química del almidón.....	23
1.4.2.1	Amilosa.....	23
1.4.2.2	Amilopectina.	24
1.5	Hidrólisis o Degradación Enzimática del almidón.....	24
1.5.1	Proceso de degradación enzimática del almidón de maíz	27
1.5.1.1	Gelatinización.....	27
1.5.1.2	Licuefacción.	27
1.5.1.3	Sacarificación.	27
1.6	Malta Diastásica	27
1.7	Azúcares reductores	28
1.8	Fermentación alcohólica.....	28
1.9	Destilación alcohólica	28
1.10	Diseño experimental factorial 2^k	29
1.11	Construcción de la matriz del modelo.....	30
2	Capítulo II: Metodología	31
2.1	Tipo de estudio	31
2.2	Características del lugar	31
2.2.1	Localización	31
2.2.2	Recolección y selección	31
2.2.2.1	Maíz zhima.	31
2.2.2.2	Malta diastásica.	31



2.3	Pretratamiento	31
2.3.1	Pesaje de materia prima.....	32
2.3.2	Molturación seca	32
2.3.3	Dosificación	32
2.4	Degradación del almidón empleando malta diastásica.....	32
2.5	Optimización de parámetros para la obtención de glucosa	33
2.6	Análisis de sólidos solubles.....	34
2.7	Determinación de glucosa	35
2.8	Determinación de azúcares reductores	35
2.8.1	Preparación de reactivos para el método Fenol-ácido sulfúrico.....	36
2.8.1.1	Patrón de Glucosa.....	36
2.8.1.2	Preparación de la solución de fenol al 5% (P/V).....	36
2.8.2	Preparación de los estándares para la curva de calibración.....	36
2.8.3	Preparación de la muestra hidrolizada.....	37
2.9	Fermentación alcohólica.....	37
2.10	Destilación.....	38
3	Capítulo III: Análisis de resultados y discusión	39
3.1	Pretratamiento	39
3.2	Optimización de parámetros para la obtención de glucosa	39
3.3	Análisis de sólidos solubles.....	41
3.4	Cuantificación de glucosa	44
3.4.1	Resultados del análisis de cromatografía líquida	44
3.5	Análisis de resultado para la determinación de azúcares reductores.....	46
3.6	Análisis de variables en el etanol obtenido	46



3.7 Diagrama de proceso 48

 3.7.1 Rendimiento 49

3.8 Análisis económico 50

4 Conclusiones..... 51

5 Recomendaciones 52

6 Bibliografía..... 53

7 Anexos 63



ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 17

Figura 2..... 19

Figura 3..... 21

Figura 4..... 22

Figura 5..... 24

Figura 6..... 25

Figura 7..... 26

Figura 8..... 26

Figura 9..... 38

Figura 10..... 41

Figura 11..... 42

Figura 12..... 43

Figura 13..... 45

Figura 14..... 49



ÍNDICE DE TABLAS

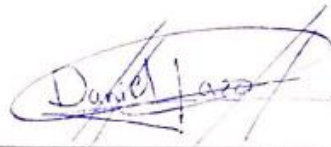
Tabla 1	18
Tabla 2	20
Tabla 3	22
Tabla 4	23
Tabla 5	29
Tabla 6	30
Tabla 7	32
Tabla 8	33
Tabla 9	34
Tabla 10	36
Tabla 11	39
Tabla 12	39
Tabla 13	40
Tabla 14	45
Tabla 15	47
Tabla 16	50

Cláusula de licencia y autorización para publicación en el Repositorio Institucional

Daniel Alonso Lazo Zhagui en calidad de autor/a y titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación "Obtención de etanol a partir de almidón de maíz (Zea Mays) variedad zhima empleando malta diastásica", de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN reconozco a favor de la Universidad de Cuenca una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Asimismo, autorizo a la Universidad de Cuenca para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el repositorio institucional, de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

Cuenca, 17 de marzo de 2022



Daniel Alonso Lazo Zhagui

0107082943



Cláusula de Propiedad Intelectual

Daniel Alonso Lazo Zhagui, autor/a del trabajo de titulación "Obtención de etanol a partir de almidón de maíz (Zea Mays) variedad zhima empleando malta diastásica", certifico que todas las ideas, opiniones y contenidos expuestos en la presente investigación son de exclusiva responsabilidad de su autor/a.

Cuenca, 17 de marzo de 2022

Daniel Alonso Lazo Zhagui

0107082943



DEDICATORIA

A mi mamá Olga Zhagui, mi ejemplo a seguir, por su apoyo incondicional en mi formación académica y en cada decisión que he tomado en mi vida, por su amor, enseñanzas, ética y moral que han hecho de mi persona alguien útil para la sociedad. A mis hermanos Carlos y Silvana, por ser mi fortaleza y lo más valioso que Dios me ha dado. A mi Abuelita, tías y demás familiares, quienes me han sabido educar y dar los mejores consejos. Finalmente, quiero expresar mi gratitud y amor a Jenny Valverde, por ser la persona que ha estado conmigo impulsando cada objetivo planteado, por ser la madre de mi hija, quien a su vez es mi fortaleza para continuar día a día.

Daniel Lazo



AGRADECIMIENTOS

Quiero dar mi sincero reconocimiento y gratitud:

A Dios, por darme la sabiduría, el conocimiento y las habilidades para culminar este proyecto.

A mi tutora, Ingeniera Daniela Estefanía Zúñiga García, gracias a su compromiso, dedicación y conocimiento impartido, se concluyó satisfactoriamente el presente trabajo de titulación.

A quienes forman parte del Laboratorio de Catálisis y Reactores de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca, por realizar los análisis cromatográficos, mismos que son la base para la elaboración de esta investigación.

A mis docentes, quienes a lo largo de mi carrera universitaria impartieron sus conocimientos y me formaron adecuadamente para la vida profesional.



INTRODUCCIÓN

En la actualidad el etanol es el compuesto mayormente utilizado en los diferentes sectores industriales y farmacéuticos, es un producto cuya versatilidad se basa en la concentración y/o mezclas con que se utilice (Cartay et al., 2019). Las políticas adoptadas con el Ministerio de Agricultura y Ganadería se han adecuado con la tendencia mundial y han establecido que los cultivos con un alto contenido de almidón como el maíz son una buena alternativa para la síntesis de etanol, debido a sus altos índices de cultivo y cosecha (Mosquera et al., 2014). La producción de etanol se realiza a partir de la fermentación de azúcares simples o almidones que sean hidrolizables (Campués & Tarupí, 2011; Carolina & Albuja, 2018). Cuando se utiliza materiales amiláceos con un contenido de almidón mayor o igual al 75% (maíz, trigo, cebada, sorgo, entre otros) el método más común para obtener etanol es la hidrólisis ácida, la misma que utiliza ácido clorhídrico, el acético y el sulfúrico para convertir almidones en azúcares fermentables (Cruz, 2016), sin embargo, actualmente en la mayoría de industrias productoras de etanol utilizan el método enzimático, éste utiliza enzimas que degradan el almidón en glucosa, este método disminuye el costo de producción e impacto ambiental, generando igual o mayor rendimiento que al usar métodos alternativos o convencionales (Drapala & Hernández, 2018; Joel & Cruz, 2017; Raúl et al., 2017). Las enzimas utilizadas en la hidrólisis enzimática pueden ser comerciales o provenientes de otros granos que hayan sufrido un malteo previo (malta diastásica).

El maíz (*Zea Mays*) es una planta originaria de América compuesta por tallos erectos y macizos en donde se almacenan los nutrientes necesarios para el crecimiento de la misma (Satán, 2018), es el cultivo que tiene mayor área sembrada, producido y consumido a nivel mundial por el ser humano y animales (Delgado Hernández, 2018). La gran versatilidad que tiene para adaptarse a condiciones climáticas diferentes lo ubica como el tercer cereal más importante luego del arroz y trigo (Obando Arequipa, 2019). El maíz en Ecuador es considerado uno de los principales productos a pesar de ser tan solo el 8% de la producción agrícola, constituye la base de las principales cadenas productivas para la seguridad alimentaria nacional (Gómez et al., 2019), dado que es el único cereal que puede ser usado como alimento en distintas etapas del desarrollo de la planta (Chipre Plasencio, 2021; Valverde Vanegas, 2015). El sector agrícola ecuatoriano según la Encuesta de Superficie y Producción Agropecuaria Continua (ESPAC) realizado por el Instituto Nacional de Estadísticas y Censo (INEC) indica que el año 2013 hubo 7,3 millones de hectáreas cuyos fines eran agropecuarios, de los mismos el 20,06% eran de



cultivos permanentes y el 13.73 % cultivos transitorios (Naranjo Flores & Navarrete Anchundia, 2015). Por otro lado, en el año 2014 las actividades agropecuarias aportaron con el 7,33% de la riqueza del país (Caviedes Cepeda, 2019).

El maíz (*Zea Mays*) variedad zhima tiene la ventaja de adaptarse a climas fríos y desarrollarse tierra de poca humedad. Esta variedad es cultivada en la parroquia Checa ubicada en el cantón Cuenca, en la provincia del Azuay, se obtiene su producción en 180 días como choclo y en 270 días como grano seco. En Checa 349,52 ha son de agricultura en transición de fincas integrales, mientras que 71,38 ha son de agricultura en transición-sistemas agroforestales y cultivos. Los cultivos son un 80% maíz, mientras que el 20% restante son cultivos de hortalizas y otras legumbres (Gobierno Autónomo Descentralizado Parroquial de Checa 2014-2019., 2015).

Cabe mencionar que la mayor parte de la producción de maíz es utilizada para consumo humano y cultivo, por ello la importancia de buscar un uso alternativo que genere un valor agregado.

Es así que la presente investigación tuvo como objetivo, obtener etanol a partir de almidón de maíz (*Zea Mays*) variedad zhima empleando malta diastásica.

Para esto se planteó un diseño experimental 2k para evaluar temperatura, tiempo de sacarificación y concentración de malta, estos parámetros son los que mayor influencia tienen en el proceso de hidrólisis enzimática del almidón, por ende, su optimización se refleja en la cantidad de etanol producido.



OBJETIVOS

Objetivo General.

Obtener etanol a partir de almidón de maíz *Zea Mays* variedad zhima empleando malta diastásica.

Objetivos Específicos.

Realizar un diseño experimental factorial 2^k para optimizar los parámetros de temperatura, tiempo de sacarificación y concentración de malta durante el proceso de obtención de glucosa.

Obtener etanol empleando levadura *Saccharomyces Cerevisiae* a partir del experimento con mayor concentración de glucosa de acuerdo a la NTE INEN 375.

Analizar el costo de producción de etanol.



1 Capítulo I: Marco Teórico

1.1 Etanol

Es un líquido claro, incoloro, inflamable, de olor característico, muy hidrosoluble, su punto de ebullición es de 78 °C. Se obtiene por fermentación anaerobia de hidratos de carbono (Vásquez Rojas, 2013). El alcohol etílico es el constituyente principal de las bebidas alcohólicas, se clasifican en bebidas fermentadas con un contenido alcohólico entre 4 y 20% v/v como el vino, la sidra y la cerveza, y bebidas destiladas con un contenido alcohólico más elevado (43% v/v o más) como el ron, coñac, etc. (Velasco, 2014).

1.2 Alcohol etílico agrícola

Es aquel producto obtenido por destilación de mostos provenientes únicamente de la fermentación alcohólica de materias primas de origen agrícola de naturaleza azucarada o amilácea como trigo, cebada, arroz y maíz, así como también de la rectificación de aguardientes o de destilados alcohólicos simples (INEN 375, 2018).

1.3 Maíz

1.3.1 Origen

Desde la antigüedad el maíz (*Zea Mays*) ha sido utilizado por el hombre como base para su alimentación durante el incanato, siendo indispensable en todas las instancias celebrativas (Killian Galván et al., 2021). El maíz (*Zea Mays*) es originario del continente americano, la evidencia arqueológica de este cereal indica que tiene aproximadamente 5000 años de antigüedad. Estudios a fósiles encontrados, indican que el maíz tuvo su origen geográfico en la República Mexicana, específicamente en el valle de Tehuacán, Puebla y al norte del estado de Oaxaca (Valverde Vanegas, 2015). También indican que en México ocurrió su domesticación y posterior dispersión a otras regiones del continente. A finales del siglo XV, tras el descubrimiento del continente americano por Cristóbal Colón, el grano fue introducido en Europa a través de España (Tovar Benítez, 2008).

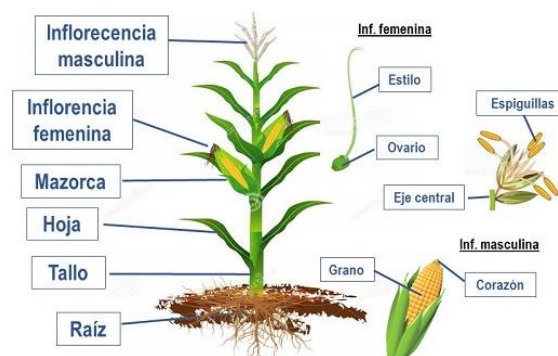
(Pérez-Hernández et al., 2021) indica que el maíz es de gran importancia económica mundial, es cultivado bajo diversos sistemas de manejo agrícola, lo que influye en la dinámica ecológica del cultivo y fisiología de la planta. En la actualidad cerca del 40 % del maíz producido en los países tropicales se usa para la alimentación animal, concretamente para ganado y establecimientos avícolas (Sánchez Ortega & Pérez-Urria Carril Máster, 2014).

1.3.2 Caracterización morfológica del maíz

(López, 2015) en su estudio indica que el maíz es una planta anual, herbácea, monoica, de 2 m a 2,5 m de altura y con un sistema radicular fibroso normalmente de un solo tallo que tiene hasta 30 hojas. Tiene múltiples usos y su variedad es muy grande, es considerado el único cereal capaz de ser cosechado en distintas etapas del desarrollo de la planta, las espigas jóvenes (choclo), cosechadas antes de la floración de la planta son utilizadas y consumidas como hortaliza (Guacho Abarca, 2014). Cuando la planta ha finalizado la etapa de crecimiento comienza a secarse y el producto que otorga es conocido como mazorca, muy utilizado como alimento y en algunos casos para preparar algunas bebidas espirituosas (Rodríguez Muñoz, 2013).

Figura 1

Planta de maíz



Nota. La Figura 1 representa la planta de maíz con sus principales componentes. Tomado de (Egüez & Pintado, 2011).

1.3.3 Taxonomía del Maíz

El grano de maíz es un fruto (cariósido) compuesto por cinco partes principales: pedicelo, pericarpio (cáscara o salvado), endospermo, germen o embrión y finalmente almidón (Guzmán Buñay, 2017), a continuación, se presenta en la Tabla 1 la descripción taxonómica del maíz.



Tabla 1

Descripción taxonómica del maíz

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Liliopsida
Subclase	Commelinidae
Orden	Poales
Familia	Poaceae (Gramíneae)
Subfamilia	Panicoideae
Tribu	Andropogoneae
Género	Zea
Especie	Z. mays
Nombre científico	Zea mays L.

Nota. En la Tabla 1 se muestra de manera descriptiva la taxonomía del maíz, indicando las características más representativas de este cereal. Tomado de (Macuri Núñez, 2016).

Pedicelo: es la estructura celular mediante la cual el grano se encuentra unido al raquis, compuesto de haces vasculares, consta de una capa exterior cuya función es sellar la punta del grano maduro (Tovar Benítez, 2008).

Pericarpio: capa exterior dura y fibrosa que procede de la planta madre productora de la semilla y protege a la misma (Delgado Hernández, 2018). El grosor del pericarpio es menor en la parte central y mayor en la base del mismo, tiene la función de impedir el ingreso de hongos y bacterias (Tovar Benítez, 2008).

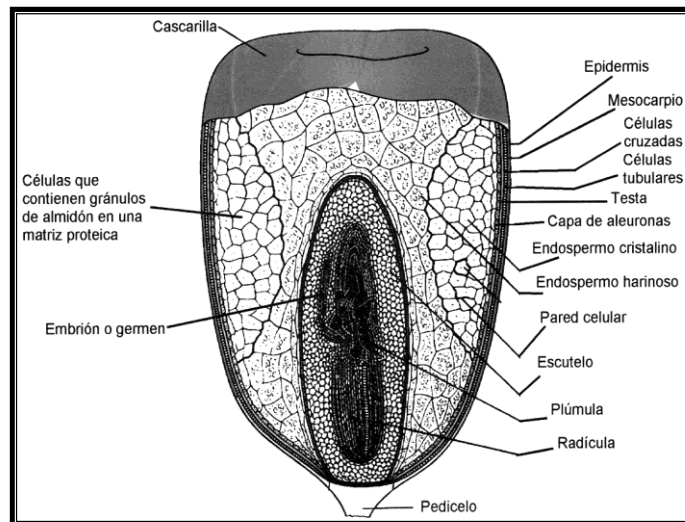
Endospermo: conformado por almidón y gluten, constituye la reserva de la que se alimenta la nueva planta hasta que pueda empezar a sintetizar por sí sola (Delgado Hernández, 2018). Está compuesto por dos: el endospermo harinoso, de consistencia suave y apariencia opaca; representa el 34% del peso del endospermo y el endospermo córneo, de consistencia dura y de apariencia traslúcida; representa el 66 % del peso del endospermo, está formado por células alargadas y de forma irregular (Grande & Orozco, 2013).

Germen: es el embrión del maíz que se encuentra en la parte inferior media del grano y representa el 7 % del grano (Izquierdo Bonilla, 2012). El germen contiene altos niveles de aceite (aproximadamente el 30 %) (Grande & Orozco, 2013).

Almidón: Es una de las sustancias químicas de mayor valor comercial. Se ubica en el área lateral y superior de grano y conforma aproximadamente del 70 % al 75 % del grano (Grande & Orozco, 2013).

Figura 2

Estructura del grano de maíz



Nota. La Figura 2 representa la estructura del grano de maíz, indicando sus componentes principales. Tomado de (Grande & Orozco, 2013).

1.3.4 El maíz en Ecuador

En Ecuador el cultivo y consumo del maíz viene desde nuestros ancestros los cuales sembraban este cereal desde la época de la cultura Chorrera (1.000 A.C. – 300 A.C.) donde ya se cultivaban algunas variedades de maíz, pero es en la época de Integración (500 D.C. – 1.500 D.C.) donde su cultivo aumentó (Balarezo, 2014). El maíz es un producto que se adapta a diferentes condiciones climáticas, por ello existen variedades que han sido modificadas (Rodríguez Muñoz, 2013). La producción de maíz a nivel nacional ha ido en aumento en los últimos años, por ello se ha intensificado la búsqueda de nuevos métodos de producción para obtener granos mucho más grandes que representen mayor rentabilidad al momento de su comercialización o utilización (Sanchez Ortega & Pérez-Urria Carril Máster, 2014).

Dentro del mayor componente del Producto Interno Bruto (PIB) del Ecuador está la agricultura (17,5%). En el año 2014 el maíz aportó con el 7.33% de la riqueza del país (Caviades Cepeda, 2019). Según el Ministerio de Agricultura, es un cultivo que tiene aproximadamente 500.000 ha. donde la mitad se trata de maíz amarillo duro cristalino y se siembra en el litoral, mientras que a la sierra ecuatoriana le corresponde la otra mitad sembrando maíz de altura presentando un bajo ingreso económico pero siendo la base de la alimentación rural andina (Balarezo, 2014). La producción y rendimiento del maíz en el Ecuador en el año 2015 obtuvo

un alza de 6.33 t/ha, siendo la provincia del Guayas la principal productora con 6.87 t/ha (Miranda Monar, 2016)

1.3.5 Variedades de maíz en Ecuador

(Guillín Llanos et al., 2020) especifica que en Ecuador el maíz es un cultivo de los que más área de siembra y cosecha posee, según el último censo agropecuario la cosecha de maíz abarca 236.349 hectáreas con una buena producción de 252.062 toneladas métricas (Gómez et al., 2019). El Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP, 2012) indica que actualmente se han encontrado 29 razas de maíz en todo el Ecuador, seis de las cuales no están bien definidas. A continuación, las principales variedades de maíz: Cuzco ecuatoriano, Canguil ecuatoriano, Racimo de uva, Chillos, Huandango, Morochón, Patillo, Chulpi, Kcello, Chazo. Entre las variedades mejoradas tenemos: INIAP-101 Blanco Harinoso Precoz, INIAP-102 Blanco Blandito Mejorado, INIAP-103 MISHQUI SARA, INIAP-111 Guagal Mejorado, INIAP-122 Chaucho Mejorado, INIAP-124 Mishca Mejorado, INIAP-153 Zhima Mejorado derivada del maíz cuzco ecuatoriano, INIAP-182 ALMENDRAL, INIAP-176 maíz amarillo duro para grano y forraje, INIAP-180 maíz amarillo duro de alto rendimiento, INIAP-192 Chulpi Mejorado (Obando Arequipa, 2019).

1.3.6 El maíz en la provincia del Azuay

La provincia del Azuay, localizada al Sur del Ecuador, cuya extensión es de 8639 km² aproximadamente, presenta múltiples manifestaciones climáticas, dada su ubicación subtropical presente dos estaciones húmeda y seca (Vintimilla Rivera, 2014). Según (INEC, 2011) Azuay representa el 4,92% de la superficie de labor agrícola a nivel nacional, siendo el maíz suave seco el cultivo de mayor producción.

Tabla 2

Cultivos transitorios de mayor producción en el Azuay

Producto	Superficie plantada (Ha)	Superficie cosechada (Ha)	Producción (TM.)
Maíz suave seco	20.710	16.683	7.567
Papa	2.323	2.062	4.354
Otros	42.878	36.124	7.591

Nota. En la Tabla 2 se muestran las cantidades de superficie plantada, cosechada y la producción de productos cuyo cultivo es transitorio, es decir, por época anual. Tomado de (INEC, 2011).

1.3.7 *Maíz variedad Zhima*

El maíz variedad zhima mejorado proviene originalmente del maíz cuzco ecuatoriano, el híbrido fue creado por ingenieros del INIAP en la Estación Experimental, es de tipo harinoso, grande y blanco, sus mazorcas son cilíndricas y generalmente con hileras de granos, el raquis es delgado y su cultivo ocupa grandes extensiones de tierra (Farinango, 2015).

(Castillo Veloz, 2020) indica que se utiliza comúnmente en la gastronomía y su versatilidad es amplia. La producción de éste híbrido ha aportado mucho a las provincias de Azuay y Cañar en productividad, rendimiento y adaptación, aprovechando los fertilizantes orgánicos que se pueden encontrar en estas zonas y evitando el desgaste excesivo de la tierra (Obando Arequipa, 2019).

Figura 3

Zhima Mejorado



Nota. La Figura 3 indica el maíz de variedad zhima, un híbrido mejorado por INIAP. Tomado de (Yáñez G et al., 2010).

1.3.8 *Composición química del maíz zhima*

(España Pintado, 2019) indica que la variedad zhima al ser un grano harinoso contiene mayor cantidad de almidón que otros granos. La composición química del grano de maíz, depende de varios factores como las condiciones de cultivo, temperatura, variedad y tipo de maíz, contenido de nutrientes, entre otros (Balarezo, 2014). A continuación, en la Tabla 3 se presenta la composición de los principales componentes del maíz zhima.

Tabla 3

Composición química del maíz variedad zhima

Componente	Pericarpio	Endospermo	Germen
Proteína	3.7	8	18.4
Extracto Etéreo	1.0	0.8	33.2
Almidón	7.3	87.6	8.3
Cenizas	0.8	0.3	10.5
Fibra cruda	86.7	2.7	8.8
Azúcar	0.34	0.62	10.8

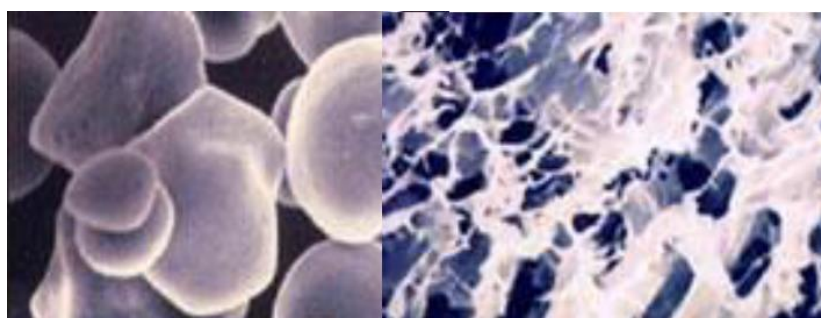
Nota. En la Tabla 3 se indica la composición química de las partes más representativas que componen el maíz zhima, los valores están expresados como porcentaje en base seca. Tomado de (Balarezo, 2014).

1.4 El almidón

“El almidón es un hidrato de carbono complejo $(C_6H_{10}O_5)_n$ inodoro e insípido, en forma de grano o polvo. Es el principal carbohidrato de reserva de las plantas” (Pomasqui Benavides, 2013). (Pineda-Gómez et al., 2010) explica que el almidón es un polímero cuya estructura molecular se basa en la unión de moléculas de glucosa unidas entre ellas mediante enlaces α -D-(1-4) y/o α -D-(1-6) formando macromoléculas (amilosa y amilopectina).

Figura 4

Microscopia del gránulo de almidón



Nota. En la Figura 4 se aprecia de manera microscópica el gránulo de almidón. Izq.: Gránulo de almidón, Der.: Almidón gelatinizado Tomado de (Vásquez & Vásquez, 2009).

1.4.1 Almidón de Maíz

Es el componente principal del maíz ocupando hasta un 85% del peso del grano, el almidón funciona como reserva de energía cuyo contenido va en aumento proporcional a la etapa de crecimiento del grano, se presenta como partículas complejas que, en presencia de agua, forman suspensiones de poca viscosidad (García Quiñonez, 2015). El almidón está

formado por dos polímeros de glucosa, la amilosa (25%) y la amilopectina (75%) (Barrera Molina, 2016). La amilosa es una molécula esencialmente lineal cuya distribución dentro de los anillos concéntricos difiere entre el centro y la periferia del gránulo, por otro lado, la amilopectina también está formada por unidades de glucosa, pero en forma ramificada. (Agama-Acevedo et al., 2013).

El almidón puede ser transformado también en otros compuestos más sencillos, principalmente azúcares (González Vélez, 2011). Se observa en la Tabla 4 las propiedades fisicoquímicas del almidón.

Tabla 4

Propiedades fisicoquímicas del almidón

PROPIEDAD	Amilosa	Amilopectina
Estructura molecular	Lineal	Ramificada
Promedio de cadena	10 ³ Da	20-25 Da
Grado de polimerización	10 ³ Da	10 ⁴ -10 ⁵ Da
Complejo con yodo	Azul (650 nm)	Púrpura (550 nm)
Afinidad de yodo	19-20%	1%
Valor azul	1.4	0.05
Estabilidad en solución acuosa	Poco estable	Estable
Hidrólisis con β -amilasa	70%	55-60%
Hidrólisis con B-amilasa y dextrinaza	100%	100%
Propiedades de película	Fuerte	Quebradiza

Nota. En la Tabla 4 se visualizan las propiedades fisicoquímicas de los componentes principales del almidón (amilosa y amilopectina). Tomado de (Tovar Benítez, 2008).

1.4.2 Composición química del almidón

1.4.2.1 Amilosa.

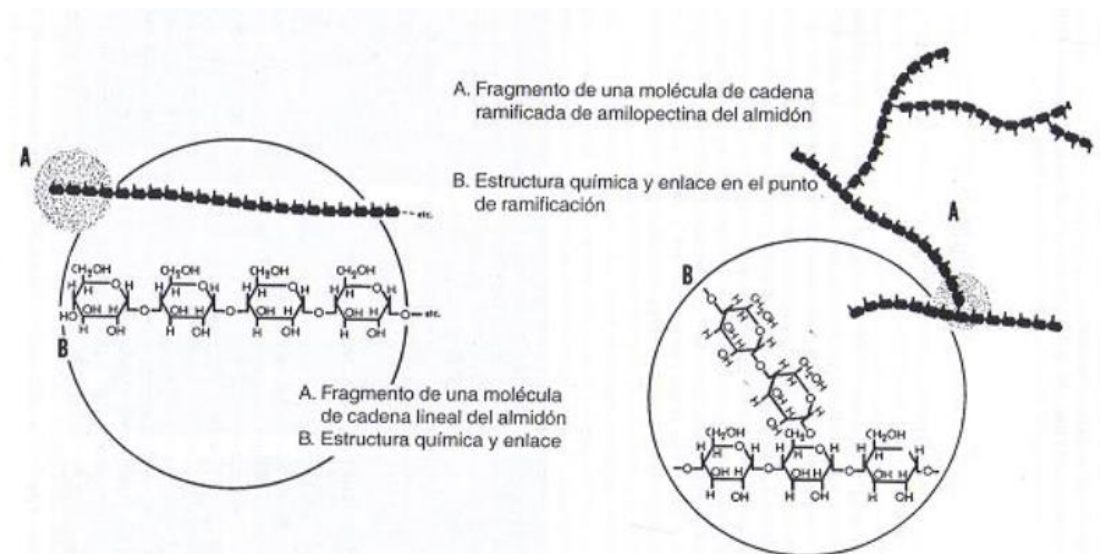
Es un polímero lineal que contiene hasta 6000 unidades de glucosa con enlace α - 1,4; tiene ramificaciones que contienen de 3 a 20 cadenas de glucosa (Mendoza M et al., 2017). Constituye el 15 a 25% del almidón y tiene un grado de polimerización (GP) de 800 a 4920 (Landires Gaspar & Márquez Borbor, 2013). La amilosa es una α - D-(1,4)-glucosa, su unidad repetitiva es la maltosa, la dificultad de la amilosa es su adherencia como molécula de grasa, lo cual dificulta la gelatinización, altera la viscosidad y textura (Castellanos, 2010).

1.4.2.2 Amilopectina.

Es un polímero ramificado de unidades de glucosa constituida de 94 a 96% por enlaces α (1-4), y de 4 a 6% por uniones α (1-6) (Martínez et al., 2015). Su peso molecular puede variar alrededor de 10.000.000 hasta 50.0000.000. Sus propiedades difieren de la amilosa por el tamaño de la molécula y su estructura (Castellanos, 2010).

Figura 5

Cadenas de amilosa y amilopectina



Nota. En la Figura 5 se observa la estructura lineal (amilosa) y ramificada (amilopectina) del almidón, diferenciándose cada una de ellas por la forma de sus cadenas. Tomado de (Vásquez & Vásquez, 2009).

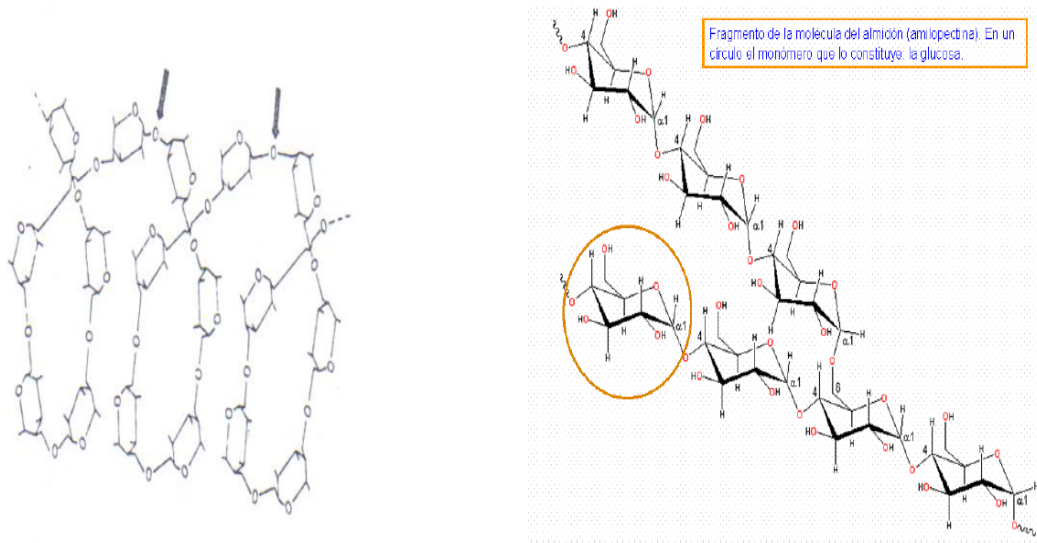
1.5 Hidrólisis o Degradación Enzimática del almidón

Las reacciones hidrolíticas se basan en el rompimiento de tres tipos principales de macromoléculas: polipéptidos, los polisacáridos y los ácidos nucleicos (Sosa & Maquera Calle, 2013). La degradación del almidón por métodos enzimáticos consiste en la utilización de enzimas que funcionan como catalizadores, su función es romper moléculas de almidón, con lo cual se llega a obtener productos semejantes a los dados por hidrólisis ácida (Cruz, 2016). Las enzimas que mayormente intervienen en el proceso se conocen como amilasas, siendo las más conocidas la α -amilasa, β -amilasa y glucoamilasa (Barrero García & Quiroga Valderrama, 2016).

La α -amilasa desdobra el almidón transformándolo en elementos más sencillos como glucosa y maltosa; tiene la posibilidad de fragmentar los almidones en dextrinas reductoras, lo cual se puede visualizar con una simple prueba de yodo que debe dar negativa.

Figura 6

Ataque de α -amilasa hacia las cadenas de amilosa y amilopectina

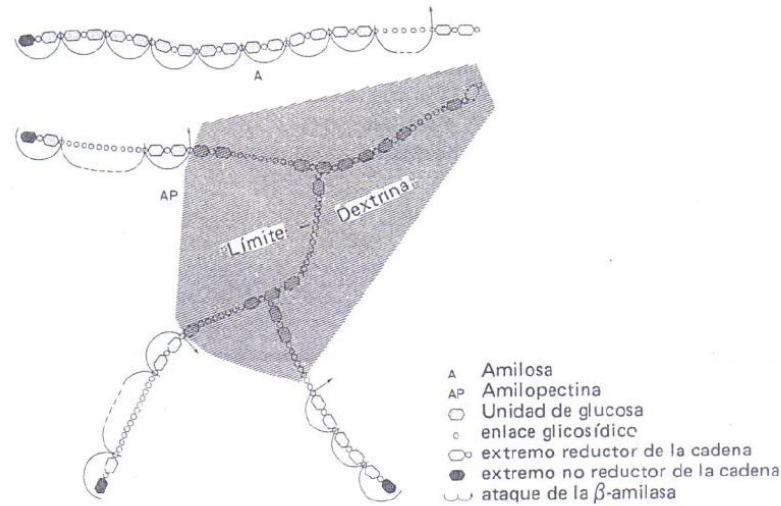


Nota. La Figura 6 representa el ataque primario de la α -amilasa sobre las cadenas helicoidales α -1,4-glucano de la amilosa y la amilopectina. (α -amilasa) en la cual se originan fragmentos de 5-7 unidades de glucosa o múltiplos. Tomado de (Solís Gavilanes, 2011)

Por otro lado, la β -amilasa realiza el trabajo de conversión total del almidón en glucosa (Morales & Molina Córdoba, 2015; Raúl et al., 2017; Serrano Febles, 2020). Hoy en día la mayor parte de la degradación de almidón se realiza usando enzimas, por el control de la formación de productos no deseables y mayor flexibilidad del mismo (Carrera Cataño & Mera, 2005; Solís Gavilanes, 2011). La hidrólisis o degradación enzimática del almidón permite obtener innumerables productos como jarabes y dextrinas (Vidal Tovar & Páez, 2011).

Figura 7

Ataque de β -amilasa sobre la amilosa y amilopectina

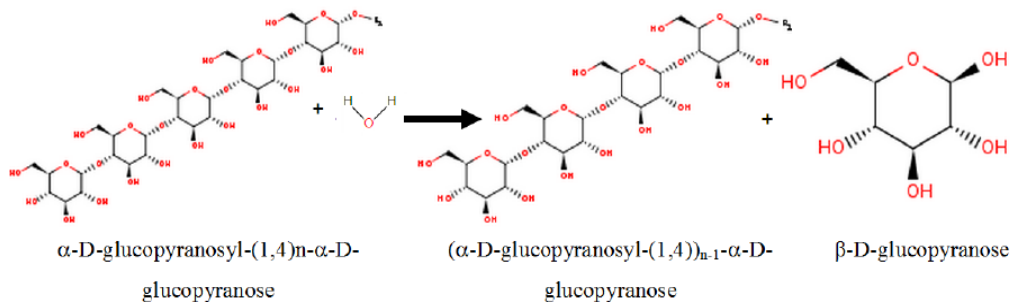


Nota. En la Figura 7 se observa la acción que ejerce la β -amilasa sobre los principales componentes del almidón (amilosa y amilopectina). Tomado de (Solís Gavilanes, 2011).

En cambio, las glucoamilasas también conocidas como 4- α -D-glucoan-glucohidrolasas (Molina Tufiño & Sanmartín Ambuludí, 2016). (Espitia Rocha, 2009; Estrada Toscano, 2017) indican que esta enzima hidroliza los enlaces glicósidos α 1,4 de los polisacáridos separando unidades de glucosa a partir del extremo no reductor de la cadena, con ello la maltosa, amilosa y amilopectina son totalmente hidrolizados a glucosa (Latorre Garcia, 2008).

Figura 8

Hidrólisis del almidón



Nota. En la Figura 8 se muestra la hidrólisis de los enlaces α -1,4 de α -glucanos de los extremos no reductores de amilosa y amilopectina. Tomado de (Molina Tufiño & Sanmartín Ambuludí, 2016).



1.5.1 Proceso de degradación enzimática del almidón de maíz

1.5.1.1 Gelatinización.

Los gránulos de almidón son insolubles en agua fría, pero se hinchan cuando se calientan en un medio acuoso (Lisi, 2012), produciendo la destrucción de la estructura cristalina, aumento de tamaño de los gránulos de almidón, y solubilización molecular (González Vélez, 2011), el proceso depende de la estructura granular del almidón, el tamaño y tipo de cristal, la relación amilosa/amilopectina y el peso molecular promedio de dicha relación, (Raúl et al., 2017). El resultado es la formación de una solución viscosa cuyo grado dependerá de la cantidad de agua incorporada (Drapala & Hernández, 2018).

1.5.1.2 Licuefacción.

Luego de la gelatinización, el almidón se hidroliza de manera parcial para dar lugar a las dextrinas debido por actuación de la α -amilasa (Ramírez, 2014), la hidrólisis tiene como fin disminuir el grado de polimerización y obtener equivalentes de dextrosa entre 10 y 12 unidades (Rodríguez Rodríguez et al., 2015). Los parámetros más influyentes de trabajo de las enzimas son el pH entre 5,5-7 y la temperatura (78°C) (Nieblas-Morfa et al., 2017).

1.5.1.3 Sacarificación.

(Nieblas-Morfa et al., 2017) indica que en esta etapa actúan enzimas exo-amilasas que rompen enlaces α -1,4 glucosídicos o enlaces α -1,4 y α -1,6 glucosídicos semejante a la glucoamilasa y α -glucosidasa. La sacarificación busca convertir la solución de la etapa anterior a D-glucosa en rendimientos tan altos como sea posible, para ello la enzima glucoamilasa trabaja rompiendo enlaces 1,4- α -D-glucosa los cuales son encontrados de forma residual en las cadenas después que estás fuesen digeridas por alfa y beta amilasas (Hernández-Castillo et al., 2019). Finalmente se obtiene glucosa, cuyo porcentaje aumenta luego del proceso de licuefacción. El pH óptimo de acción enzimática está entre 4-4,5 y la temperatura de 60-70°C (Rega López, 2016).

1.6 Malta Diastásica

Es una materia prima ampliamente utilizada en la industria de las bebidas alcohólicas. La malta no es más que un grano al que se le ha sometido a un proceso de germinación controlada para la activación de enzimas presentes en la misma, que más adelante degradarán el almidón de cereales no malteados. Las maltas utilizadas en mezcla con otras materias primas no malteadas (maíz, arroz, arrocillo, trigo, etc.) se denominan maltas diastásicas, en las cuales



el poder diastásico es el principal parámetro a considerar (Diaz Rodríguez, 2014). El poder diastásico representa la capacidad enzimática de las α -amilasas y β -amilasas para degradar el almidón, el valor del poder diastásico suele estar entre 200 a 600 unidades Windisch-kolbach, de esta manera se asegura la obtención de una adecuada cantidad de azúcares fermentables en el proceso enzimático (Ruiz, 2006; Serrano Febles, 2020).

1.7 Azúcares reductores

“Los azúcares reductores son mono- y oligosacáridos que contienen un grupo aldehídico o cetónico libre, y que a través del mismo pueden reaccionar con otras moléculas provocando la alteración de las proteínas mediante la reacción de glicación o glucosilación no enzimática también denominada reacción de Maillard” (INEN 266, 2013; Tun Velásquez, 2014).

En la fermentación alcohólica los azúcares reductores influyen directamente en la cantidad de etanol producido, por ello la importancia de cuantificar el jarabe de glucosa al finalizar el proceso hidrolítico (Moreno, 2016). Los jarabes de glucosa son producto de la hidrólisis del almidón y todos estos son mezclas de polímeros de D-glucosa, son usados en panadería, confitería, procesado de frutas, alimentos compuestos, bebidas alcohólicas, misceláneos, bebidas frías, etc. La industria utiliza procesos enzimáticos para obtener jarabes glucosados debido a la facilidad en el control de formación de productos no deseables (Quitiguiña & Santacruz, 2012).

1.8 Fermentación alcohólica

Es la transformación de azúcares en alcohol y dióxido de carbono. Los productos de la fermentación son muy variados, según el sustrato, el microorganismo y los factores que gobiernan el proceso. Este tipo de fermentación lo realizan las levaduras del género *Saccharomyces cerevisiae*, que tiene diversas cepas capaces de convertir la glucosa en CO_2 y etanol. Las levaduras necesitan el oxígeno, pero al final de la fermentación su presencia debe ser pequeña, para evitar la pérdida de etanol y la aparición de ácido acético (Joel & Cruz, 2017). La conversión en la fermentación se representa mediante la Ec (1):



1.9 Destilación alcohólica

La destilación es un proceso de separación de los componentes de una mezcla binaria líquida mediante la ebullición selectiva y seguida de la condensación. Este proceso se inicia

con el calentamiento de un mosto fermentado a 78°C aproximadamente en un destilador, alcanzada esta temperatura se evaporan los compuestos más volátiles como etanol y congéneres, según sus puntos de ebullición. Los vapores son conducidos hacia un refrigerante para llevar a cabo la condensación de los vapores y obtener etanol líquido (Calvache, Karen; Toro, 2020). El tipo de etanol a obtener en esta investigación es tipo agrícola, los requisitos se basan en la normativa NTE INEN 375.

1.10 Diseño experimental factorial 2^k

(Torbjorn et al., 2004) explica que el diseño experimental 2^k es una herramienta muy utilizada para examinar sistemáticamente diferentes tipos de problemas. Este tipo de diseño generalmente es usado cuando el número de factores a estudiar se encuentra entre dos y cinco ($2 \leq k \leq 5$), rango en el cual su tamaño se encuentra entre cuatro y 32 tratamientos, cantidad que es fácilmente manejable en situaciones experimentales (Bao Fernández, 2020; Gutiérrez et al., 2008).

Por su sencillez, una matriz de experimentos factorial completa 2^k no requiere un software especializado para construirla ni para analizar sus resultados. En estos diseños, cada factor se estudia a sólo dos niveles y sus experimentos contemplan todas las combinaciones de cada nivel de un factor con todos los niveles de los otros factores (Ferré, 2002). En este proyecto se trabajará con $k=3$ variables, que significa tres factores, es decir 2^3 , que indica que se deberán realizar ocho experimentos. La Tabla 5 muestra la matriz de diseño.

Tabla 5

Matriz de diseño

Experimento	x1	x2	x3
1	-1	-1	-1
2	1	-1	-1
3	-1	1	-1
4	1	1	-1
5	-1	-1	1
6	1	-1	1
7	-1	1	1
8	1	1	1

Nota: x1=temperatura, x2=tiempo de sacarificación y x3=concentración de malta.

1.11 Construcción de la matriz del modelo

La matriz modelo se construye a partir de la matriz de diseño, se coloca una columna la intersección (b_0) que representa el punto de corte con el eje cuando todas las variables son igual a cero, seguido se adicionan columnas de las variables (x_1, x_2, x_3), y todas las combinaciones posibles de las variables de dos en dos, luego la interacción entre las tres variables. Finalmente se adiciona la variable respuesta o de salida (y) (Ferré, 2002). A continuación, la Tabla 6 indica la matriz modelo para dos niveles y 3 factores.

Tabla 6

Matriz del modelo para 2 niveles y 3 factores

Experimento	b_0	x_1	x_2	x_3	x_1x_2	x_1x_3	x_2x_3	$x_1x_2x_3$	y
1	1	-1	-1	-1	1	1	1	-1	y_1
2	1	1	-1	-1	-1	-1	1	1	y_2
3	1	-1	1	-1	-1	1	-1	1	y_3
4	1	1	1	-1	1	-1	-1	-1	y_4
5	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	y_5
6	1	1	-1	1	-1	1	-1	-1	y_6
7	1	-1	1	1	-1	-1	1	-1	y_7
8	1	1	1	1	1	1	1	1	y_8

Nota. En la Tabla 6 se visualiza la matriz de manera general en la cual se evalúan las variables de entrada (x_1 =temperatura, x_2 =tiempo de sacarificación y x_3 =concentración de malta.) y salida ($y=°Bx$), dando como resultado un total de ocho experimentos. Tomado de (Gutiérrez et al., 2008).



2 Capítulo II: Metodología

2.1 Tipo de estudio

La investigación es un estudio experimental-cuantitativo en donde se cuantificó y analizó la cantidad de glucosa y etanol respectivamente. La investigación se realizó desde el segundo semestre de 2021 hasta el primer semestre del año 2022.

2.2 Características del lugar

2.2.1 Localización

La presente investigación se realizó en una planta piloto la parroquia San Andrés de Checa en la zona norte a 15 km de la ciudad de Cuenca. La temperatura ambiental media en la parroquia oscila entre 10 y 20 °C (Pintado, 2019).

2.2.2 Recolección y selección

2.2.2.1 Maíz zhima.

Se realizó la adquisición del maíz zhima a productores locales en diferentes sectores de la parroquia Checa. Se emplearon 50 libras distribuidas en dos sacos de yute. El maíz recolectado fue de la misma variedad, dado que es el único que se siembra en esta zona.

El maíz fue seleccionado mediante un cribado manual empleando un tamiz artesanal, este proceso eliminó la mayor cantidad de impurezas generadas en la actividad de cosecha y desgranado.

2.2.2.2 Malta diastásica.

La malta diastásica se adquirió a CheersEc, empresa dedicada a proveer insumos a la industria cervecera, cabe añadir que la malta presenta un poder diastásico de 380 unidades Windisch-kolbach (WK). La malta adquirida tiene una humedad de 7% y sus proteínas totales como su viscosidad son de 11,5% y 1,6 cp respectivamente, el tiempo recomendado por el fabricante para el proceso de sacarificación es de 15 minutos, sin embargo esto puede variar dependiendo el tipo de cereal no malteado a utilizar (Castle, 2020).

2.3 Pretratamiento

Una vez que los granos de maíz fueron adquiridos, seleccionados y limpiados, pasaron por las siguientes etapas previas al proceso de hidrólisis enzimática.

2.3.1 *Pesaje de materia prima*

Se realizó el pesaje de maíz y malta en una balanza de marca CAMRY cuyo rango de medida es de 1 a 5 kilogramos. Se registró el peso del grano antes de la molturación para verificar si existieron pérdidas durante la misma.

2.3.2 *Molturación seca*

La molturación seca del maíz y malta se realizó utilizando un molino eléctrico marca Corona de capacidad 1 kg/min y potencia ½ hp, en ambos casos el grano alcanzó un tamaño aproximado a 3 mm.

2.3.3 *Dosificación*

La dosificación de materia prima se realizó volviendo a pesar el material molturado por separado. La cantidad total de material a utilizar fue de 2 kg distribuidos entre maíz y malta y 10 litros de agua.

2.4 **Degradación del almidón empleando malta diastásica**

La hidrólisis enzimática, sacarificación o maceración puede ser realizada por tres métodos: infusión simple, infusión escalonada y decocción (Drapala & Hernández, 2018). Para esta investigación se utilizó el método por infusión simple, en el cual se incrementó la temperatura de la templea o mezcla hasta alcanzar valores óptimos de trabajo para las enzimas, de igual manera los tiempos de reposo tuvieron gran importancia en el proceso. En la Tabla 7 se indica la división por etapas y los parámetros de control.

Tabla 7

Esquema de maceración por infusión simple

Etapas	Temperatura (°C)	Tiempo (min)
1: Gelatinización	45	30
2: Licuefacción	55	30
3: Sacarificación	60 a 70	40 a 60

Nota. En la Tabla 7 se visualizan los parámetros y valores a controlar durante el proceso de maceración por infusión simple.

Para degradar el almidón empleando malta diastásica se necesitó realizar un ataque enzimático al maíz. Se utilizó una relación 2:10 (malta-maíz/agua). El proceso se realizó mezclando agua y maíz, en una primera etapa se sometió a calentamiento a 45°C por 30 minutos

en un recipiente de acero inoxidable de 100 litros de capacidad, durante esta etapa se dará el reposo proteico y la formación de B-glucano, la temperatura es un factor importante para que el maíz se adecue al medio acuoso y realice su función. Durante la etapa 2 se incrementa la temperatura hasta 55°C por 30 minutos para que la mezcla inicie el proceso de producción de maltosa. Finalmente, en la última etapa donde se realizó el diseño factorial se adicionó la malta para dar paso al proceso de sacarificación y consecuencia de ello producción de glucosa. En cada etapa la agitación se realizó de forma manual. Para calentar la mezcla se utilizó una cocina industrial de tres quemadores, y como combustible gas doméstico.

Es importante indicar que la etapa tres es la más crítica del proceso porque durante ésta se lleva a cabo la degradación enzimática de los polisacáridos presentes en la mezcla (Equinos et al., 2018), teniendo en cuenta ello se realizó un diseño experimental factorial 2^3 para esta fase.

2.5 Optimización de parámetros para la obtención de glucosa

Para obtener las condiciones óptimas para producción de glucosa posterior a la etapa dos (licuefacción), se planteó un diseño factorial 2^k , donde k representa el número de factores a analizar: temperatura, tiempo de degradación del almidón y concentración de la malta. Cada uno de los cuales se establecieron a dos niveles, uno mínimo (-1) y otro máximo (+1) (Tabla 8). En el caso de la temperatura del proceso se recomienda rangos de 60 °C y 70 °C, tiempos de degradación entre 40 y 60 minutos (Drapala & Hernández, 2018) y concentración de la malta entre un 20% y 30% (p/p) (Castle, 2020), estos parámetros permitirán la acción de la malta sobre el almidón de maíz para obtener azúcares fermentables.

Tabla 8

Diseño experimental 2^k

Factor	Variable	Nivel	
		Mínimo (-1)	Máximo (+)
Temperatura (°C)	x1	60	70
Tiempo (min)	x2	40	60
Concentración malta (%p/p)	x3	20	30

Nota. En la Tabla 8 se observa el número de factores para el desarrollo del diseño experimental, cada factor refleja las condiciones óptimas de trabajo para un correcto proceso de maceración.



Se realizaron ocho experimentos en diferentes condiciones (Tabla 9) ajustadas a un modelo polinomial según la Ec (2).

$$y = b_0 + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{123}x_1x_2x_3 \quad \text{Ec (2)}$$

Tabla 9

Número de experimentaciones según las variables de entrada y salida

Experimento	Temperatura (x1) (°C)	Tiempo (min) (x2)	Concentración de malta (x3) (%)	°Bx (y)
1	60	40	20	y1
2	70	40	20	y2
3	60	60	20	y3
4	70	60	20	y4
5	60	40	30	y5
6	70	40	30	y6
7	60	60	30	y7
8	70	60	30	y8

Nota. En la Tabla 9 se observa el número de experimentos y valores de los parámetros de control para el diseño experimental 2^k. Obtenido de (Autor).

La variable de salida o variable de respuesta (y) que hace referencia al valor de sólidos solubles (°Bx), será el parámetro que permitirá escoger el experimento de interés, es decir aquel valor más alto que se pueda obtener. Las condiciones del mejor experimento se replicaron con igual técnica, y en este experimento se tomaron alícuotas para determinar la concentración de glucosa, grados Brix en el proceso de fermentación y finalmente para cuantificar el grado alcohólico según las secciones que se detallan a continuación.

2.6 Análisis de sólidos solubles

Para la determinación de los sólidos solubles para cada experimento y para el experimento de interés se aplicó el método refractométrico, donde el índice de refracción es proporcional a la concentración de sólidos solubles. Este método es aplicable particularmente a productos espesos, ricos en azúcares o que contienen material suspendido. Si los productos contienen otras sustancias disueltas, los resultados serán aproximados; sin embargo, por



conveniencia, se puede considerar el resultado obtenido por este método como el contenido de sólidos solubles (INEN 380, 1985).

Durante la hidrólisis enzimática se realizaron mediciones cada 15 minutos para conocer la variación de concentración de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$) en la mezcla.

La norma utilizada para la determinación de sólidos solubles fue la NTE INEN 380. El método se realizó tomando una alícuota de 25 ml cada 15 minutos durante todo el proceso enzimático. La alícuota se enfrió hasta 20°C mediante agitación manual. Luego se colocaron dos a tres gotas de muestra sobre el prisma fijo e inmediatamente se ajustó el prisma móvil. Se realizó la lectura de $^{\circ}\text{Bx}$ y se registraron los valores.

2.7 Determinación de glucosa

Para determinar la cantidad de glucosa generada en el proceso hidrolítico, el análisis se realizó en un cromatógrafo para líquidos de alta resolución marca JASCO, modelo CO-4061, con “loop” de inyección de 10 μl , las muestras se analizaron en el laboratorio de Ingeniería de Reactores y Catálisis de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Cuenca.

Para la determinación se tomó una alícuota de 30 a 50 ml de la muestra sacarificada, la muestra se filtró utilizando un lienzo de tela y papel filtro de grado uno con retención de partículas de $11\mu\text{m}$, también se reguló el pH hasta 5,35. La muestra fue colocada en un envase de vidrio de 100 ml de capacidad con tapa rosca y posteriormente llevada al laboratorio para su respectivo análisis.

La muestra analizada fue aquella donde se registró la mayor concentración de sólidos solubles.

2.8 Determinación de azúcares reductores

El ensayo colorimétrico más confiable y conocido para carbohidratos es posiblemente el ideado por Du Bois (método Fenol-ácido sulfúrico)(Ortiz-Bravo, 2006). Esta determinación consiste en hacer reaccionar el azúcar con fenol utilizando ácido sulfúrico para generar un compuesto colorido. La intensidad de la coloración es proporcional a la cantidad total de carbohidratos presentes en la muestra, lo cual puede ser medido por espectrofotometría a una longitud de onda de 490 nm (Yugsi, 2017).



2.8.1 Preparación de reactivos para el método Fenol-ácido sulfúrico

2.8.1.1 Patrón de Glucosa. Se disolvió 0,1 g de glucosa y se aforó a 100 ml con agua destilada. Esta solución tiene una concentración de 0,001g/ml o 1 g/l.

2.8.1.2 Preparación de la solución de fenol al 5% (P/V). Se pesó 5 g de fenol y se aforó en 100 ml de agua destilada. Se preparó el reactivo en la cámara de extracción de humos y vapores tóxicos.

2.8.2 Preparación de los estándares para la curva de calibración

Se utilizó la glucosa como estándar para determinar la curva de calibración. Se enumeró tubos de ensayo colocando reactivo en el orden de la Tabla 10.

Tabla 10

Número de experimentaciones según las variables de entrada y salida

Nº Tubos	Patrón de glucosa 1 g/l (ml)	Agua destilada (ml)	Fenol 5% (P/V) (ml)	H ₂ SO ₄ (ml)
Blanco	0	1	1	5
1	0,1	0,9	1	5
2	0,2	0,8	1	5
3	0,3	0,7	1	5
4	0,4	0,6	1	5
5	0,5	0,5	1	5
6	0,6	0,4	1	5
7	0,7	0,3	1	5
8	0,8	0,2	1	5
9	0,9	0,1	1	5
10	1	0	1	5

Nota. En la Tabla 10 se observan las cantidades de cada reactivo que se colocó en cada tubo de ensayo.

En el tubo etiquetado como blanco se colocó agua destilada y fenol en las cantidades que se muestra en la Tabla 10. Se continuó con el resto de los tubos de ensayo etiquetados del 1 al 10 colocando la cantidad indicada del patrón de glucosa, agua destilada, fenol y ácido



sulfúrico. Se agitaron los tubos para homogenizar la muestra, después se dejó reposar los estándares por 10 minutos. A continuación, se colocaron los tubos en baño maría con hielo por 20 minutos. Finalmente se procedió a leer la absorbancia a ($\lambda=490\text{nm}$) utilizando un espectrofotómetro UV-vis marca Jenway 6705.

2.8.3 Preparación de la muestra hidrolizada

La muestra luego de la hidrólisis enzimática fue filtrada con papel filtro Whatman 1. A continuación se tomó 1 ml de muestra y se aforó a 250 ml. Luego otra alícuota de 2 ml y se colocó en un tubo de ensayo, posterior a ello se adicionó 1 ml de fenol al 5% y 5 ml de ácido sulfúrico. Se agitó manualmente y dejó reposar por 10 minutos, seguidamente se introdujo el tubo de ensayo en un baño maría con hielo y reposo por 20 minutos, Para finalmente realizar la lectura en el espectrofotómetro.

2.9 Fermentación alcohólica

Una vez con la muestra sacarificada y con los azúcares disponibles (glucosa) se procede a la fermentación. Previamente, se filtra el mosto empleando un recipiente plástico acoplado una malla de maceración, que facilita la separación del mosto y el bagazo (maíz y malta). Por otro lado, fue necesario enfriar el mosto hasta 30 a 35°C, para ello se empleó un intercambiador de calor de cobre a contraflujo tipo serpentín. Así, con el mosto filtrado y enfriado se verificó que la cantidad de sólidos solubles se encuentren entre 12 y 19 °Bx, teniendo en cuenta que a concentraciones superiores la levadura disminuye su actividad y rendimiento. La levadura seca que se empleó fue *Saccharomyces Cerevisiae* de la empresa LEVAPAN cuya dosificación fue de 0,2g/l, la levadura fue activada 10 minutos antes de ser adicionada al mosto, para su activación el fabricante recomienda utilizar agua y azúcar refinada, sin embargo, para que la levadura se adecue al medio en el cual se va a desarrollar se utilizó 250 ml de mosto que luego fue adicionado a la mezcla total (Campués & Tarupí, 2011).

La fermentación se realizó en medio anaerobio, para ello se utilizó un recipiente de polietileno de alta densidad de 200 litros de capacidad con tapa hermética. El recipiente se adecuó con una llave plástica para toma de muestras, en la tapa se colocó una manguera de 3/16 pulgadas, esta a su vez se introdujo en un recipiente con agua para verificar el burbujeo debido a la salida de CO₂. Para aumentar el rendimiento de la levadura se emplearon nutrientes como sulfato de amonio y ácido fosfórico a razón de 0,70 g/l y 0,18 g/l respectivamente, que se adicionaron antes de la levadura. Por otro lado como regulador de pH se utilizó ácido cítrico,

mismo que se adicionó a razón de 0,2 g/l (Gilces & Veloz, 2006). Para finalizar el proceso fermentativo suele verificarse mediante métodos directos como la disminución de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$) o emisión nula de CO_2 (Campués & Tarupí, 2011). En esta investigación se realizó la medición de $^{\circ}\text{Bx}$ cada ocho horas hasta finalizar la fermentación.

2.10 Destilación

Finalmente, la mezcla fermentada fue bombeada desde el cuarto de fermentación hacia la columna de destilación de acero inoxidable de 2 mm de espesor, su estructura consta de siete etapas, cada una de ellas está formada por platos perforados que ayudan a mantener un equilibrio de la mezcla binaria etanol-agua y por ende aumentar la concentración de etanol. La columna posee un boiler de 200 litros de capacidad y cuyo calentamiento se realizó mediante la combustión de gas doméstico. La medición del grado alcohólico se realizó con un hidrómetro de marca PRO SERIES con rango de 0-100.

Con el alcohol obtenido luego de la rectificación se tomaron dos muestras de 750 ml, las mismas fueron colocadas en botellas de vidrio y llevadas a un laboratorio acreditado para su respectivo análisis, los resultados serán comparados con la NTE INEN 375.

Figura 9

Columna de destilación



Nota. La Figura 9 muestra la columna de destilación utilizada para el proceso de separación etanol-agua.

Tomado de (Autor).

3 Capítulo III: Análisis de resultados y discusión

3.1 Pretratamiento

La dosificación se realizó en base a la cantidad de malta que recomienda la casa comercial CheersEc entre un 20% a 30%, de esta manera el rango de dosificación para el maíz fue de 70% y 80% en (p/p). La Tabla 11 indica los porcentajes convertidos a kilogramos según la cantidad total de materia prima a utilizar en la mezcla enzimática.

Tabla 11

Concentraciones de malta y maíz

Malta		Maíz	
%	kg	%	kg
20	0,4	80	1,6
30	0,6	70	1,4

Nota. En la Tabla 11 se observa la cantidad de malta y maíz en % p/p que se utilizó en cada prueba del diseño experimental.

3.2 Optimización de parámetros para la obtención de glucosa

La Tabla 12 muestra que la conversión de almidón a glucosa resulta efectiva al utilizar hidrólisis enzimática mediante difusión simple. La variable de salida (y) indica que la cantidad de °Bx cambia al momento de introducir un nuevo valor a cada una de las variables de entrada. Como se observa en el experimento 8, el valor máximo de sólidos solubles alcanzados fue de 15 °Bx.

Tabla 12

Número de experimentaciones según las variables de entrada y salida

Experimento	Temperatura (x1) (°C)	Tiempo (x2) (min)	Concentración de malta (x3) (%)	°Bx (y)
1	60	40	20	8
2	70	40	20	9
3	60	60	20	11
4	70	60	20	9,5

5	60	40	30	10
6	70	40	30	10,5
7	60	60	30	10,5
8	70	60	30	15

Nota. En la Tabla 12 se observa el número de experimentos y valores de los parámetros de control para el diseño experimental 2^k . Las pruebas fueron realizadas por triplicado, dando un total de 24.

Una vez que se ha obtenido la matriz del modelo y la variable respuesta, se deben calcular los coeficientes de cada variable, la cual indica un comportamiento sinérgico o antagónico y la importancia frente a la variable respuesta, los coeficientes se reemplazan en la Ec (2).

Tabla 13

Número de experimentaciones según las variables de entrada y salida

Coficiente	b₀	b₁	b₂	b₃	b₁₂	b₁₃	b₂₃	b₁₂₃
Valor	10	0,6	1,1	1,1	0,2	0,7	0,2	0,8

Nota. La Tabla 13 muestra los coeficientes generados al combinar los diferentes parámetros en una matriz de diseño.

El polinomio resulta:

$$y=10+ 0,6x_1 + 1,1x_2 + 1,1x_3 + 0,2x_1x_2 + 0,7x_1x_3 + 0,2x_2x_3 + 0,8x_1x_2x_3 \quad \text{Ec (3)}$$

Efectos principales: se observa que las variables x_1 (temperatura), x_2 (tiempo de sacarificación) y x_3 (concentración de la malta) muestran un comportamiento sinérgico, es decir que a medida que estas variables aumentan, el valor de la respuesta se ve favorecido. El tiempo y la concentración de malta presentan mayor influencia que la temperatura del proceso de sacarificación, esto quiere decir que un aumento en 10 grados no es tan representativo que las modificaciones del tiempo y concentración en conseguir mayor ataque enzimático.

Para obtener el polinomio se utilizó una matriz en Excel, y cuyas interacciones entre variables dieron como resultado la Ec (3). Las interacciones dobles x_1x_2 , x_1x_3 , x_2x_3 son sinérgicas, esto indica que al aumentar las tres variables simultáneamente incrementan la variable respuesta, quiere decir que si en la última etapa de proceso, la sacarificación, se incrementa la temperatura diez grados, con una concentración de malta del 30% y durante un



tiempo de 60 minutos, la concentración de sólidos solubles también aumenta. Así mismo, si estas tres variables disminuyen al mismo tiempo, se tendrá menor cantidad de sólidos. Se puede observar que la interacción $x1x3$ presenta un mayor valor que las otras tres interacciones, esto indica que si se incrementa la Temperatura y la concentración de la malta beneficiará el incremento de sólidos solubles como puede apreciarse en el experimento N° 8.

La interacción $x1x2x3$ presenta un comportamiento sinérgico, aquí existe una variedad de posibles combinaciones entre los valores de las variables, sin embargo, se puede indicar que si la temperatura, la concentración de malta y el tiempo del proceso aumentan, también incrementa la concentración de sólidos solubles.

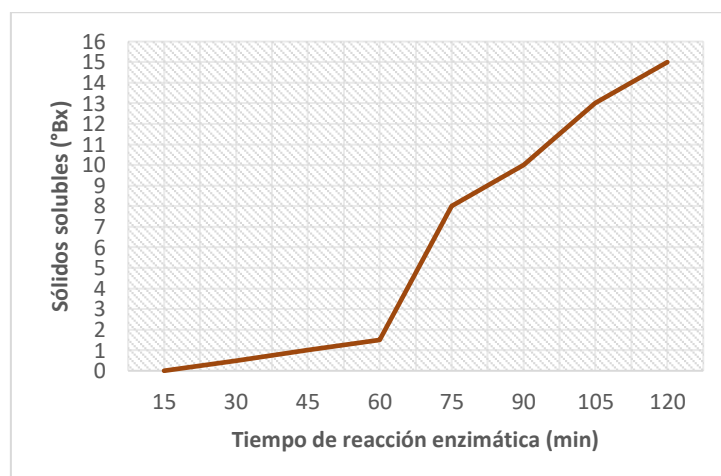
Con este análisis, los experimentos que presentan el mayor impacto fueron 7 y 8, sin embargo, analizando la variable respuesta ($^{\circ}\text{Bx}$) se observa que para el experimento 8 la cantidad de sólidos solubles es mayor, por lo tanto, la conversión a etanol tendrá mayor rendimiento. Por ello, queda definida las condiciones para la realización de un nuevo experimento, temperatura de 70°C , un tiempo de 60 minutos y una concentración de malta al 30% (p/p), en este experimento se realizará el proceso de fermentación y destilación.

3.3 Análisis de sólidos solubles

Se ha realizado un análisis de sólidos solubles tanto para la hidrólisis enzimática como para el proceso de fermentación en función del tiempo transcurrido.

Figura 10

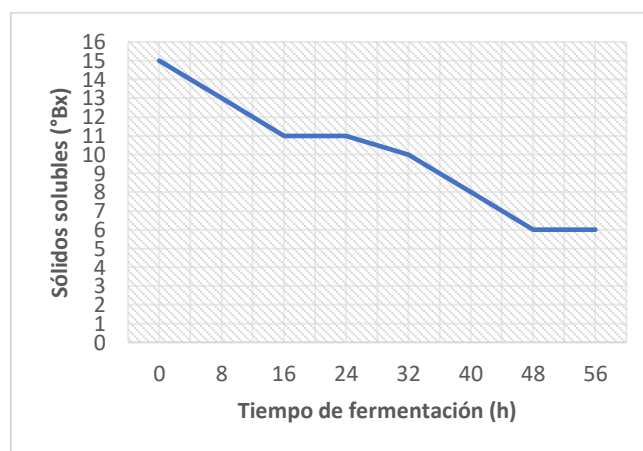
Variación de sólidos solubles $^{\circ}\text{Bx}$ durante la hidrólisis enzimática



Se observa según la Figura 10 que la variación de sólidos solubles fue directamente proporcional al tiempo de reacción enzimática. Durante los primeros 60 minutos en la etapa de reposo proteico y producción de maltosa el aumento de sólidos solubles es lento debido a que aún no ha entrado en contacto ningún tipo de enzima. Por otro lado, su mayor crecimiento se dio a partir del minuto 60, en la etapa tres, la Figura 10 muestra un aumento elevado de sólidos solubles debido a la adición de malta diastásica (Drapala & Hernández, 2018). El valor de °Bx obtenido para esta investigación fue de 15, sin embargo, se debe tener en cuenta que tanto el tiempo como la temperatura son factores críticos para el correcto trabajo de las enzimas de la malta, lo cual puede afectar directamente a la concentración de °Bx finales. Por otro lado, el uso de enzimas comerciales aumenta la eficiencia del proceso, la desventaja de éstas es su elevado valor, por ende, al usar enzimas provenientes de malta diastásica la concentración sólidos solubles puede disminuir al igual que el costo de producción.

Figura 11

Variación de sólidos solubles en el proceso fermentativo

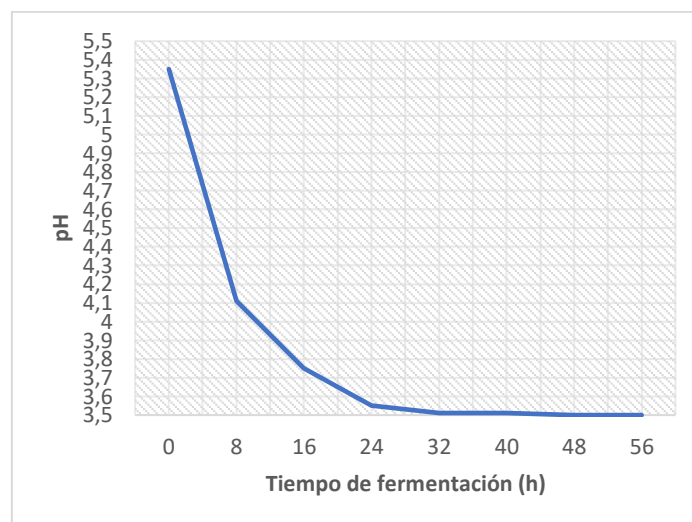


La Figura 11 muestra que la relación °Bx y tiempo de fermentación es indirectamente proporcional, la mayor disminución se dio a las 16 horas. (Pomasqui Benavides, 2013) en su estudio acerca de los “parámetros óptimos en la fermentación alcohólica para industrializar la chicha de jora en la procesadora de alimentos y bebidas kutacachi sara mama” indica que el comportamiento de los sólidos solubles durante el proceso de fermentación muestran una mayor disminución a las 6 horas, y a partir de este tiempo, la misma se vuelve lenta y constante, por ende, se puede observar que las condiciones de este estudio son similares, dado que en nuestro caso existe también un rango de tiempo en el cual la levadura tiene mayor actividad (16 horas). También es importante mencionar que (Pomasqui Benavides, 2013) utiliza para su proceso de

fermentación levadura seca activa *Saccharomyces cerevisiae* en un rango de 22°C a 28°C, en cambio ésta investigación realizó la fermentación en un rango mayor, 25°C a 35°C, dicho esto, la temperatura de fermentación juega un papel importante en la producción de etanol, por ende, las condiciones propuestas en esta investigación muestran una ventaja y un rendimiento mayor. Por último, (Pomasqui Benavides, 2013) revela que el tiempo adecuado para finalizar el proceso fermentativo es de 48 horas, comparando con el resultado de la Figura 11, la finalización de la fermentación se dio luego de 56 horas, esto debido a la baja disminución de °Bx a partir de este tiempo.

Figura 12

Variación de pH durante la fermentación



Dentro del proceso de fermentación es importante monitorear el valor del pH, debido a que, la levadura se desarrolla adecuadamente en medios de pH con rangos que oscilan entre 4,5 y 5,5 (Campués & Tarupí, 2011). Sin embargo, otras literaturas científicas reportan distintos rangos de pH para el crecimiento óptimo de *Saccharomyces cerevisiae* en la fermentación alcohólica. (Mosquera et al., 2014) revela que el pH en 5,5 genera contaminación del producto final, afectando el rendimiento de etanol. Al mantener el pH en 4 y autoclavando el mosto se logra eliminar la contaminación. En otra investigación realizada por (De León, 2016) sobre “Análisis de las propiedades fisicoquímicas que aporta el maíz negro (*Zea Mays L.*) en la elaboración de cerveza a tres diferentes temperaturas de fermentación” indica que el comportamiento del pH depende de la temperatura de fermentación, en dicha investigación demuestra que la acidificación fue mayor a un temperatura de fermentación de 10°C dando como resultado 3,65.



La Figura 12, indica que existió una relación inversamente proporcional del pH con respecto al tiempo, es decir, a medida que el tiempo aumentaba el valor de pH disminuía, esto fue un claro indicativo de la acidificación de la mezcla fermentada, esto se corrobora en un estudio realizado por (Vásquez & Vásquez, 2009) sobre “obtención de vodka a partir de dos tipos de maíz (*Zea Mays*): maíz amarillo amiláceo y maíz blanco de grano vitreo” en donde indica que el pH inició en 4,5 y su estabilización se dio en un rango de 3,0,4 y 3,06 previo a la destilación. En el presente estudio la fermentación inicia con pH de 5,35 y el mayor descenso se observó durante las primeras 24 horas, a partir de allí se mantuvo casi constante hasta finalizar el proceso de fermentación. El valor más bajo alcanzado fue de 3,50. Por lo tanto, se puede observar que las condiciones de nuestro estudio son similares a otros, ya que la tendencia de acidificación del mosto es bastante parecida.

3.4 Cuantificación de glucosa

3.4.1 Resultados del análisis de cromatografía líquida

Una vez realizada la etapa de sacarificación, se tomaron tres muestras de 30 a 50 ml para cuantificar la presencia de glucosa.

Dicha cuantificación se realizó en un cromatógrafo de líquidos de alta resolución marca JASCO con una bomba cuaternaria JASCO PU 4180, detector IR-4030 y un horno CO-4061. La fase estacionaria fue una columna de Nucleogel sugar 810 Ca con una longitud de 300 mm y cuyo diámetro de partícula y diámetro interno fueron de 9 μ m y 7,8 mm respectivamente. La temperatura de trabajo fue de 85°C. Por otro lado, la fase móvil estuvo compuesta de Agua: H₂SO₄ 0.1 % V/V, la fase móvil trabajó a condiciones 100 % isocráticas. Se observa en la Figura 13 el cromatograma obtenido durante el análisis de la muestra.

Figura 13

Cromatograma

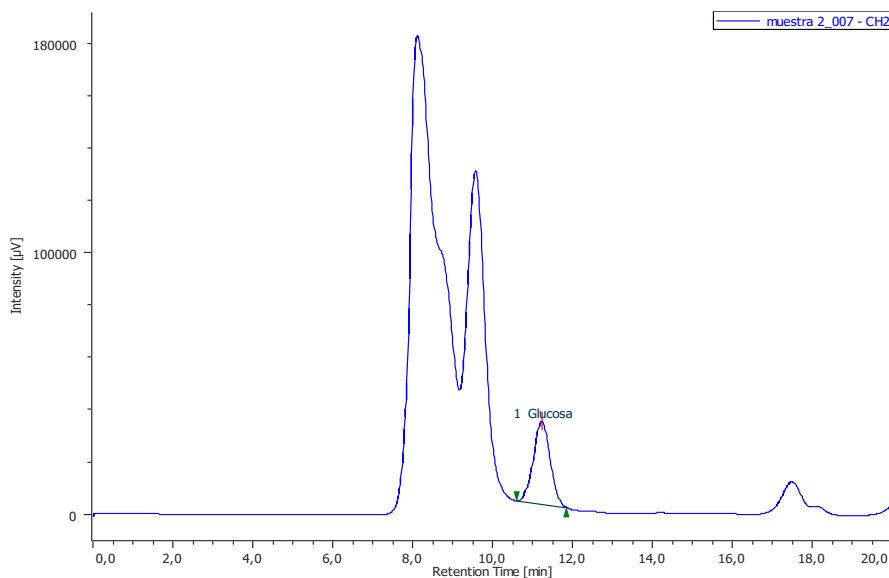


Tabla 14

Resultados del análisis de cromatografía líquida para la muestra 2

Muestra	Tiempo de retención (min)	Cantidad de glucosa (mg/l)
1	11,217	4898,94
1-Duplicado	11,217	4821,47

Nota. La Tabla 14 indica la cantidad de glucosa que posee el mosto obtenido luego del ataque enzimático. Obtenido de (Análisis en el Laboratorio de Catálisis y Reactores de la Universidad de Cuenca)

Como se observa en la Figura 13, dos picos adicionales a la presencia de glucosa, se podría suponer que se trata de azúcares como maltosa y dextrosa que son producto de la hidrólisis enzimática, las mismas que las enzimas no han transformado en su totalidad a glucosa, tal y como se evidencia un estudio planteado por (Rodríguez Rodríguez et al., 2015) acerca de la “obtención de jarabes dextrinizados mediante hidrólisis enzimática del almidón de sorgo”, donde indica que durante la hidrólisis enzimática del almidón se generan dos grupos, uno de muy alto grado de hidrólisis como la glucosa y otro con productos de hidrólisis intermedia como dextrosa, maltosa y oligosacáridos. Por otro lado, también puede tratarse de alcoholes como etanol o metanol que se pudieron generar debido a la fermentación del mosto.



El valor alcanzado y medido de sólidos solubles ($^{\circ}\text{Bx}$) en la fase de sacarificación fue de 15°Bx empleando un refractómetro portátil, es decir 15 g de azúcares por cada 100 ml de solución o 150000 mg/l. Comparando el análisis por cromatografía, un valor igual a 4898,94 mg/l para glucosa, se puede pensar que el segundo pico mostrado la Figura 13 corresponden a otros azúcares como maltosa y dextrosa para completar un valor cercano al reportado (15°Bx).

3.5 Análisis de resultado para la determinación de azúcares reductores

Una vez concluido el ensayo para determinación de azúcares reductores por el método Fenol-ácido sulfúrico se obtuvieron los siguientes resultados:

Concentración de muestra	0,670 g/l
Factor de dilución de la muestra	250

Para conocer la concentración inicial de la muestra previa dilución se multiplica la concentración leída por el espectrofotómetro y el factor de dilución.

$$\text{Concentracion inicial} = \text{Concentracion leída} * \text{factor de dilucion}$$

$$\text{Concentracion inicial} = 0,670 \text{ g/l} * 250$$

$$\text{Concentracion inicial} = 167,5 \text{ g/l}$$

$$\text{Concentracion inicial} = 167500 \text{ mg/l}$$

El valor obtenido es cercano a la concentración leída en el refractómetro portátil (150000 mg/l).

3.6 Análisis de variables en el etanol obtenido

Una vez concluido el proceso de fermentación, con un valor de 6°Bx que se ha mantenido constante a partir de las 48 horas, se procede con la fase de destilación. El etanol abandonó la columna de destilación con una pureza del 60°GL para la primera destilación. En la segunda destilación o rectificación el etanol obtenido fue de 95°GL medido con un hidrómetro marca PRO SERIES. La Tabla 15, muestra los resultados reportados por un laboratorio acreditado.



Tabla 15

Resultados del análisis físico-químico para etanol

Parámetro	Método - Técnica	Unidad	Resultado	Conformidad	NORMA NTE INEN 375:2018	
					Min	Max
*Acidez total	Aoac 947.05 - volumetría	%	0.019	Pasa	---	1.5
*Alcoholes superiores	Nte inen 2014:2015 - cromatografía de gases	mg/100cc	0.57	Pasa	---	0.7
*Aldehídos	Nte inen 2014:2015 - cromatografía de gases	mg/100cc	<0.01	Pasa	---	0.2
*Aspecto ¹	Sensorial - sensorial	---	Inobjetable	Pasa	---	
*Color ¹	Sensorial - sensorial	---	Inobjetable	Pasa	---	
*Esteres	Nte inen 2014:2015 - cromatografía de gases	Nte inen2014:2015	<0.01	Pasa	---	1.3
*Furfural	Nte inen 2014:2015 - cromatografía de gases	mg/100cc	<0.01	Pasa	---	0.01
*Grado alcohólico	Nte inen 340:2016 - destilación	°GL	98	Pasa	96	---
*Metanol	Nte inen 2014:2015 - cromatografía de gases	mg/100cc	0.56	Pasa	---	1.5
*Olor ¹	Sensorial - sensorial	---	Inobjetable	Pasa	---	
*Sabor ¹	Sensorial - sensorial	---	Inobjetable	Pasa	---	

Nota: *Fuera del alcance de la acreditación. **Subcontratado acreditado. ***Subcontratado no acreditado



Como se puede observar en la Tabla 15., los valores obtenidos del alcohol en estudio cumplen con todos los requisitos de acuerdo a la NTE INEN 375:2018 para etanol tipo agrícola. En esta investigación se ha obtenido 95° GL, un valor diferente a otros estudios de obtención de etanol a partir de maíz, (Vásquez & Vásquez, 2009) en su estudio sobre “Obtención de vodka a partir de dos tipos de maíz (*Zea Mays*): maíz amarillo amiláceo y maíz blanco de grano vitreo” indica que el mayor grado alcohólico que obtuvo fue de 84,37° GL. En otra investigación realizada por (Arteaga, 2008) sobre la “Elaboración de una bebida alcohólica destilada (vodka) a partir de tres variedades de papa (*solanum tuberosum*) utilizando dos tipos de enzimas” indica que el mayor grado alcohólico que obtuvo fue de 85,6° GL. En otro estudio similar al anterior, realizado por (Carolina & Albuja, 2018) acerca de la “Elaboración de una Bebida Alcohólica Destilada a partir de Yuca (*Manihot esculenta*) y Zanahoria Blanca (*Arracacia xanthorrhiza*)” muestra la obtención de alcohol etílico con una concentración de 39° GL. Finalmente, en esta investigación, el valor de 95° GL es excelente ya que cada parámetro se encuentra dentro de los parámetros estipulados por normativa, por otro lado, hay que tener en cuenta que la cantidad de mosto destilado fue de 60 litros y el etanol obtenido fue de 1,5 litros, lo cual indica un valor similar en comparación al uso de otras materias primas, tal y como indica (Campués & Tarupí, 2011) en su estudio sobre "Obtención de alcohol a partir de jugo de caña, cachaza y melaza, mediante la incorporación de dos niveles de fermento (*Saccharomyces Cerevisiae*)” en el cual la cantidad de mosto destilado fue de 15 litros y el etanol generado fue en promedio 2,150 litros a 57,5° GL. Hay que tener en cuenta que el etanol obtenido en esta investigación es de alta concentración, por ende, al ser diluido a concentraciones bajas el volumen aumentaría.

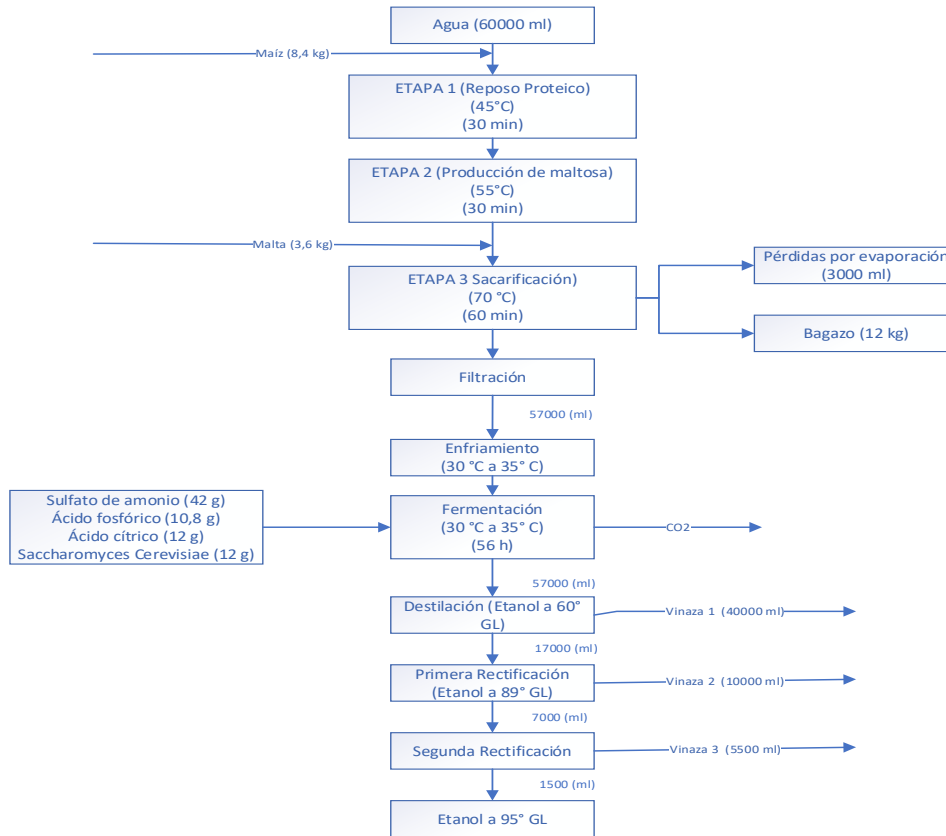
Esto demuestra que el proceso llevado a cabo es eficiente, además, el empleo de la malta diastásica permite optimizar los tiempos de proceso, de 10 días por un método tradicional a 3 días para obtener etanol. Así estudios realizados por (Drapala & Hernández, 2018) y (Espinoza. Z, 2016) sobre la “Elaboración de cerveza de maíz” y “Estudio de las condiciones de malteado de maíz (*Zea Mays*) y quinua (*Chenopodium quinoa*) que favorezcan su aptitud cervecera” respectivamente demuestran que el malteo de maíz tiene un proceso largo y requiere de infraestructura adecuada debido a las condiciones de humedad y temperatura que debe tener el grano para realizar la germinación.

3.7 Diagrama de proceso

La Figura 14 muestra el diagrama de proceso para la producción de etanol trabajando con un volumen de 60 litros.

Figura 14

Diagrama de proceso para obtención de etanol a partir de maíz variedad zhima



Nota. La Figura 14 muestra las entradas materias primas y salidas de residuos durante el proceso de producción para obtención de etanol empleando maíz variedad zhima y malta diastásica.

3.7.1 Rendimiento

$$R = \frac{\text{Etanol destilado (L)}}{\text{Volumen de destilación}} * 100 \quad \text{Ec (4)}$$

$$R = \frac{4}{57} * 100$$

$$R = 7,017 \%$$

Se ha calculado el rendimiento del proceso, el mismo que no es tan elevado en comparación con el estudio de (Vásquez & Vásquez, 2009) acerca de la “Obtención de vodka a partir de dos tipos de maíz (*Zea Mays*): maíz amarillo amiláceo y maíz blanco de grano vitreo” en donde muestra que el rendimiento fue de 18,79 %, sin embargo, en su estudio indica que utilizó enzimas comerciales, mismas que tienen mayor rendimiento de conversión de almidón a glucosa que las presentes en la malta diastásica.

3.8 Análisis económico

El análisis económico en los procesos de producción es una variable muy importante para conocer el costo unitario de un producto. La Tabla 16 refleja los costos directos e indirectos para la producción de etanol.

Tabla 16

Análisis económico para producción de etanol

Materiales	Unidad	Cantidad	Costo Unitario	Precio
Maíz	kg	8,4	\$ 1,13	\$ 9,53
Malta	kg	3,6	\$ 1,12	\$ 4,04
Agua	L	12	\$ 0,02	\$ 0,29
Levadura	g	42	\$ 0,01	\$ 0,49
Sulfato de amonio	g	10,8	\$ 0,01	\$ 0,11
Ácido fosfórico	ml	12	\$ 0,01	\$ 0,10
Ácido cítrico	g	12	\$ 0,01	\$ 0,12
Total, costos directos				\$ 14,66
Gas doméstico		1	\$ 1,60	\$ 1,60
Total, costos indirectos				\$ 1,60
Costo total de producción				\$ 16,26
Costo de Etanol de 95° GL por litro				
Volumen obtenido	L	1,5		
Precio estimado por litro				\$ 10,84
Costo de Etanol de 35° GL por litro				
Volumen estimado	L	4		
Precio estimado por litro				\$ 4,65

Nota: En la Tabla 16 se indica el análisis económico para la producción de etanol de tipo agrícola y para etanol de baja graduación (35° GL).

Como se puede observar en la Tabla 16 el costo para producción de etanol de tipo agrícola fue de \$10,84 por litro, si esta concentración se disminuye hasta 35° GL, valor ideal para comercializar el producto a manera de bebida alcohólica (vodka), el costo de producción disminuye hasta 4,65 por litro. (Vásquez & Vásquez, 2009) en su estudio sobre la “Obtención de vodka a partir de dos tipos de maíz (*Zea Mays*): maíz amarillo amiláceo y maíz blanco de grano vitreo” muestra que el costo unitario de producción de etanol para una botella de vodka de 750 ml fue de \$4,90. Por lo tanto, el método utilizado en esta investigación da un resultado bueno para la producción de etanol base para elaboración de bebidas alcohólicas para comercializar.



4 Conclusiones

Con los resultados obtenidos se concluye que la producción de etanol a partir de almidón de maíz *Zea Mays* variedad zhima empleando malta diastásica es posible mediante el proceso de hidrólisis enzimática.

En base al diseño experimental factorial 2^k se determinó que el experimento con mayor concentración de sólidos solubles °Bx fue el ocho, y cuyas condiciones de trabajo de temperatura, tiempo de sacarificación y concentración de malta idóneas fueron 70°C, 60 minutos y 30% p/p respectivamente.

Se determinó que la concentración final de etanol fue de 95° GL y cuyas características fisicoquímicas se encuentran dentro de los parámetros estipulados en la norma NTE INEN 375.

Por otro lado, el análisis por el método de Dubois o fenol-ácido sulfúrico demostró que la concentración de 15 °Bx leídos en el refractómetro portátil eran muy aproximados al valor dado por el espectrofotómetro.

El aumento significativo de los sólidos solubles después de la adición de la malta diastásica está dado gracias a la gelatinización y licuefacción de los almidones presentes en el maíz.

En el caso del pH, el valor más bajo y en el cual se estabilizó la mezcla durante el proceso fermentativo fue de 3,50. El valor de pH indicó la acidificación de la mezcla y por ende la disminución del rendimiento de la levadura *Saccharomyces Cerevisiae*.

Finalmente, la cantidad de etanol obtenida fue de 1,5 a 95° GL, valor que representó un rendimiento del 7,017% y cuyo costo de producción asciende a \$10,84 por litro. Por otro lado, es importante tener en cuenta que la concentración de etanol es elevada, y cuadro sea diluido hasta un grado comercial (50° GL \leq) el volumen aumentaría significativamente y con ello el costo disminuiría.



5 Recomendaciones

De acuerdo a esta investigación, para la comercialización de etanol se recomienda que este sea diluido a 35° GL para ser utilizado en la producción de bebidas alcohólicas como vodka, licor dulce saborizado, o licores de whisky o ron.

Se recomienda que la muestra hidrolizada sea nuevamente sometida a un análisis cromatográfico para conocer con exactitud que otros componentes se encuentran en la misma.

En el proceso fermentativo se recomienda que se utilice otro tipo de levadura que soporte condiciones ácidas de pH y mayor concentración de etanol.

En los productos de desecho de la filtración y destilación como la fibra (bagazo) y vinazas se recomienda hacer análisis de contenido nutricional para darle un aprovechamiento adecuado sea para alimentación animal o como abono orgánico.



6 Bibliografía

- Agama-Acevedo, E., Juárez-García, E., Evangelista-Lozano, S., Rosales-Reynoso, O. L., & Bello-Pérez, L. A. (2013). Características del almidón de maíz y relación con las enzimas de su biosíntesis. *Agrociencia*, 47(1), 1–12.
- Arteaga, M. (2008). ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA ALCOHÓLICA DESTILADA (Vodka) A PARTIR DE TRES VARIEDADES DE PAPA (*Solanum tuberosum*) UTILIZANDO DOS TIPOS DE ENZIMAS. In *UNIVERSIDAD TECNICA DEL NORTE-FACULTAD DE INGENIERIA Y CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES* (p. 14). <https://doi.org/10.1201/9781351072564-47>
- Balarezo, D. (2014). Investigación del maíz blanco (shima) en la parroquia Rivera del Cantón Azogues, Provincia del Cañar y propuesta gastronómica. In *UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA EQUINOCCIAL* (pp. 1–137). http://repositorio.ute.edu.ec/bitstream/123456789/11952/1/58807_1.pdf
- Bao Fernández, S. (2020). DISEÑO DE EXPERIMENTOS: DISEÑO FACTORIAL. In *Universidad Politecnica de Cataluña Barcelona* (Vol. 2, Issue 4, pp. 19–22).
- Barrera Molina, A. L. (2016). ELABORACIÓN Y EVALUACIÓN DE PELÍCULAS COMESTIBLES A BASE DE ALMIDÓN DE MAÍZ (*Zea mays*. L) AÑADIENDO GOMA DE TARA Y XANTAN. In *UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN FACULTAD DE INGENIERÍA DE PROCESOS ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA QUÍMICA “ELABORACIÓN* (p. 162).
- Barrero García, A. D., & Quiroga Valderrama, J. M. (2016). Evaluación de la licuefacción e hidrólisis enzimática como tratamientos para incrementar el rendimiento alcohólico en la fermentación de chontaduro (*Bactris gasipaes*) Evaluación de la licuefacción e hidrólisis enzimática como tratamientos para increment. In *Ciencia Unisalle* (p. 66).
- Calvache, Karen; Toro, K. (2020). “Evaluación de la presencia de congéneres en el aguardiente de caña de azúcar producido en la provincia del Azuay.” In *UNIVERSIDAD DE CUENCA-FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS* (p. 44). <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/28676/1/Trabajo de titulación.pdf>
- Campués, J., & Tarupí, J. C. (2011). "Obtención de alcohol a partir de jugo de caña, cachaza y



melaza, mediante la incorporación de dos niveles de fermento (*Saccharomyces Cerevisiae*)". In *Universidad Técnica del Norte* (p. 129). http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/746/1/03_AGI_284_TESIS.pdf?fbclid=IwAR1A1JyuAamv565BeijwECh5s4mqfp_OOcwjHKJkbfoCBpWzkXi1s0Eep18

Carolina, A., & Albuja, Y. (2018). Elaboración de una Bebida Alcohólica Destilada a partir de Yuca (*Manihot esculenta*) y Zanahoria Blanca (*Arracacia xanthorrhiza*). In *UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO USFQ* (p. 55).

Carrera Cataño, J., & Mera, I. (2005). Obtención de glucosa a partir de almidón de yuca manihot sculenta. *Facultad de Ciencias Agropecuarias. Grupo de Investigación ASUBAGROIN*, 3(1), 54–63.

Castellanos, J. (2010). Determinación de propiedades fisicoquímicas y características microbiológicas en muestras de materias primas y productos elaborados por industrias del maíz, C.A (Indelma). In *UNIVERSIDAD DE LOS ANDES* (pp. 1–118).

Castillo Veloz, B. S. (2020). CARACTERIZACIÓN AGRO-MORFOLÓGICA DE LA LÍNEA PROMISORIA UTC 003 DE MAÍZ CHULPI (*Zea mays* L.) EN EL BARRIO TIGUALO, PARROQUIA PANZALEO, SALCEDO-COTOPAXI 2020. In *Universidad Técnica de Cotopaxi* (Vol. 1, p. 84). <http://repositorio.utc.edu.ec/bitstream/27000/4501/1/PI-000727.pdf>

Castle, M. (2020). CHÂTEAU DIASTATIC® Cosecha 2020. In *Sede administrativo: Chemin du Couloury 1, 4800 Lambermont, Bélgica* (pp. 0–1).

Caviedes Cepeda, G. M. (2019). Producción de semilla de maíz en el Ecuador: retos y oportunidades. *ACI Avances En Ciencias e Ingenierías*, 11(1), 116–123. <https://doi.org/10.18272/aci.v11i1.1100>

Cruz, J. E. M. (2016). Sustitución de la hidrólisis ácida por la enzimática en la obtención de jarabes glucosados utilizando almidon de maiz como sustrato. In *UNIVERSIDAD CENTRAL MARTA ABREU DE LAS VILLAS* (p. 97).

De León, N. (2016). ANÁLISIS DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS QUE APORTA EL MAÍZ NEGRO (*Zea mays* L.) EN LA ELABORACIÓN DE CERVEZA A



- TRES DIFERENTES TEMPERATURAS DE FERMENTACIÓN. In *Universidad de San Carlos de Guatemala* (p. 95). <http://www.repositorio.usac.edu.gt/4993/>
- Delgado Hernández, J. (2018). Evaluación agronómica, morfológica y aptitud harinera de variedades tradicionales de maíz (*Zea mays* L.). In *ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE INGENIERÍA SECCIÓN DE INGENIERÍA AGRARIA GRADO EN INGENIERÍA AGRÍCOLA Y DEL MEDIO RURAL* (p. 202).
- Drapala, A., & Hernández, D. (2018). “Elaboración de Cerveza de Maíz.” In *UNIVERSIDAD NACIONAL DE CUYO* (p. 101). https://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/11455/drapala-hernandez-2018.pdf
- Egüez, I. J., & Pintado, A. P. (2011). Guía para la producción de maíz en la sierra sur del Ecuador. *Iniap - Estación Experimental Austro*, 406, 1–24.
- Equinos, D. E. A. P., Guzmán, F., Fernando, L., Brito, M. C., & Leandro, B. (2018). Malteado y fermentación de maíz para la obtención de whisky artesanal. In *Centro de investigación en ciencia aplicada y tecnología avanzada* (p. 77).
- España Pintado, G. A. (2019). Caracterización de las variedades del maíz para el desarrollo de productos en la empresa Asopromaiza del cantón Céllica de la provincia de Loja. In *UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA* (p. 89).
- Espinoza, Z, N. (2016). ESTUDIO DE LAS CONDICIONES DE MALTEADO DE MAÍZ (*Zea mays*) Y QUINUA (*Chenopodium quinoa*) QUE FAVOREZCAN SU APTITUD CERVECERA. In *ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL* (p. 163). <file:///http://bibdigital.epn.edu.ec/handle/15000/15039>
- Espitia Rocha, L. C. (2009). DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ALFA Y BETA AMILASAS COMERCIALES EN LA PRODUCCIÓN DE ETANOL A PARTIR ALMIDÓN DE CEBADA EMPLEANDO *Saccharomyces cerevisiae*. In *PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA FACULTAD DE CIENCIAS CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL* (pp. 1–114). <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis206.pdf>
- ESTRADA TOSCANO, M. F. (2017). Parámetros operativos para la obtención de jarabe de glucosa a partir de almidón de “Oca” (*Oxalis tuberosa*. M.) con enzimas α – amilasa y



- amiloglucosidasa. In *ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA-AYACUCHO PERÚ* (p. 74).
- Farinango, V. (2015). Evaluación fitosanitaria y potencial agronómico de la variabilidad de maíz de Cotacachi y Saraguro en las principales zonas maiceras de Imbabura y Loja. In *UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR FACULTAD DE CIENCIAS AGRÍCOLAS Carrera de Ingeniería Agronómica* (p. 130). <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/3228>
- Ferré, J. (2002). El diseño factorial completo. *Grupo de Quimiometría y Cualimetría Departamento de Química Analítica y Química Orgánica Universidad Rovira i Virgili (Tarragona)*, 2–8.
- García Quiñonez, A. V. (2015). OBTENCIÓN DE UN POLÍMERO BIODEGRADABLE A PARTIR DE ALMIDÓN DE MAÍZ. In *Escuela Especializada de Ingeniería ITCA* (Vol. 25, Issue 26, p. 52). <https://doi.org/10.1142/S0217979211101259>
- Gilces, P., & Veloz, P. (2006). Estudio Del Uso De Los Nutrientes Para La Levadura En Fermentación Con El Propósito De Mejorar La Producción Del Alcohol Etilico. In *UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL Facultad de Ingeniería Química* (pp. 1–160).
- Gómez, N., Rodríguez, C., Macías, V., Josse, J., & Carolina, R. (2019). Expectativas de la cosecha de maíz 2019. *Revista El Productor*, 29, 6–28. www.fumidonoso.com
- González Vélez, M. A. (2011). Mecanismos de gelatinización del almidón de maíz. *Departamento de Ingeniería Química Universidad de Los Andes, Bogotá, Colombia*, 47.
- Grande, C., & Orozco, B. (2013). Producción y procesamiento del maíz en Colombia. *Revista Científica Guillermo de Ockham*, 11(1), 97–110.
- Guacho Abarca, E. F. (2014). CARACTERIZACIÓN AGRO-MORFOLOGICA DEL MAÍZ (*Zea mays* L.) DE LA LOCALIDAD SAN JOSÉ DE CHAZO. In *ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO-FACULTAD DE RECURSOS NATURALES-ESCUELA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA* (p. 100).
- Guillín Llanos, X. M., Carmigniani Macías, J. A., Naranjo Mendoza, J. P., & Zambrano Zambrano, E. F. (2020). Evaluación socioeconómica de la producción de maíz en la zona norte de la provincia de Los Ríos. *Journal of Business and Entrepreneurial Studies*,



4(2576–0971), 76–85.

- Gutiérrez, H., Salazar, R., Johnson, R; Kuby, P., Sáenz López, K., & Tamez González, G. (2008). Estadística elemental: Lo esencial. In *Métodos Y Técnicas Cualitativas Y Cuantitativas Aplicables a La Investigación En Ciencias Sociales*. <http://eprints.uanl.mx/8625/1/7>. Metodología cap 19 solo capítulo.pdf%0Ahttps://www.academia.edu/40887991/Estadística_Elemental_10ma_Edición_Robert_Johnson%0Ahttps://www.researchgate.net/publication/44401609_Analisis_y_Diseño_de_Experimentos
- Guzmán Buñay, D. A. (2017). Etapas Fenológicas del Maíz (*Zea mays* l.) Var. Tusilla bajo las Condiciones Climáticas del Cantón Cumandá, Provincia de Chimborazo. In *Universidad Técnica de Ambato* (p. 68). [http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/25123/1/tesis_029_Ingeniería Agropecuaria - Guzman Dennys - cd 029.pdf](http://repositorio.uta.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/25123/1/tesis_029_Ingeniería_Agropecuaria_-_Guzman_Dennys_-_cd_029.pdf)
- Hernández-Castillo, M. I., Hernández-Navarrete, A., Jiménez-Montejo, F. E., Cruz-López, M. del C., Hidalgo-Lara, M. E., & López Y López, V. E. (2019). APROVECHAMIENTO DE ALMIDÓN DE CEBADA DE MALA CALIDAD PARA LA PRODUCCIÓN DE ENZIMAS AMILOLÍTICAS POR *Aureobasidium pullulans*. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 35(2), 435–446. <https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.02.14>
- INEC. (2011). Reporte estadístico del sector agropecuario. In *INEC (Instituto Nacional de Estadística y Censos)* (p. 49).
- INEN 375, 375. (2018). Ecuatoriana Nte Inen 2293. In *SERVICIO ECUATORIANO DE NORMALIZACION* (p. 10).
- INEN 380. (1985). Conservas Vegetales. Determinación De Sólidos Solubles. Metodo Refractometrico. In *Instituto Ecuatoriano De Normalización* (pp. 1–9). www.inen.gob.ec
- INIAP. (2012). Análisis del germoplasma del maíz blanco del INIAP. *INIAP-REVISTA INFORMATIVA*, 6, 4.
- Izquierdo Bonilla, R. A. (2012). EVALUACIÓN DEL CULTIVO DE MAÍZ (*Zea mays*), COMO COMPLEMENTO A LA ALIMENTACIÓN DE BOVINOS DE LECHE EN ÉPOCAS DE ESCASEZ DE ALIMENTO. CAYAMBE - ECUADOR. In *UNIVERSIDAD*



POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO (p. 103).

- Joel, J., & Cruz, M. (2017). Evaluación de una bebida alcohólica destilada a partir de dos variedades de camote (*Ipomoea batatas*) utilizando dos tipos de enzimas. In *UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO-CARRERA INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL*.
- Killian Galván, V. A., Seldes, V., Otero, C., Rivolta, M. C., & Nielsen, A. E. (2021). TENDENCIAS EN EL CONSUMO DE ALIMENTOS EN LAS SOCIEDADES PREHISPÁNICAS DE QUEBRADA DE HUMAHUACA (JUJUY, ARGENTINA). *Chungara Revista de Antropología Chilena*, 17. <https://doi.org/10.4067/s0717-73562021005001201>
- Landires Gaspar, D. G., & Márquez Borbor, G. C. (2013). Análisis del Contenido Amilosa - Amilopectina en seis Variedades de Arroz Ecuatoriano. In *ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción* (p. 90). <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/30883/1/D-79775.pdf>
- Latorre Garcia, L. (2008). *ANÁLISIS ESTRUCTURAL Y MODIFICACIÓN FUNCIONAL DE LA GLUCOAMILASA DE SACCHAROMYCES CEREVISIAE VAR. DIASTATICUS*.
- López, A. S. (2015). Efecto de tres densidades de población sobre la calidad física del grano de maíz del híbrido AN-447. In *UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO* (p. 67).
- Macuri Núñez, E. R. (2016). Estudio de la diversidad fenotípica del maíz (*Zea mays* L.) en la sierra baja y media del Perú. In *Universidad Nacional Agraria La Molina* (p. 107). <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/1981>
- Martínez, O., Lapo Calderón, B., Pérez Rodríguez, J., Zambrano Cabrera, C., & Maza Valle, F. (2015). Gelatinization mechanism of native starch from exportable banana of Ecuador. *Revista Colombiana de Química*, 44(2), 16–21.
- Mendoza M, G. ., R. Ricalde, V., & Hernández G, P. . (2017). ESTRUCTURA DEL ALMIDÓN. *Sitio Argentino de Producción Animal*, 20(4), 3. <https://doi.org/10.2307/40088581>



- Milón, D. (2019). Elaboración De Whiskey De Maíz Morado Denominado Black Whiskey. In *UNIVERSIDAD SAN IGNACIO DE LOYOLA* (p. 90). http://repositorio.usil.edu.pe/bitstream/USIL/9722/1/2019_Milon-Mayer.pdf
- Miranda Monar, H. P. (2016). Validación de tecnología de cinco insecticidas químicos y orgánicos en el control del gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda*) del cultivo de maíz (*Zea mays* L.). In *UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS CARRERA DE INGENIERÍA AGROPECUARIA* (p. 105). <https://repositorio.uteq.edu.ec/handle/43000/2028>
- Molina Tufiño, J. R., & Sanmartín Ambuludí, D. M. (2016). AISLAMIENTO DE TAXONES DE HONGOS FILAMENTOSOS CAPACES DE PRODUCIR AMILASAS A PARTIR DE TUBÉRCULOS DE USO TRADICIONAL EN LA REGIÓN ANDINA. In *UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO CARRERA:* (p. 73).
- Morales, B. M., & Molina Córdoba, M. (2015). Evaluación De Factores Que Pueden Influir En El Proceso De Sacarificación-Fermentación Simultáneas Para La Producción De Etanol a Partir De Materiales Amiláceos. *Revista Ingeniería*, 25(1), 47–61. <https://doi.org/10.15517/ri.v25i1.14665>
- Mosquera, M. D., Cumbal, L. H., & Moreira, P. (2014). OBTENCIÓN DE ETANOL ANHIDRO A PARTIR DE MATERIALES FECULENTOS DE PRODUCCIÓN NACIONAL: MAIZ (*Zea mays*) Y YUCA (*Manihot esculenta crantz*). *Escuela Politécnica de Ejército, Sangolquí, September*, 13.
- Nieblas-Morfa, C., Gallardo Aguilar, I., Rodríguez Rodríguez, L., Sarrín-Quesada, F., Bastista de Almeida, J., & Pérez Pentón, M. (2017). Obtención de jarabes glucosados por hidrólisis enzimática empleando almidón de sorgo CIAPR-132. *Facultad de Química y Farmacia Universidad Central Marta Abreu de Las Villas*, 295–301.
- Obando Arequipa, E. S. (2019). Caracterización Morfológica de Maíz Blanco Harinoso (*Zea mays* L.) material nativo “Chazo” de la Provincia de Chimborazo. *Universidad Técnica De Ambato*, 74. <https://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/29726>
- Ortiz-Bravo, E. G. (2006). Influencia de glicina o sulfato de amonio en la fermentación de *Agave potatorum* Zucc (Tobalá). In *UNIVERSIDAD TECNOLÓGICA DE LA MIXTECA* (p. 64). http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/9836.pdf



- Pérez-Hernández, R. G., Cach-Pérez, M. J., Aparicio-Fabre, R., van der Wal, H., & Rodríguez-Robles, U. (2021). Physiological and microclimatic effects of different agricultural management practices with maize. *Botanical Sciences*, 99(1), 132–148. <https://doi.org/10.17129/BOTSCI.2640>
- Pineda-Gómez, P., Coral, D. F., Arciniegas, M. L., Rorales Rivera, A., & Rodríguez García, M. E. (2010). Papel del agua en la gelatinización del almidón de maíz: estudio por calorimetría diferencial de barrido. *Ingeniería y Ciencia - Ing.Cienc.*, 6(11), 129–141. <http://publicaciones.eafit.edu.co/index.php/ingciencia/article/view/252>
- Pintado, F. (2019). Estudio de las estrategias comunicativas que promueven la participación ciudadana en el GAD de la parroquia Checa del cantón Cuenca. In *UNIVERSIDAD DE CUENCA Facultad de Filosofía, Letras y Ciencias de la Educación Carrera de Comunicación Social* (p. 88).
- Pomasqui Benavides, J. K. (2013). Parámetros Óptimos en la Fermentación Alcohólica para Industrializar la Chicha de Jora en la Procesadora de Alimentos y Bebidas Kutacachi Sara Mama. *Facultad de Ciencias, Bachelor*, 172. <http://dspace.espoch.edu.ec/handle/123456789/2576>
- Raúl, C., Bustos, B., Morales, D., Cuellar, L., & Jaramillo, S. (2017). Hidrólisis enzimática de almidón. *Fundacion Universidad de América-Revista de Investigación*, 10, 129–140.
- Rega López, L. (2016). Obtención de jarabes glucosados a partir de sorgo mediante hidrólisis enzimática. In *UNIVERSIDAD CENTRAL MARTA ABREU DE LAS VILLAS* (p. 84).
- Rodríguez Muñoz, J. (2013). COMPORTAMIENTO AGRONÓMICO DE CINCO HÍBRIDOS DE MAÍZ (*Zea mays* L.) EN ESTADO DE CHOCLO CULTIVADOS A DOS DISTANCIAS DE SIEMBRA. In *UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL-FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS TESIS* (p. 91).
- Rodríguez Rodríguez, L., Gallardo Aguilar, I., Nieblas Morfa, C., Medina Macola, J., & Ortíz Fernández, W. (2015). Obtención de jarabes dextrinizados mediante hidrólisis enzimática del almidón de sorgo. *Revista Centro Azúcar*, 42, 49–58.
- Ruiz, Y. (2006). “ELABORACIÓN Y EVALUACIÓN DE MALTAS CERVECERAS DE DIFERENTES VARIEDADES DE CEBADA (*Hordeum vulgare*) PRODUCIDAS EN



- LOS ESTADOS DE IDALGO Y TLAXCALA.” In *UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE HIDALGO* (Vol. 19, Issue 1, p. 110).
- Sanchez Ortega, I., & Pérez-Urria Carril Máster, E. (2014). Maíz I (*Zea mays*). *Serie Botánica*, 7(2), 151–171.
- Serrano Febles, J. (2020). Obtención de los parámetros operacionales que permiten una mejor eficiencia técnico - económica en la hidrólisis enzimática del almidón de maíz. *Universidad de Matanzas Facultad de Ciencias Técnicas*, 105.
- Solís Gavilanes, A. D. (2011). OBTENCIÓN DE ENZIMAS ALFA Y BETA AMILASAS PARA EL DESDOBLAMIENTO DE ALMIDÓN DE USO INDUSTRIAL. In *UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA* (p. 55).
- Sosa, Y. L., & Maquera Calle, M. N. (2013). HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DEL ALMIDÓN DE CHUÑO Y TUNTA PARA LA OBTENCIÓN DE JARABE DE GLUCOSA. In *ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL-UNIVERSIDAD DEL ANTIPLANO* (p. 116).
- Torbjorn, L., Seifert, E., Abramo, L., Thelin, B., Nystrom, A., Pettersen, J., & Bergman, R. (2004). Experimental Design and Optimization. *Chemometrics and Intelligent Laboratory Systems*, 3(3), 293–307.
- Tovar Benítez, T. (2008). CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA Y TÉRMICA DEL ALMIDÓN DE MAÍZ (*Zea mays* L) OBTENIDO POR DIFERENTES MÉTODOS DE AISLAMIENTO. *UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE HIDALGO*, 78.
- Valverde Vanegas, M. (2015). CARACTERIZACIÓN E IDENTIFICACIÓN DE RAZAS DE MAÍZ EN LA PROVINCIA. *CARRERA DE INGENIERÍA AGRONÓMICA*, 86. <http://dspace.ucuenca.edu.ec/bitstream/123456789/22897/1/Tesis.pdf>
- Vásquez, M., & Vásquez, L. E. (2009). OBTENCIÓN DE VODKA A PARTIR DE DOS TIPOS DE MAÍZ (*Zea mays*): MAÍZ AMARILLO AMILÁCEO Y MAÍZ BLANCO DE GRANO VITRIO. *FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES*. http://repositorio.utn.edu.ec/bitstream/123456789/528/1/03_AGI_239_TESIS.pdf
- Vásquez Rojas, I. E. (2013). Determinación de acetato de etilo en bebidas alcohólicas destiladas



- con añejamiento (ron) por el método de cromatografía de gases. In *UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS CARRERA DE QUÍMICA DE ALIMENTOS* (Vol. 53, Issue 9, p. 145).
- Velasco, A. (2014). Farmacología y toxicología del alcohol etílico, o etanol. *Anales de La Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid*, 51(51), 241–248. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5361614>
- Vidal Tovar, C. R., & Páez, G. (2011). Producción de Jarabes Edulcorantes por Hidrólisis Enzimática del Almidón de Ñame Variedad (*Dioscorea rotundata*). *Publicaciones e Investigaciones*, 5(1900–6608), 71–85.
- Vintimilla Rivera, M. F. (2014). Diagnóstico de los principales problemas fitosanitarios en post cosecha de maíz y fréjol en las provincias de Azuay y Cañar y sus alternativas de manejo. In *FACULTAD DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA ESCUELA DE BIOLOGÍA ECOLOGÍA Y GESTIÓN* (p. 69).
- Yáñez G, C., Velasques, J., Penaherrera, D., Zambrano, L., Caicedo, M., Heredia, J., Sangoquiza, C., & Quimbita, A. (2010). Guía de producción de maíz de altura. In *INIAP y Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca* (p. 53). Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca.
- Yugsi, J. (2017). Estudio comparativo de los Métodos Fenol- Ácido Sulfúrico y Antrona para determinar la pureza de dos almidones ; usando muestras de almidon de maíz (*Zea mays*) y papa (*Solanum tuberosum*). In *UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO Colegio de Ciencias e Ingenierías* (p. 79). <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/6767/1/132533.pdf>

7 Anexos



Limpeza y selección del maíz



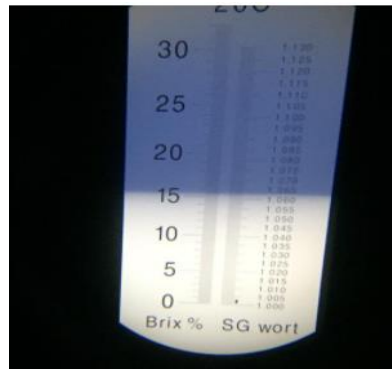
Molienda seca



Pesaje de maíz molido



Proceso de Sacarificación



Medida de °Bx



Fermentación de mosto de maíz



Medición de pH



Muestras de Etanol para análisis



Muestras para cuantificación de glucosa

